

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

**Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili**

Tesi di Laurea Magistrale

Utilizzo di modelli matematici per la liofilizzazione in continuo di farmaci



Relatore

prof. Roberto Pisano

Candidato

Vincenzo Massotti

Dicembre 2020

Sommario

Capitolo 1: Introduzione.....	1
1.1 Cenni storici.....	1
1.2 Liofilizzazione Batch.....	1
1.2.1 Configurazione impiantistica	1
1.2.2 Controllo della nucleazione	2
1.2.3 Limiti della liofilizzazione batch	3
1.3 Liofilizzazione in continuo.....	3
1.3.1 Dal batch al continuo	3
1.3.2 Le origini della liofilizzazione in continuo	4
1.3.3 Liofilizzazione in bulk	4
1.3.4 Liofilizzazione in dosi singole	5
1.4 Configurazione a flaconi sospesi.....	6
1.4.1 Descrizione del processo.....	6
1.4.2 Confronto con la liofilizzazione batch	7
1.5 Obiettivi della tesi.....	10
Capitolo 2: Fase di condizionamento	11
2.1 Descrizione del modello	11
2.1.1 Geometria.....	11
2.1.2 Materiali.....	12
2.1.3 Laminar flow.....	13
2.1.4 Heat Transfer in Solids and Fluids.....	14
2.1.6 Mesh.....	14
2.2 Distanza tra i provini	15
2.3 Velocità dell'azoto.....	16
2.4 Disposizione dei provini.....	17
2.4.1 Eterogeneità e lunghezza del canale	17
2.4.2 Alimentazione dell'azoto	17
2.4.3 Configurazione sfalsata.....	21
2.5 Distanza dal fondo	23
2.6 Velocità dei provini	24
2.7 Scambio termico	25
2.7.1 Contributi allo scambio termico.....	25

2.7.2 Gradienti di temperatura	27
2.8 Configurazione definitiva	29
2.9 Conclusioni.....	31
Capitolo 3: Fase di congelamento	33
3.1 Descrizione fenomenologica	33
3.2 Descrizione del modello per la VISF	34
3.3 Comportamento dell'acqua sottovuoto.....	35
3.4 Descrizione del modello per il congelamento	36
3.4.1 Definitions.....	37
3.4.2 Events.....	38
3.4.3 Heat Transfer in Solids and Fluids.....	38
3.5 Congelamento	39
3.6 Congelamento con induzione della nucleazione	41
3.6.1 Congelamento con VISF “completa”.....	41
3.6.2 Congelamento con VISF “incompleta”	43
3.7 Conclusioni.....	45
Capitolo 4: Conclusioni.....	47
Lista dei simboli	51
Bibliografia.....	53
Ringraziamenti	57

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Cenni storici

La liofilizzazione è un processo di essiccamento utilizzato prevalentemente nel settore alimentare e farmaceutico. Essa migliora la conservabilità del prodotto a temperatura ambiente, non alterando le proprietà nutrizionali e organolettiche degli alimenti o l'attività dei farmaci.

Le sue origini risalgono alla fine del diciannovesimo secolo, quando Altman riuscì ad ottenere un campione di tessuto essiccato operando a basse temperature e a pressioni al disotto di quella atmosferica [1]. Gli studi di Altman vennero ripresi nel 1905 da Benedict e Manning [2] che utilizzarono una pompa chimica ad acido solforico per generare il vuoto. La soluzione, per quanto innovativa, venne scartata a causa dei tempi molto lunghi, circa 2 settimane, necessari alla riduzione del 20% in peso di un campione di gelatina. Shackell riprese questo lavoro sostituendo la pompa chimica con una pompa meccanica, riuscendo a raggiungere pressioni di 1 mmHg in tempi molto brevi, circa 2 minuti, e migliorando notevolmente l'efficienza del processo [2]. Successivamente dimostrò che, congelando il materiale biologico prima di introdurlo nella camera di essiccamento, fosse possibile bloccare le reazioni chimiche per un lungo periodo e ripristinarle con l'aggiunta di acqua. Poco dopo Hammers [3] utilizzò la tecnica introdotta da Shackell per stabilizzare una popolazione batterica, ottenendo dei tempi di conservazione ben più elevati rispetto a quelli raggiunti con un semplice essiccamento ad aria a temperatura ambiente. Nel 1945 si arrivò alla prima applicazione della liofilizzazione su larga scala per la produzione di penicillina.

Il processo viene chiamato con il termine di *liofilizzazione* [4] in riferimento alla natura liofila del prodotto, ossia la tendenza a riassorbire l'acqua per ripristinare la condizione originaria. Un termine alternativo è *crio-essiccamento* (traduzione dell'inglese *freeze-drying*), che evidenzia le due fasi principali del processo: la prima, quella di congelamento, durante la quale si abbassa la temperatura fino a completa solidificazione del campione; la seconda, quella di essiccamento, durante la quale la pressione viene abbassata al disotto del punto triplo dell'acqua e, fornendo calore, si rimuove il ghiaccio per sublimazione [5].

In ambito farmaceutico risulta una tecnica particolarmente interessante: essa permette la separazione dei principi attivi dal solvente in cui sono disciolti, ne preserva l'attività poiché è condotta a basse temperature e ne garantisce la conservabilità a temperatura ambiente.

1.2 Liofilizzazione Batch

1.2.1 Configurazione impiantistica

La soluzione contenente il principio attivo può essere trattata in bulk o in dosi singole. In entrambi i casi la soluzione è posizionata su ripiani termostatati all'interno della camera di liofilizzazione.

Il processo è suddiviso in tre fasi:

- Congelamento, durante il quale la soluzione è raffreddata per mezzo di un fluido refrigerante.
- Essiccamento primario, durante il quale si rimuove il ghiaccio presente per sublimazione.

- Essiccamento secondario, che permette di rimuovere l'acqua adsorbita sul prodotto e ottenere l'umidità residua desiderata.

La configurazione impiantistica utilizzata per la liofilizzazione in discontinuo è schematizzata in **Figura 1.1**.

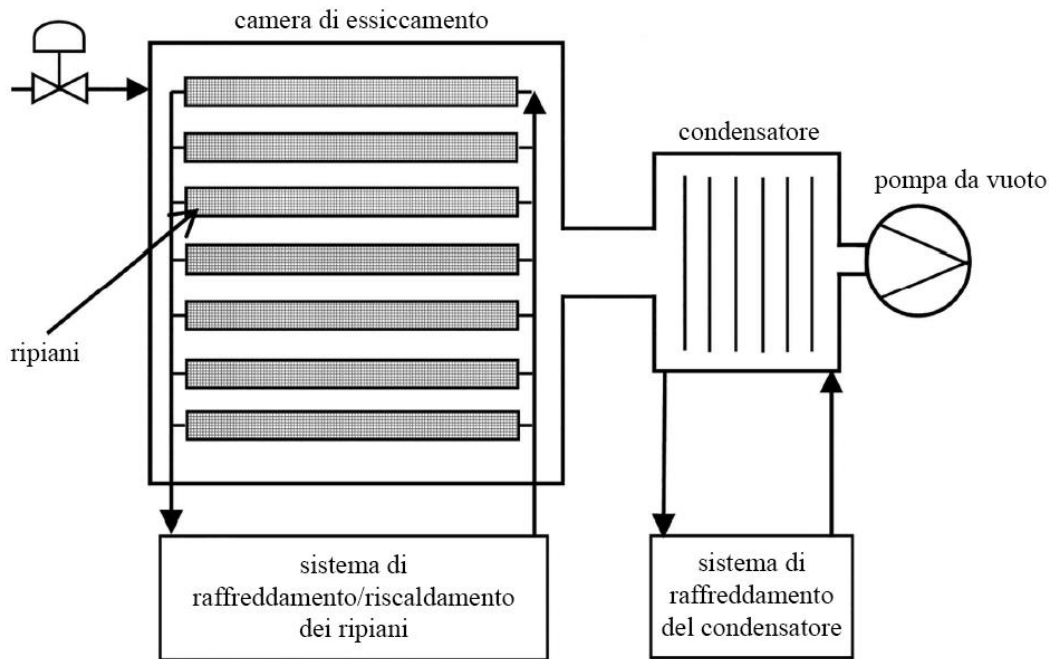


Figura 1.1: Schema di un liofilizzatore batch. Figura tratta da [5] con modifiche.

1.2.2 Controllo della nucleazione

La struttura del prodotto finale e l'attività dei principi attivi sono fortemente influenzate dalla storia termica del prodotto durante la fase di congelamento [6-8], in particolare dalla nucleazione, che è un fenomeno stocastico. Per ottenere delle strutture simili e ridurre l'eterogeneità tra i vari provini è possibile utilizzare tecniche specifiche per il controllo della nucleazione. Le dimensioni dei cristalli di ghiaccio diminuiscono con la temperatura di nucleazione, quindi un maggior sottoraffreddamento implica la formazione di nuclei più piccoli e numerosi. In questo modo si ottengono cristalli di dimensione controllata, la struttura dei farmaci risulta uniforme e si modula la resistenza al trasferimento di vapore durante la fase di essiccamento. Ciò è dovuto al fatto che la dimensione e la forma dei pori del prodotto secco, una volta sublimato il ghiaccio, ricalcano quella dei cristalli precedentemente formati.

Le tecniche più utilizzate sono le seguenti:

- *Ice fog*: un flusso di azoto viene alimentato all'interno della camera umida formando dei cristalli di ghiaccio [9] che, entrando nei provini, inducono la nucleazione. Il limite di questa tecnica sta nella difficoltà di ottenere una distribuzione uniforme dei cristalli e innescare la nucleazione in tutti i provini nello stesso istante.
- *Ultrasuoni*: causano cavitazione nella soluzione generando grandi fluttuazioni di temperatura e pressione che si pensa possano indurre la nucleazione [10,11].
- *Pressurizzazione/depressurizzazione*: la fase di congelamento avviene alla pressione di circa 3 bar e ridotta ad 1 bar al raggiungimento della temperatura di nucleazione. La

brusca variazione di pressione innesca il degasaggio della soluzione e le bolle formate agiscono da nuclei [12].

- *Vacuum-induced surface freezing (VISF)*: il congelamento è condotto alla pressione atmosferica e una volta raggiunta la temperatura di nucleazione la pressione viene ridotta a circa 1 mbar per un breve intervallo di tempo. L'evaporazione dell'acqua causa un brusco raffreddamento superficiale inducendo di conseguenza la nucleazione [13-15].

1.2.3 Limiti della liofilizzazione batch

Lo scambio termico tra i ripiani e i provini avviene attraverso tre meccanismi:

- Conduzione tra il provino e il ripiano.
- Conduzione tra il gas intrappolato tra il fondo del provino e il ripiano.
- Irraggiamento dai ripiani e dalle pareti.

Essi però non sono uguali in ogni punto della camera di liofilizzazione, di conseguenza il calore non è scambiato in modo uniforme. Le differenze dipendono dalla pressione, dalla posizione e dalla geometria dei provini, e dalla temperatura e dalla geometria dei ripiani. La più importante causa di disuniformità è il cosiddetto *edge-vial effect* [16]: a causa dei contributi radianti delle pareti e della porta del liofilizzatore, i provini situati agli angoli della camera ricevono molto più calore rispetto ai provini situati nella zona centrale del ripiano [17]. Altro contributo di disuniformità è rappresentato dalla presenza di gradienti di temperatura lungo i ripiani, i quali variano da 0,02 a 0,07 K/cm [18]. Operando in queste condizioni non è possibile garantire la qualità del prodotto in ogni situazione, sia all'interno dello stesso batch che tra i vari batch.

Altra problematica del processo in discontinuo è quella dei tempi necessari a condurre le varie operazioni. La durata di un ciclo di liofilizzazione varia da poche ore a qualche giorno a seconda del prodotto da trattare. Tra un ciclo e l'altro c'è bisogno di operazioni ausiliarie che aumentano la durata complessiva del processo e ne riducono la produttività. Tra i tempi morti rientrano quelli necessari al riempimento dei provini, al carico e allo scarico della camera, allo scongelamento del condensatore, alla pulizia e alla sterilizzazione della camera e ai test dei filtri o delle eventuali perdite. Le operazioni riguardanti i provini possono richiedere dalle 6 alle 10 ore, le altre hanno una durata che varia tra le 7 e le 13 ore [19,20].

1.3 Liofilizzazione in continuo

1.3.1 Dal batch al continuo

Il passaggio dal batch al continuo rappresenta, per l'industria farmaceutica, il passo necessario a fronteggiare nuovi mercati, nuovi concorrenti, standard di produttività più elevati e riduzione dei ricavi [21].

In un processo continuo le singole operazioni diventano integrate, il grado di automazione aumenta e si riduce al minimo la possibilità di contaminazione e/o di errori manuali. Le dimensioni degli impianti si riducono, i tempi morti si annullano e il processo può proseguire ininterrottamente 24 ore al giorno [22]; ciò comporta la riduzione sia dei costi capitali che di quelli operativi. A trarne vantaggio è anche il processo di produzione: la qualità del prodotto è superiore e sempre uguale, la flessibilità e la reattività ai cambiamenti richiesti dal mercato aumentano e si riducono le problematiche associate allo scale-up degli impianti [23].

Affinché questa transizione possa avvenire c'è bisogno di un'adeguata progettazione dell'impianto e del controllo del processo, in quanto ogni deviazione della qualità dei prodotti intermedi può alterare quella del prodotto finale. Ciò è possibile grazie all'applicazione del *quality-by-design* (QbD), secondo il quale la qualità del prodotto non è testata ma è insita nel processo di produzione. A fianco di questa applicazione vi sono lo sviluppo di *Process Analytical Technology* (PAT), per supportare il controllo in tempo reale del processo, il *Pharmaceutical Quality System* (PQS) e il *Real-Time Release Testing* (RTRT) per assicurare la qualità del prodotto finito [24]. L'introduzione di questi protocolli è stata incentivata da diverse agenzie governative [25-31], quali Food and Drug Administration (FDA), European Medicines Agency (EMA) e Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), allo scopo di favorire la diffusione dei processi in continuo in ambito farmaceutico, che al momento rappresentano soltanto il 5% dell'intera produzione [32].

1.3.2 Le origini della liofilizzazione in continuo

Le prime applicazioni della liofilizzazione in continuo riguardano l'industria alimentare, con la proposta da parte di Sluder et al. [33] di un impianto per la liofilizzazione di succhi. Il primo impianto funzionante, il liofilizzatore Conrad, arriva intorno al 1970 per la produzione di caffè istantaneo [34]. Da questo momento in poi inizia la produzione su larga scala di alimenti liofilizzati.

In ambito farmaceutico il passaggio al continuo non è stato così semplice, le idee proposte erano molto complesse, non riuscivano a garantire la sterilità del prodotto o presentavano problemi di sicurezza [35-37]. Il crescente interesse verso questa tecnologia ha portato allo sviluppo di diverse configurazioni con soluzione alimentata in bulk o in singole dosi [18]. Le più promettenti sono descritte nei paragrafi seguenti.

1.3.3 Liofilizzazione in bulk

Un limite della liofilizzazione in bulk è rappresentato dalla formazione di grumi durante l'essiccamento, fenomeno che rende necessaria la frantumazione del prodotto e che causa il danneggiamento della sua struttura. Inoltre, il trasferimento di calore è limitato dalla ridotta area di scambio. Negli ultimi anni si sono introdotte delle tecniche che mirano ad incrementare l'area di scambio e ad uniformare le dimensioni dei granuli prodotti.

Nel 2005 la Hosokawa Micron BV ha introdotto la *active freeze-drying technology* [38], schematizzata in **Figura 1.2**.

La soluzione viene inviata ad una camera conica continuamente miscelata e raffreddata da una camicia esterna. Una volta completato il congelamento, i granuli di ghiaccio vengono inviati alla seconda camera, stavolta riscaldata, che opera a pressioni inferiori a quella atmosferica, condizione necessaria per innescare la sublimazione. L'agitatore, oltre a favorire lo scambio termico, rompe gli aggregati formando particelle via via più piccole che possono essere trasportate dal vapore prodotto. A monte della pompa da vuoto è posizionato un filtro che raccoglie le polveri liofilizzate e le separa dal flusso di vapore.

Nonostante lo scambio termico risulti uniforme e le problematiche dell'essiccamento nei liofilizzatori batch sono superate, la tecnologia non è ancora stata implementata in processi in continuo.

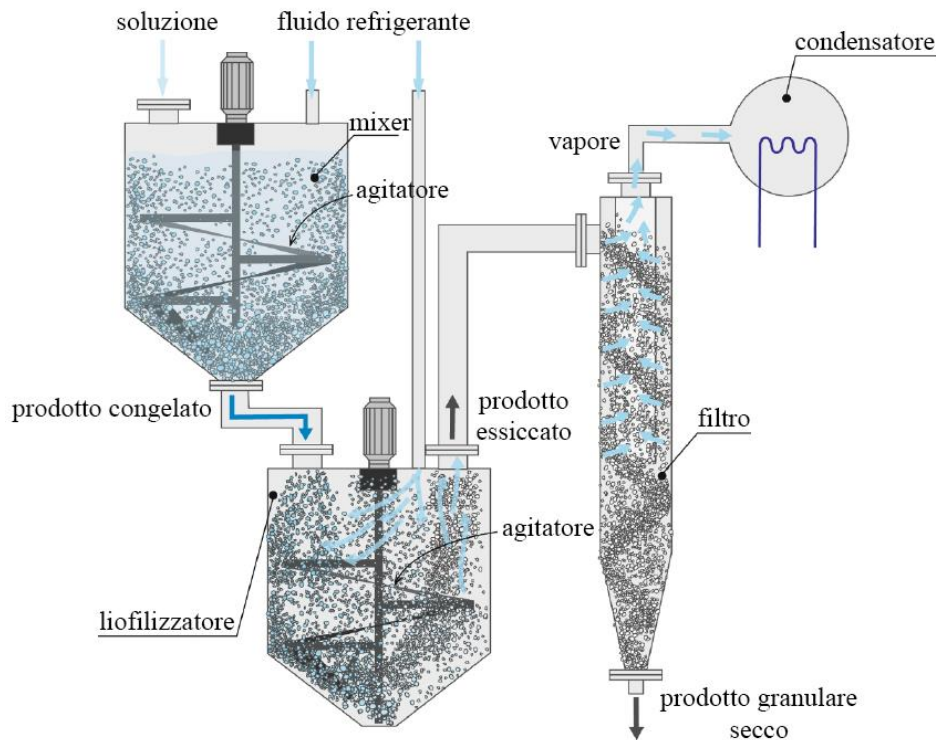


Figura 1.2: Schema di un *active freeze-dryer*. Figura tratta da [38] con modifiche.

Per ridurre ulteriormente la dimensione degli aggregati di ghiaccio è possibile utilizzare la *Fine-spray Freeze Drying*, introdotta da Ulvac e ripresa da Telstar [39]. La soluzione è spruzzata all'interno di una camera sottovuoto sottoforma di goccioline che congelano e si depositano su un ripiano riscaldato sul quale avviene l'essiccamento. La dimensione ridotta delle gocce aumenta notevolmente il rapporto superficie su volume e di conseguenza lo scambio termico ne risulta favorito. Il processo è molto veloce, condotto in condizioni di completa sterilità e produce particelle di dimensione uniforme.

1.3.4 Liofilizzazione in dosi singole

Questa tipologia di liofilizzatore, utilizzata prevalentemente nell'industria farmaceutica, opera su liquidi già inseriti all'interno di provini. Ciò permette di migliorare il dosaggio del principio attivo e rende più semplice il controllo della sterilità. Le tecnologie più adatte all'utilizzo in continuo sono lo *spin freeze-drying* e la configurazione a flaconi sospesi.

Durante lo *spin freeze-drying* i provini sono messi in rotazione intorno al proprio asse ad una velocità tale da distribuire uniformemente il liquido sulla superficie interna (**Figura 1.3**). L'elevata superficie di scambio e gli spessori ridotti dello strato di liquido permettono di ridurre la durata del processo di un fattore che va da 10 a 40 [40].

La configurazione proposta da Corver [41] prevede una fase di congelamento in cui lo scambio termico avviene per convezione forzata con un gas criogenico, e una fase di essiccamento tramite esposizione a raggi infrarossi. Il solvente che sublima è raccolto in un condensatore posto a monte della pompa da vuoto.

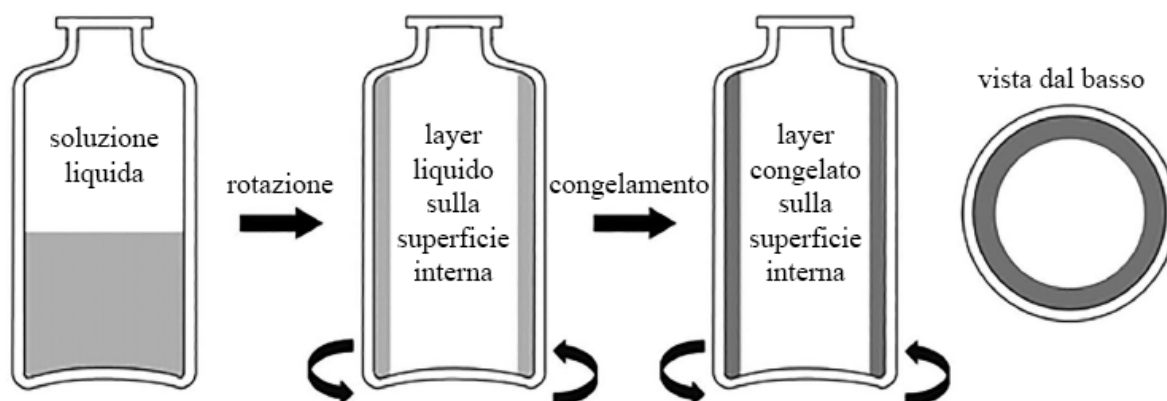


Figura 1.3: Schematizzazione del congelamento durante lo *spin freeze-drying*. Figura tratta da [24] con modifiche.

Nel 2015 il gruppo di ricerca del professor Pisano al Politecnico di Torino e quello del professor Trout al Massachusetts Institute of Technology hanno proposto la configurazione a flaconi sospesi [42]. I flaconi contenenti la soluzione da trattare vengono messi in movimento su dei binari e attraversano le varie zone del liofilizzatore. La prima è quella di condizionamento, all'interno della quale i flaconi scambiano calore per convezione forzata con un fluido refrigerante. Raggiunta una temperatura prestabilita si induce la nucleazione nei provini utilizzando la VISF e poi i provini continuano il loro percorso nel canale di congelamento. Successivamente si passa alla zona di essiccamento, anche in questo caso condotto per irraggiamento.

Quest'ultima configurazione verrà descritta più dettagliatamente nella sezione successiva.

1.4 Configurazione a flaconi sospesi

1.4.1 Descrizione del processo

La prima fase del processo è il riempimento dei flaconi, che, come avviene nella liofilizzazione batch, è completamente automatizzato e condotto in un ambiente sterile e a temperatura controllata. Una volta riempiti vengono parzialmente chiusi da un tappo e inviati al liofilizzatore. Prima di entrare nel modulo di congelamento i flaconi passano attraverso un sistema chiamato *load-lock*, in grado di mettere in comunicazione zone a temperatura e pressione diverse. Queste camere intermedie vengono isolate dal modulo di partenza e al loro interno vengono replicate le condizioni ambientali del modulo di arrivo. Raggiunte le condizioni desiderate, la camera si apre e i flaconi raggiungono il modulo successivo. Il *load-lock* viene chiuso, si ristabiliscono le condizioni del primo modulo e la camera viene riaperta.

I flaconi sono sospesi su dei binari che li mettono in moto all'interno del liofilizzatore. Durante la fase di congelamento essi sono raffreddati tramite convezione forzata con azoto o altri gas inerti. Questa fase avviene in tre moduli diversi: il modulo di condizionamento, un *load-lock* nel quale si induce la nucleazione e il modulo di congelamento. In caso di prodotti granulari è necessario soltanto il primo modulo, in caso di soluzioni liquide sono necessari tutti e tre.

Nel modulo di condizionamento i provini vengono raffreddati fino alla temperatura di nucleazione predefinita. Questo step, obbligatorio in caso di utilizzo della VISF, è comunque consigliato per migliorare l'omogeneità del prodotto.

La VISF avviene nel *load-lock system* tra il modulo di condizionamento e quello di congelamento. Come descritto in precedenza, la pressione viene ridotta in modo da sottrarre calore al liquido tramite evaporazione dell'acqua superficiale. Questo evento induce la nucleazione e permette di ottenere nuclei di ghiaccio di dimensioni controllate, garantendo una

struttura uniforme del prodotto e, di conseguenza, uniformandone il comportamento durante l'essiccamento.

Infine, si passa nel modulo di congelamento, nel quale i provini vengono raffreddati fino al completo congelamento della soluzione.

La fase di essiccamento, comprendente sia l'essiccamento primario che quello secondario, è condotta sottovuoto e il calore è fornito tramite irraggiamento. Lo scambio termico è regolato mediante il controllo della temperatura delle pareti, all'interno delle quali fluisce un fluido di processo. In alternativa si possono utilizzare sorgenti di raggi infrarossi o microonde. La sospensione dei flaconi e l'assenza di un fluido nella camera rendono trascurabili le quantità di calore scambiate per conduzione e convezione rispetto a quella scambiata per irraggiamento. In questo modo il calore è scambiato uniformemente e le problematiche relative alla posizione dei provini vengono meno, dato che tutti i provini seguono lo stesso percorso.

Una schematizzazione del suddetto liofilizzatore è riportata in **Figura 1.4**.

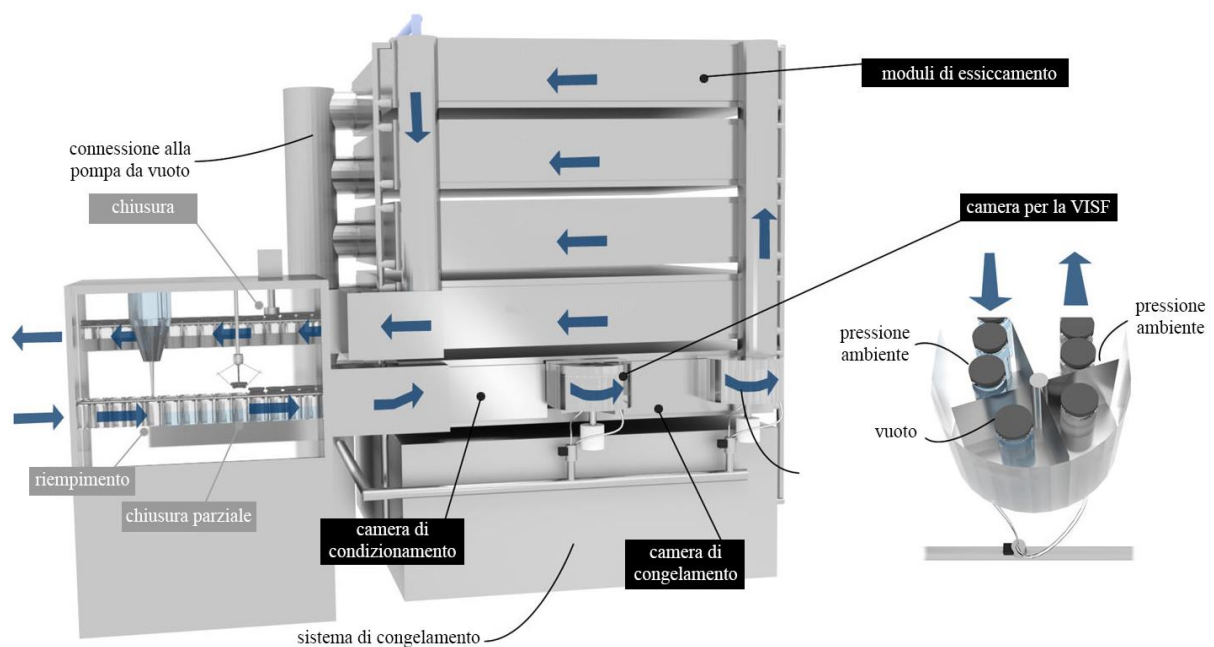


Figura 1.4: Liofilizzatore in continuo a flaconi sospesi (a sinistra) e *load-lock system* per la VISF (a destra).
Figura tratta da [42] con modifiche.

1.4.2 Confronto con la liofilizzazione batch

Per valutare lo scambio termico durante il congelamento e l'essiccamento primario, e la loro influenza sulla struttura del prodotto finale, il gruppo di ricerca del professor Pisano [42] ha effettuato degli esperimenti su dei flaconi sospesi tramite un sostegno fisso. I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli di un liofilizzatore batch.

Le prime valutazioni riguardano la morfologia del prodotto a seguito di vari protocolli di congelamento. Il prodotto ottenuto dalla configurazione a flaconi sospesi presenta pori di diametro superiore e la variabilità risulta inferiore rispetto al caso batch (**Figura 1.5**).

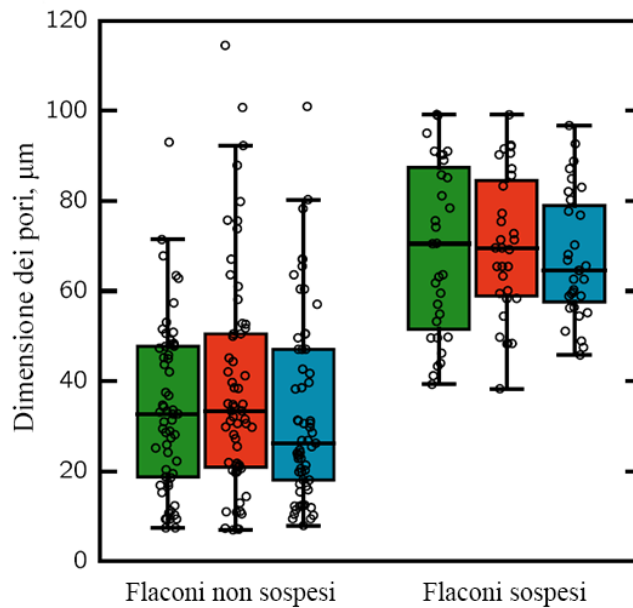


Figura 1.5: Confronto tra le dimensioni dei pori in caso di flaconi sospesi e non sospesi. Figura tratta da [42] con modifiche.

Si riesce, quindi, ad ottenere un prodotto di caratteristiche uniformi e che oppone una resistenza minore al trasporto di vapore durante la fase di essiccamento. Questo ultimo aspetto risulta ulteriormente migliorato nei processi che fanno uso della VISF (**Figura 1.6**).

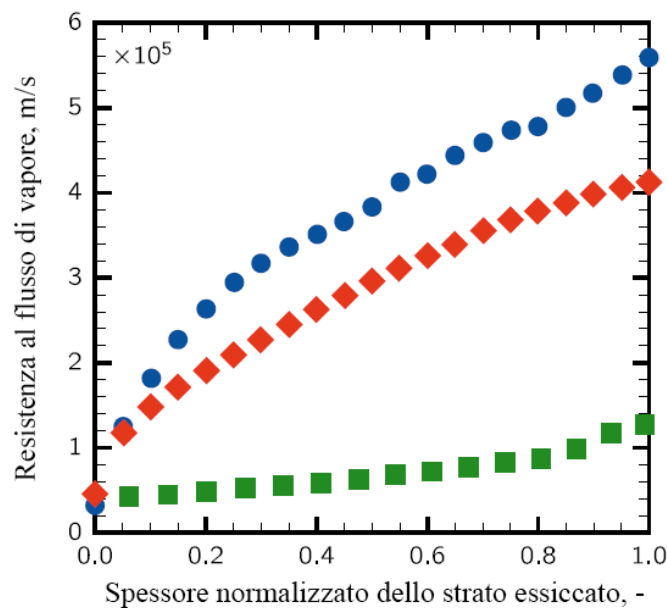


Figura 1.6: Variazione della resistenza al trasporto di vapore in caso di flaconi sospesi con induzione della nucleazione (verde) e senza (rosso), e in caso di liofilizzazione batch (blu). Figura tratta da [42] con modifiche.

Per quanto riguarda l'essiccamento primario, l'attenzione è stata focalizzata sulle modalità di somministrazione del calore. Questa fase del processo è condotta a pressioni inferiori ad 1 mbar e in queste condizioni il contributo convettivo risulta trascurabile. Inoltre, la sospensione dei flaconi evita qualsiasi tipo di contatto con le pareti o i ripiani della camera, annullando il contributo dello scambio termico per conduzione. In definitiva, l'unico contributo rilevante è quello dovuto all'irraggiamento, che risulta indipendente dalla pressione della camera. In

Figura 1.7 si osserva come nel caso di flaconi sospesi la potenza termica risulti praticamente costante.

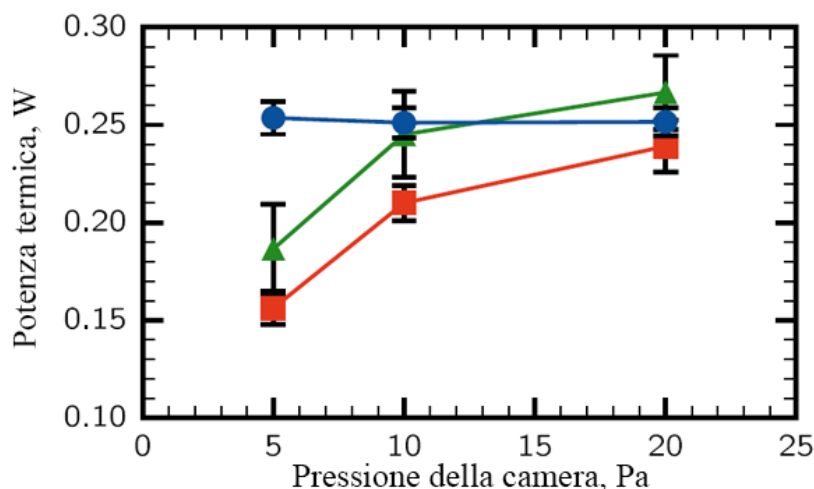


Figura 1.7: Potenza termica in funzione della pressione per i provini centrali (rosso) e laterali (verde) in un liofilizzatore batch, e per la configurazione a flaconi sospesi (blu). Figura tratta da [42] con modifiche.

Le problematiche introdotte dai gradienti di pressione nella camera risultano superate e la pressione può essere regolata a piacimento per massimizzare la portata di vapore che sublima. Inoltre, l'omogeneità nel riscaldamento e l'indipendenza dalla posizione dei provini annullano *l'edge-vial effect*. In **Figura 1.8** è riportato un confronto tra le potenze termiche somministrate ai provini durante la liofilizzazione batch e durante quella a flaconi sospesi.

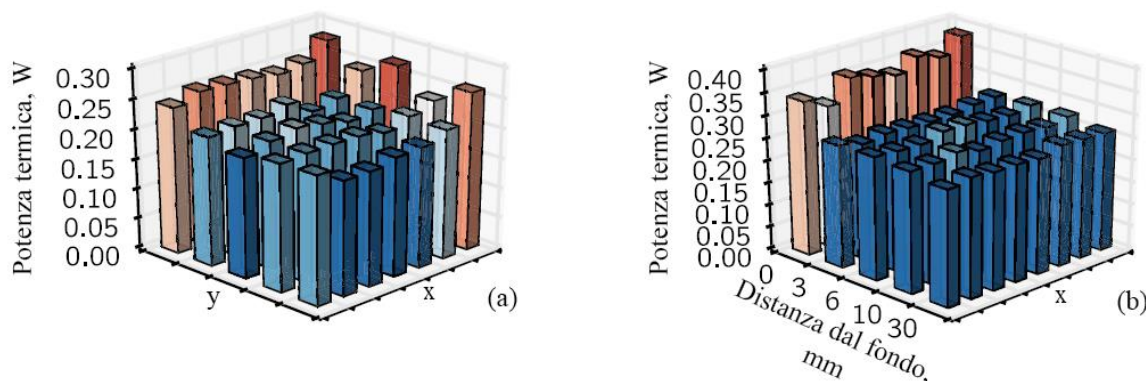


Figura 1.8: Potenza termica in funzione della posizione per un liofilizzatore batch (a) e a flaconi sospesi (b). Figura tratta da [42] con modifiche.

Quanto descritto è confermato dai risultati degli esperimenti: gli effetti benefici dell'utilizzo della VISF si riscontrano nella riduzione dei tempi di essiccamento, che passano da 19 ore del caso batch a 10 nella configurazione in esame. L'omogeneità del riscaldamento riduce l'eterogeneità tra i provini, facendo registrare 0,6 ore di differenza tra i tempi di onset e offset, che salgono a 5 nel caso di liofilizzazione batch. I risultati descritti fanno riferimento ad un solido cristallino, ma le stesse considerazioni risultano valide in presenza di solidi amorfi.

Infine, durante l'essiccamento secondario, il prodotto essiccato con la configurazione a flaconi sospesi ha evidenziato una minore umidità residua e una bassa variabilità tra i provini.

1.5 Obiettivi della tesi

Il lavoro descritto in questo elaborato è finalizzato alla modellazione matematica dei fenomeni che avvengono durante la liofilizzazione di farmaci, per un processo in continuo con flaconi sospesi. In particolare, si sono studiate le fasi di condizionamento, induzione della nucleazione e di congelamento. Tali modelli sono stati implementati sul software COMSOL Multiphysics.

In fase preliminare il lavoro si è concentrato sulla definizione della miglior configurazione di un'ipotetica camera di congelamento. Per fare ciò, si è cercato di ottimizzare lo scambio termico e la produttività andando a variare parametri quali la distanza tra i provini, la loro disposizione, la velocità con cui si muovono lungo la camera, la sezione di alimentazione del gas criogenico e la velocità di alimentazione di quest'ultimo.

Una volta trovata la configurazione ottimale, si sono valutati i vari contributi allo scambio termico e i gradienti di temperatura intra- e inter-vial, indici della omogeneità con la quale avviene il raffreddamento.

Sono stati inoltre sviluppati dei modelli appositi per descrivere le fasi riguardanti la nucleazione indotta e il cambio di fase durante il congelamento.

I risultati delle simulazioni, descritti nel dettaglio nei capitoli seguenti, hanno portato alla determinazione delle dimensioni del tunnel di raffreddamento, delle condizioni operative e dei tempi necessari al completamento delle varie fasi.

Capitolo 2

Fase di condizionamento

2.1 Descrizione del modello

Il raffreddamento con rampe prestabilite porta a nucleazioni spontanee a temperature diverse da provino a provino. Al fine di migliorare l'omogeneità del prodotto, si condizionano i provini ad una temperatura prestabilita e si utilizzano tecniche per l'induzione della nucleazione. In questa configurazione si è scelto di alimentare azoto a 268 K.

Sono stati valutati diversi parametri di processo quali: distanza tra i provini, posizione relativa dei provini rispetto alla camera, velocità di alimentazione dell'azoto e dimensione della sezione di alimentazione. Nella fase preliminare dello studio si è trascurato il movimento dei provini, nell'ipotesi che si muovano ad una velocità molto inferiore rispetto a quella dell'azoto che li raffredda. Tale ipotesi semplificativa è stata confermata dalle simulazioni svolte successivamente.

Il tempo di condizionamento è stato il parametro di confronto tra le diverse configurazioni. Esso è stato definito come il tempo impiegato dall'acqua contenuta nei provini a raggiungere una temperatura target di 269 K ($268\text{ K} \pm 1\text{ K}$).

Una volta definite le dimensioni della camera, la disposizione dei provini e la velocità dell'azoto, si è approfondita la dinamica del raffreddamento. A valle di queste considerazioni si è proposta la configurazione ottimale della camera per il condizionamento dei provini.

2.1.1 Geometria

L'obiettivo di questo studio è la progettazione di un liofilizzatore di farmaci contenuti in provini 10R, dalle dimensioni riportate in **Figura 2.1**.

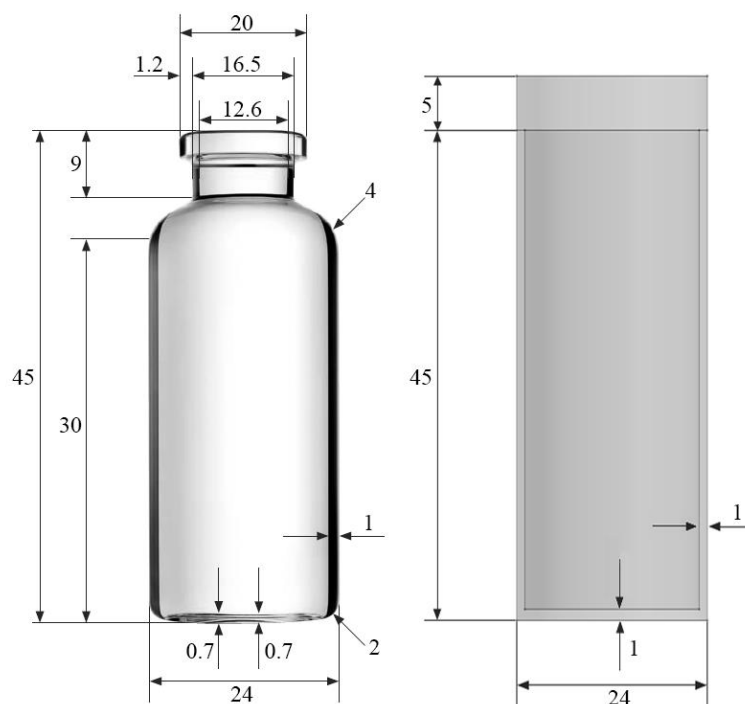


Figura 2.1: Provino 10R a confronto con il provino idealizzato. Misure in mm. Figura tratta da [43] con modifiche.

La forma dei flaconi è stata approssimata a quella di un cilindro cavo con pareti di spessore uniforme, riempito con un volume di acqua di altezza pari ad 1 cm. Infine, è stato aggiunto un tappo di materiale diverso di 5 mm di altezza. La camera di condizionamento è stata suddivisa in unità ripetitive definite geometricamente individuando le simmetrie del sistema. In **Figura 2.2** si riporta una schematizzazione dell'unità ripetitiva, le cui dimensioni sono riassunte in **Tabella 2.1**. Successivamente, fissata la produttività a 300 flaconi/ora si è determinata l'effettiva lunghezza della camera.

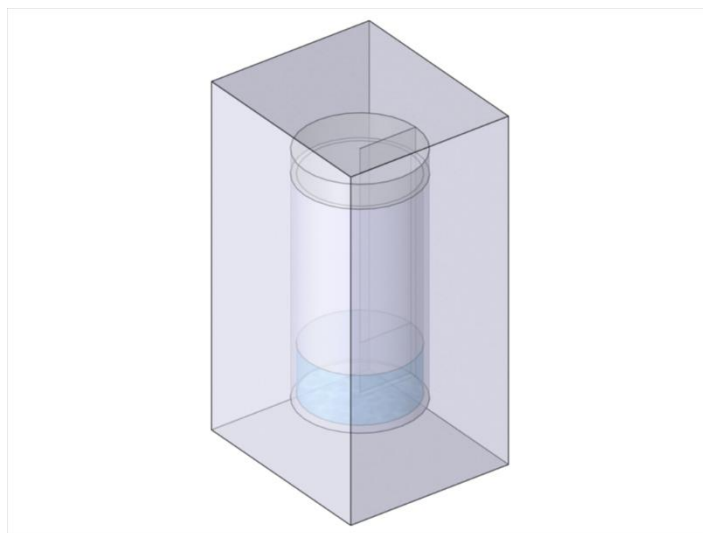


Figura 2.2: Unità ripetitiva che costituisce la camera di liofilizzazione.

Tabella 2.1: Dimensioni dei flaconi e distanze dalle pareti della camera.

	Dimensioni, mm
Diametro esterno flacone	24
Altezza flacone	45
Spessore pareti flacone	1
Altezza tappo	5
Altezza colonna di acqua	10
Distanza dal fondo della camera	10
Distanza dalla sommità della camera	10
Distanza dall'ingresso	10
Distanza dall'outlet	10

2.1.2 Materiali

I farmaci da liofilizzare sono disciolti in soluzioni acquose molto diluite. Per questo motivo si sono trascurate le variazioni delle proprietà dell'acqua dovute alla presenza del soluto e si è inserita acqua pura all'interno dei provini.

Per quanto riguarda il vetro, che costituisce i provini, l'azoto e l'acqua si sono utilizzati rispettivamente *Silica Glass*, *Nitrogen* e *Water* già presenti nel database interno di COMSOL.

L'aria contenuta nel provino al di sopra del pelo libero dell'acqua è stata modellizzata come gas ideale, per cui la densità varia con la temperatura secondo la legge dei gas perfetti (2.1).

$$\rho = \frac{p \cdot M}{R \cdot T} \quad (2.1)$$

Dove p è la pressione dell'aria, pari a quella atmosferica, M è la massa molare dell'aria, calcolata come media pesata rispetto alle frazioni di ossigeno e azoto, R è la costante universale dei gas e T è la temperatura dell'aria.

I valori di k e c_p utilizzati, riportati in **Tabella 2.2**, sono pari al valor medio delle suddette proprietà nell'intervallo di temperature tra cui opera il condizionamento, ossia 298 e 269 K.

Tabella 2.2: Proprietà dell'aria.

Materiale	Conducibilità termica, W/(m·K)	Calore specifico, J/(kg·K)
Aria	0,025	1005,1

Il tappo, chiamato anche *stopper*, è costituito da una gomma clorobutilica non presente tra i polimeri selezionabili e inserita manualmente. Le proprietà fisiche quali la conducibilità termica, la densità e il calore specifico, sono state reperite da [44]. Essendo presente soltanto un range di valori associato all'intera classe di gomme clorobutiliche, si sono scelti i valori estremi che rappresentassero le condizioni peggiori dal punto di vista del raffreddamento dell'acqua: conducibilità termica pari al valore minimo e calore specifico pari al valore massimo. Le proprietà della gomma sono riportate in **Tabella 2.3**.

Tabella 2.3: Proprietà della gomma clorobutilica.

Materiale	Conducibilità termica, W/(m·K)	Calore specifico, J/(kg·K)	Densità, kg/m³
Gomma clorobutilica	0,080	1950,0	900

2.1.3 Laminar flow

L'unico fluido in movimento è l'azoto, che essendo un gas è stato impostato come comprimibile. Facendo riferimento alla **Figura 2.3** e assumendo che i provini si muovano seguendo il verso positivo dell'asse x , si è scelto l'asse y come direzione dell'azoto alimentato.

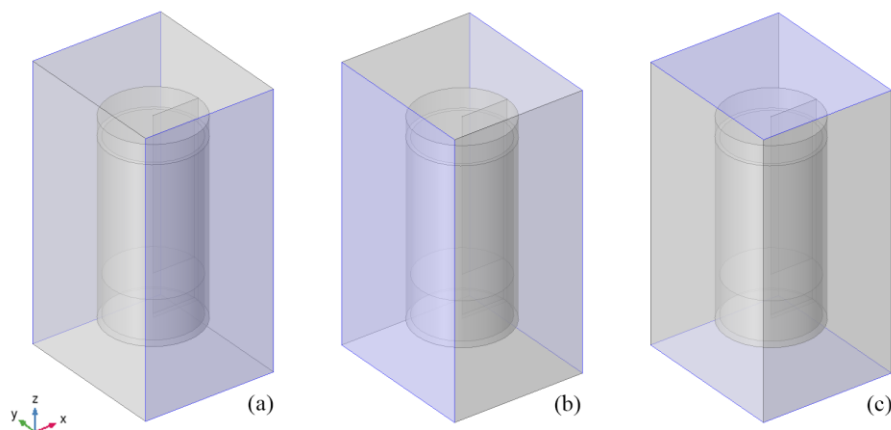


Figura 2.3: Sezioni di *Inlet/Outlet-Inflow/Outflow* (a), di simmetria (b) e pareti della camera (c).

Di conseguenza, le sezioni perpendicolari all'asse y sono state impostate come *Inlet* ed *Outlet* e quelle perpendicolari all'asse x come *Symmetry*.

La condizione di simmetria prevedono che gli sforzi di taglio non svaniscano o attraversino la superficie considerata. Le condizioni applicate da COMSOL sono le (2.2) e (2.3).

$$\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (2.2)$$

$$\left(-p\mathbf{I} + \left(\mu(\nabla\mathbf{u} + (\nabla\mathbf{u})^T) - \frac{2}{3}\mu(\nabla \cdot \mathbf{u})\mathbf{I} \right) \right) \mathbf{n} = 0 \quad (2.3)$$

Infine, sulle pareti rimanenti, che rappresentano quelle della camera, e su quelle esterne del provino è stata imposta la condizione di *No slip* (2.4).

$$\mathbf{u} = 0 \quad (2.4)$$

2.1.4 Heat Transfer in Solids and Fluids

La fisica in questione permette di modellare lo scambio termico tra sostanze in diversi stati di aggregazione. Si è impostata come condizione iniziale la temperatura di 25°C (298K) e si è alimentato azoto alla temperatura di 268 K. Le pareti si sono assunte perfettamente coibentate (2.5). Applicando la condizione di simmetria alle pareti attraverso cui si muovono i provini, COMSOL applica la stessa equazione per l'isolamento termico in modo che non ci siano flussi di calore attraverso la superficie considerata.

$$\mathbf{J}_q \cdot \mathbf{n} = 0 \quad (2.5)$$

2.1.6 Mesh

La mesh è stata generata con il tool built-in di COMSOL per la costruzione automatica delle mesh (**Figura 2.4**). Essa è costituita da 424093 elementi di forma variabile e con dimensione massima di 7,4 mm.



Figura 2.4: Esempio di mesh generata da COMSOL.

2.2 Distanza tra i provini

La distanza tra i provini risulta un parametro importante dal punto di vista impiantistico, in quanto, ad una data produttività, determina la lunghezza dei tunnel del liofilizzatore. Riveste un ruolo importante anche per quanto concerne la fluidodinamica del sistema, in quanto modifica la sezione di passaggio del fluido e, di conseguenza, ne definisce la velocità.

Si sono effettuate simulazioni con distanza tra i bordi dei provini variabile. Fissata la velocità dell'azoto a 1 m/s, si sono valutati i tempi di raffreddamento. I risultati delle simulazioni sono riassunti in **Tabella 2.4**. La lunghezza del canale è ottenuta moltiplicando quella dell'unità ripetitiva per 300. In **Figura 2.5** sono riportati i profili di velocità che si sviluppano nei casi di studio.

Tabella 2.4: Dimensioni della camera e tempi di raffreddamento.

Caso	Distanza, mm	Lunghezza unità, mm	Lunghezza canale, m	Tempi di raffreddamento, min
a	24	48	14,4	21,8
b	18	42	12,6	21,7
c	12	36	10,8	21,2
d	6	30	9	19,1

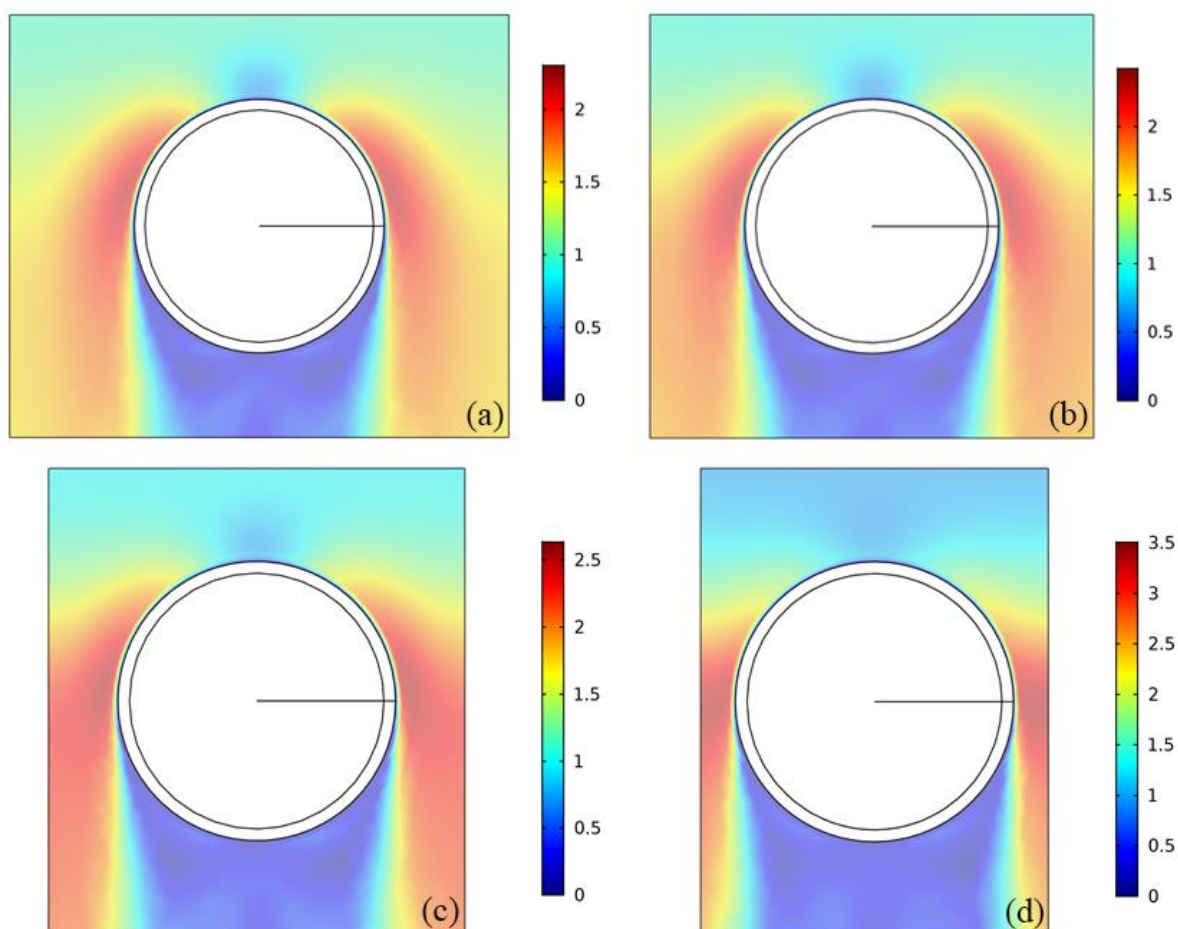


Figura 2.5: Profili di velocità all'interno della camera nei quattro casi di studio.

Nei casi (a) e (b) i profili di velocità sono molto simili, le distanze in gioco non sono ancora tali da causare accelerazioni troppo spinte del fluido. Nei casi (c) e (d), invece, queste ultime sono più evidenti, arrivando, nell'ultimo caso, a velocità che vanno oltre il triplo di quella di partenza. Poiché i tempi di raffreddamento sono minori e le dimensioni del canale sono più contenute, si è proseguito lo studio posizionando i provini a distanza di 6 mm.

2.3 Velocità dell'azoto

Altro parametro da fissare è la velocità con cui l'azoto attraversa la camera. Oltre all'influenza che tale parametro ha sullo scambio termico, si devono tenere in conto i costi del processo derivanti dal consumo di azoto. A tale scopo si è effettuata una serie di simulazioni a velocità variabile, i cui risultati sono riportati in **Tabella 2.5**. In **Figura 2.6** sono diagrammati i tempi di condizionamento in funzione della velocità dell'azoto.

Tabella 2.5: Risultati delle simulazioni.

Caso	Velocità dell'azoto, m/s	Tempi di raffreddamento, min
a	1	19,1
b	0,9	20,0
c	0,8	19,5
d	0,7	22,2
e	0,6	22,9
f	0,5	23,7

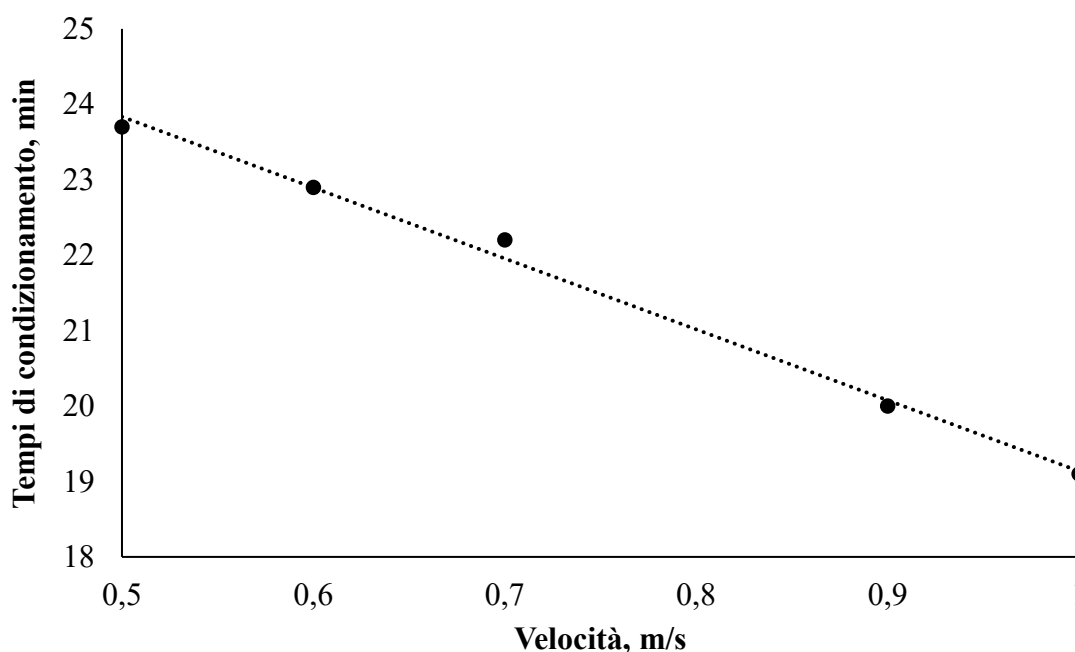


Figura 2.6: Tempi di congelamento in funzione della velocità dell'azoto. I punti rappresentano i risultati delle simulazioni, la linea puntinata la retta che li interpola.

Si osserva un andamento lineare dei tempi di congelamento con le velocità nel range considerato.

2.4 Disposizione dei provini

2.4.1 Eterogeneità e lunghezza del canale

Per quanto disporre i provini in un'unica fila permetta di esporli a condizioni di scambio termico identiche per ogni provino, questa scelta porterebbe alla costruzione di camere di dimensioni elevate. Disponendo i provini su più file si introducono delle eterogeneità tra i vari provini, ma si riduce la lunghezza della camera di un fattore pari al numero di file scelto. A tale scopo si sono effettuate simulazioni sul raffreddamento di provini disposti in un numero crescente di file e si sono valutate le differenze nei tempi di congelamento. La distanza tra i provini nella stessa fila e la distanza tra le file è pari a 6 mm, la velocità dell'azoto pari a 0,7 m/s, valore scelto come compromesso tra consumi ed efficienza dello scambio termico. Alla fine delle simulazioni si è trovato un compromesso tra eterogeneità e dimensioni del canale.

2.4.2 Alimentazione dell'azoto

La prima valutazione effettuata riguarda la sezione dalla quale alimentare l'azoto. Si sono confrontati i tempi di congelamento dei provini allineati (A) raffreddati con azoto proveniente dalla parete laterale della camera (L), da quella inferiore (I) e da quella superiore (S).

Il condizionamento si è considerato concluso quando la temperatura media dell'acqua nei provini ha raggiunto il target di 269 K. Come indice dell'omogeneità del raffreddamento si è calcolata la differenza tra i tempi di condizionamento dei provini nelle condizioni più e meno favorevoli allo scambio termico (Δt). Infine, si è calcolata una stima della lunghezza del tunnel tenendo conto della produttività desiderata e del numero di provini all'interno dell'unità ripetitiva, secondo la formula (2.6).

$$lunghezza\ tunnel = produttività \cdot \frac{lunghezza\ unità}{numero\ di\ provini\ per\ unità} \quad (2.6)$$

Le unità ripetitive usate per le simulazioni in esame sono riportate nelle **Figure 2.7, 2.8 e 2.9**, e le dimensioni del tunnel nelle **Tabelle 2.6, 2.8 e 2.10**. I risultati delle simulazioni sono raccolti nelle **Tabelle 2.7, 2.9, 2.11**, mentre in **Tabella 2.12** sono riassunti i dati sui quali è stato effettuato il confronto tra le varie disposizioni.

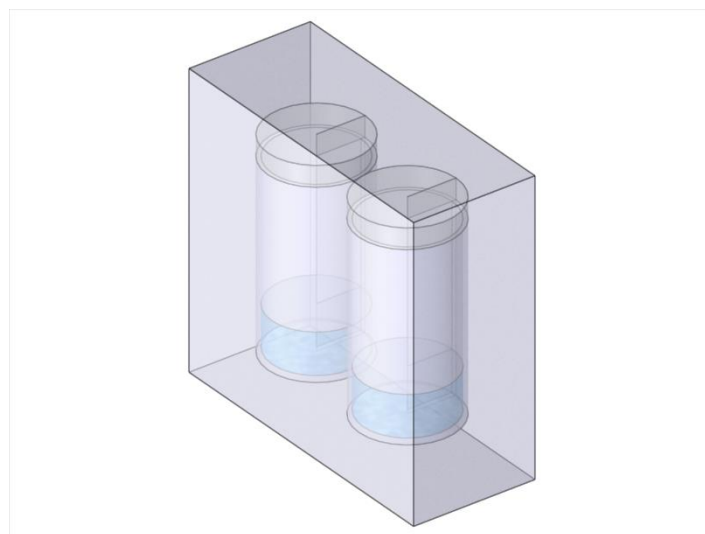


Figura 2.7: Unità ripetitiva con due file di provini.

Tabella 2.6: Dimensioni del tunnel con disposizione dei provini in due file.

	Dimensione, cm
Lunghezza	450
Profondità	7,4
Altezza	7

Tabella 2.7: Tempi di raffreddamento (in minuti) dei provini nelle due file al variare della sezione di alimentazione.

Fila	Sezione laterale	Sezione inferiore	Sezione superiore
1	22,5	24,3	28,8
2	24,8	24,3	28,8

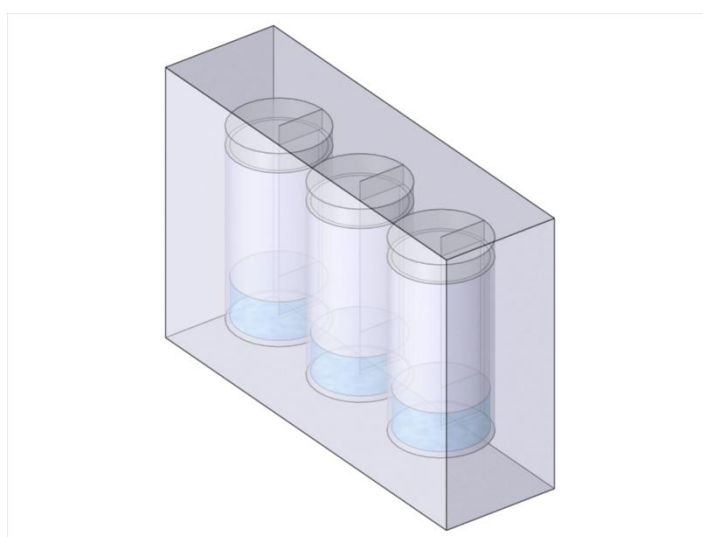


Figura 2.8: Unità ripetitiva con tre file di provini.

Tabella 2.8: Dimensioni del tunnel con disposizione dei provini in tre file.

	Dimensione, cm
Lunghezza	300
Profondità	10,4
Altezza	7

Tabella 2.9: Tempi di raffreddamento (in minuti) dei provini nelle tre file al variare della sezione di alimentazione.

Fila	Sezione laterale	Sezione inferiore	Sezione superiore
1	20,4	24,4	28,4
2	22,7	23,8	27,8
3	24,8	24,4	28,4

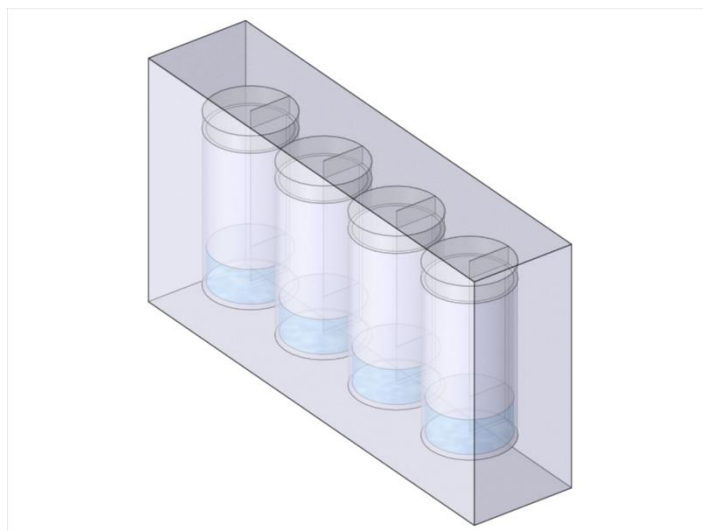


Figura 2.9: Unità ripetitiva con quattro file di provini.

Tabella 2.10: Dimensioni del tunnel con disposizione dei provini in quattro file.

	Dimensioni, cm
Lunghezza	225
Profondità	13,4
Altezza	7

Tabella 2.11: Tempi di raffreddamento (in minuti) dei provini nelle quattro file al variare della sezione di alimentazione.

Fila	Sezione laterale	Sezione inferiore	Sezione superiore
1	20,1	24,5	28,2
2	23,3	24,2	27,3
3	25,6	24,2	27,3
4	27,7	24,5	28,2

Tabella 2.12: Riassunto dei risultati delle simulazioni.

Configurazione	Lunghezza camera, cm	Durata condizionamento, min	Δt , min
2AL	450	24,8	2,3
2AI		24,3	0
2AS		28,8	0
3AL	300	24,8	4,4
3AI		24,4	0,6
3AS		28,4	0,6
4AL	225	27,7	7,6
4AI		24,5	0,3
4AS		28,2	0,9

Come ci si aspettava, le configurazioni con alimentazione dall'alto e dal basso hanno portato a condizioni di scambio termico uniformi, facendo registrare Δt inferiori rispetto ai casi con

alimentazione laterale. Le differenze tra i tempi di congelamento in queste due configurazioni si osservano nei casi in cui le file di provini sono più di due, con quelli centrali che raffreddano più velocemente. Ciò è dovuto al fatto che la distanza tra i provini è inferiore rispetto a quella tra i provini laterali e le pareti della camera, per cui il fluido accelera maggiormente nella parte centrale. Quest'ultimo effetto è osservabile in **Figura 2.10**.

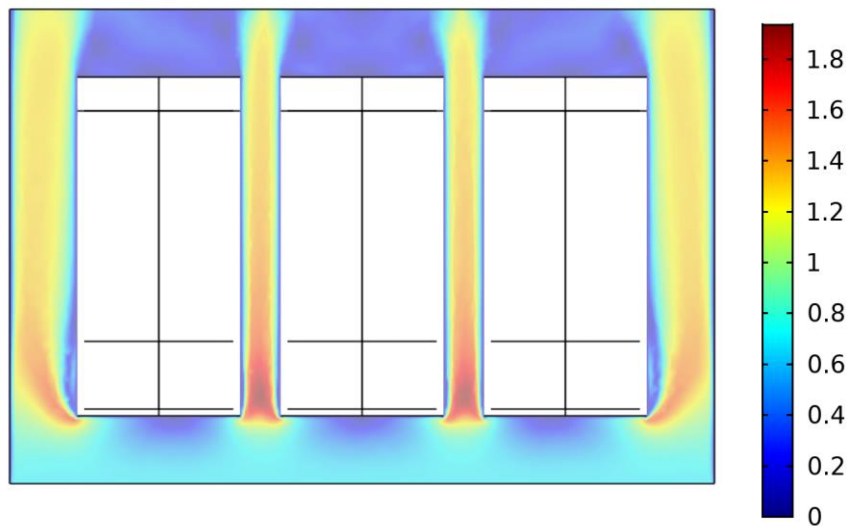


Figura 2.10: Profilo di velocità nella configurazione 3I.

Una volta esclusa la configurazione con alimentazione dall'alto, che porta a tempi di congelamento superiori, si sono confrontate le due rimanenti, con alimentazione laterale e dal basso. Ad eccezione del caso di provini disposti su quattro file, i tempi di condizionamento sono pressoché uguali per le due opzioni e i Δt sono decisamente minori quando l'azoto di raffreddamento viene alimentato dal fondo. Per determinare quale delle due risulti più efficiente dal punto di vista dello scambio termico, si sono osservati i profili di velocità sviluppati nei due casi. A titolo esemplificativo, in **Figura 2.11** si riporta il confronto nel caso di provini disposti in due file.

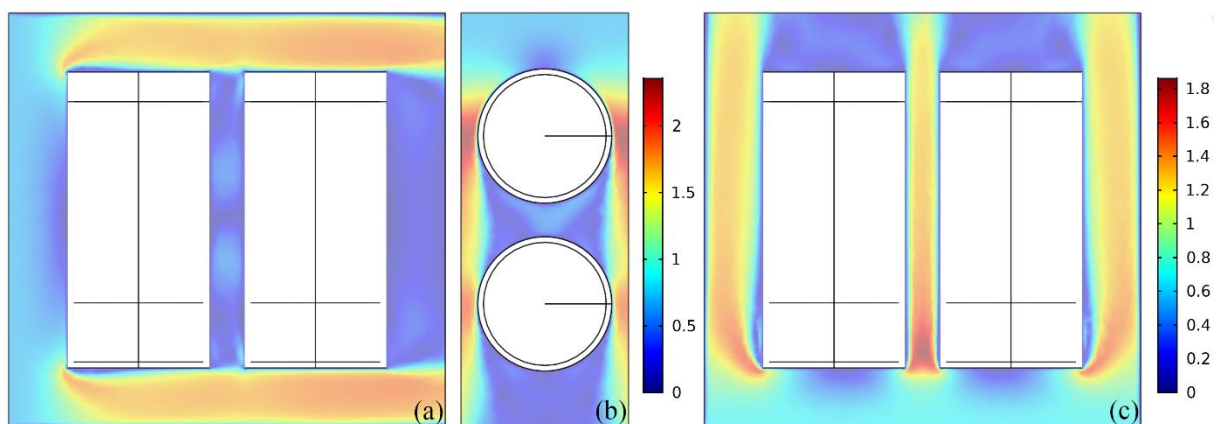


Figura 2.11: Profilo di velocità nella configurazione L, con vista frontale (a) e dall'alto (b), e nella configurazione I (c).

Nella configurazione L il secondo provino si trova in scia al primo, scambiando calore soltanto dal fondo e da una porzione ridotta della superficie laterale, causando i Δt elevati osservati precedentemente; effetto che si amplifica ulteriormente nelle simulazioni con più file. Quello in prima fila, invece, raffredda più velocemente rispetto ai provini nella configurazione I. Questo effetto è dovuto al fatto che in quest'ultima l'azoto impatta su una superficie piatta, di conseguenza si forma una zona stagnante che fa diminuire il coefficiente di scambio termico sia in prossimità del fondo del flacone, sia nei pressi della superficie laterale. Inoltre, il fondo dei provini "reali" presenta una concavità che potrebbe ulteriormente peggiorare lo scambio termico.

Alla luce di queste considerazioni si è proseguito lo studio con la configurazione L, cercando di ottimizzare lo scambio termico e ridurre i Δt .

2.4.3 Configurazione sfalsata

Per migliorare l'efficienza dello scambio termico si sono posizionati i provini nelle file in configurazione sfalsata (S), corrispondente ad una disposizione a maglia esagonale. I risultati delle simulazioni sono stati confrontati con quelli ottenuti dalle rispettive configurazioni allineate (A), stavolta soltanto con alimentazione laterale (L). La distanza tra le file è la stessa utilizzata nello studio precedente, di conseguenza le dimensioni del canale rimangono invariate. In **Figura 2.12**, **2.13** e **2.14** sono riportate le unità ripetitive usate per le simulazioni, nelle **Tabelle 2.13**, **2.14** e **2.15** sono raccolti i risultati delle simulazioni.

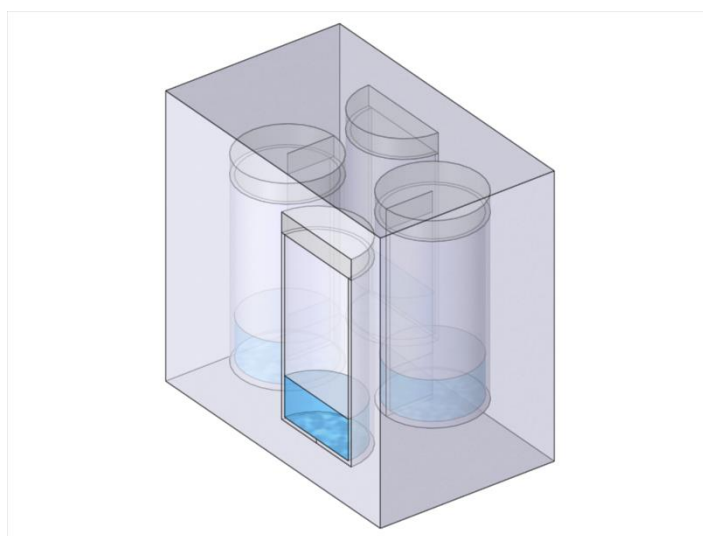


Figura 2.12: Unità ripetitiva con due file di provini sfalsate.

Tabella 2.13: Tempi di condizionamento (in minuti) dei provini nelle due file.

Fila	Tempo di condizionamento
1	20,8
2	24,2

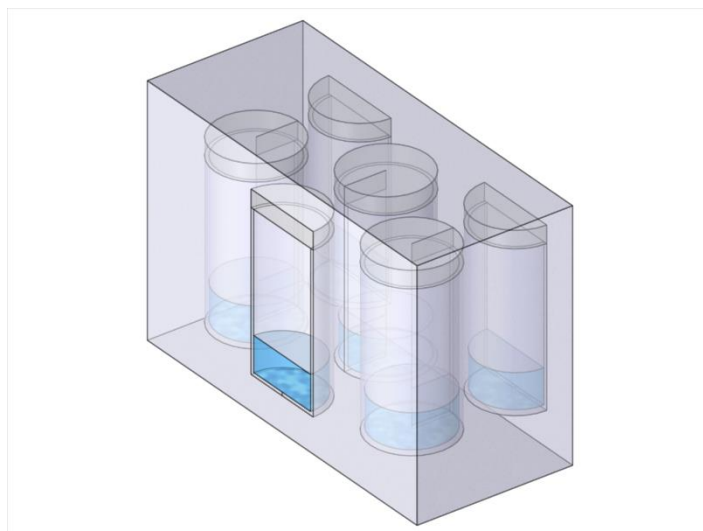


Figura 2.13: Unità ripetitiva con tre file di provini sfalsate.

Tabella 2.14: Tempi di condizionamento (in minuti) dei provini nelle tre file.

Fila	Tempo di condizionamento
1	21,3
2	23,3
3	25,3

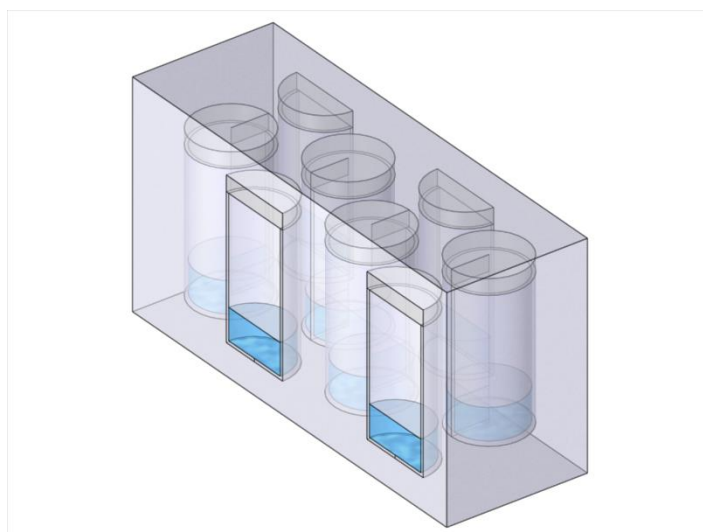


Figura 2.14: Unità ripetitiva con quattro file di provini sfalsate.

Tabella 2.15: Tempi di condizionamento (in minuti) dei provini nelle quattro file.

Fila	Tempo di condizionamento
1	20,3
2	23,0
3	25,3
4	27,8

In **Figura 2.15** è riportato un confronto tra i profili di velocità che si stabiliscono nei due casi. In **Tabella 2.16** sono riassunti i tempi di congelamento e i Δt .

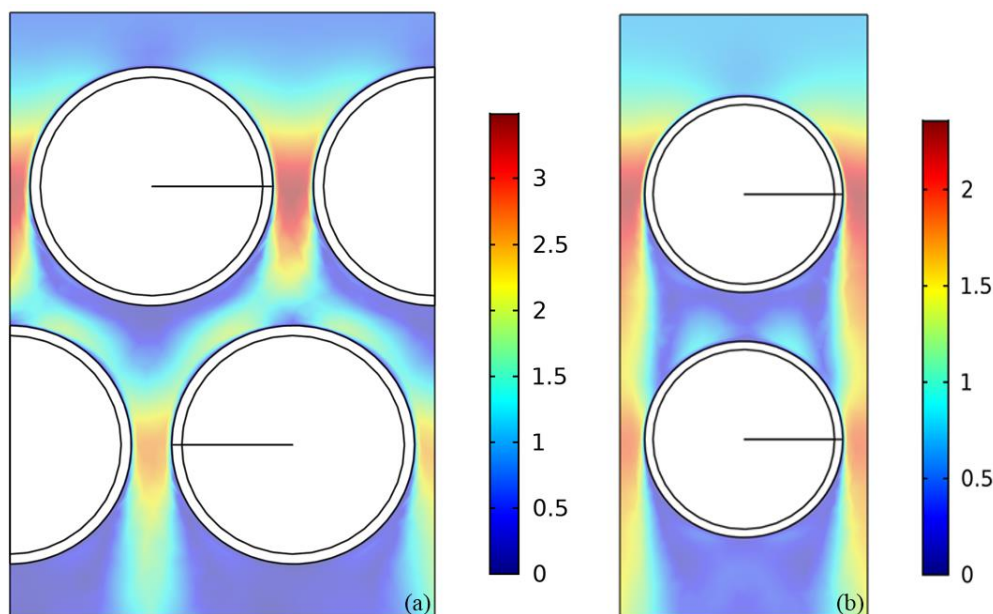


Figura 2.15: Profilo di velocità con provini sfalsati (a) ed allineati (b).

Tabella 2.16: Confronto tra le configurazioni sfalsate ed allineate.

Configurazione	Lunghezza camera, cm	Durata condizionamento, min	Δt , min
2AL	450	24,8	2,3
2SL		24,2	3,4
3AL	300	24,8	4,4
3SL		25,3	4,0
4AL	225	27,7	7,6
4SL		27,8	7,5

La fluidodinamica con provini a configurazione sfalsata risulta più efficiente dal punto di vista dello scambio termico, in quanto l'azoto investe i provini sviluppando lo stesso profilo di velocità per ogni fila. C'è da considerare che dopo ogni fila l'azoto risulta rallentato e riscaldato, per cui lo scambio termico diventa via via meno efficiente. In generale, dal confronto tra le due configurazioni si osservano tempi di condizionamento simili ma Δt ridotti.

Dovendo arrivare ad un compromesso tra scambio termico e dimensioni del canale, si è scelto di proseguire lo studio con la configurazione 3SL.

2.5 Distanza dal fondo

L'ultimo parametro dimensionale da definire è la distanza tra il fondo dei provini e il fondo della camera. Impostata la velocità dell'azoto a 0,5 m/s, inferiore agli 0,7 m/s usati in precedenza per evitare eccessive accelerazioni in camera, si sono confrontati i risultati ottenuti in una configurazione a 3 file sfalsate con distanza dal fondo pari a 1 cm (a) e a 0,5 cm (b). I risultati ottenuti sono riportati in **Tabella 2.17**.

Tabella 2.17: Tempi di condizionamento (in minuti) dei provini nelle tre file al variare della distanza dal fondo.

Caso	Fila 1	Fila 2	Fila 3	Δt
a	24,4	26,3	29,3	4,9
b	22,8	22,8	25,5	2,7

In **Figura 2.16** sono riportati i profili di velocità nei due casi, proiettati su un piano passante per gli assi dei provini in prima e in terza fila. La riduzione della distanza dal fondo della camera genera un'accelerazione del fluido che migliora i coefficienti di scambio termico. Di conseguenza, i tempi di condizionamento diminuiscono e con essi i Δt .

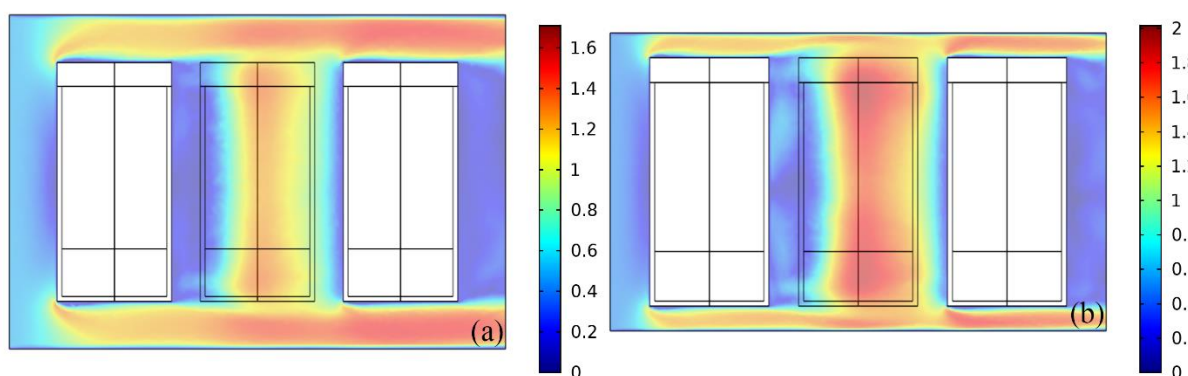


Figura 2.16: Profili di velocità con distanza dal fondo pari ad 1 cm (a) e 0,5 cm (b).

2.6 Velocità dei provini

Nelle simulazioni espone fino a questo momento i provini si sono considerati fermi, nell'ipotesi che la loro velocità fosse trascurabile rispetto a quella dell'azoto. Per valutare la validità di questa ipotesi semplificativa si è effettuata una stima della velocità dei provini e si sono osservate eventuali modifiche del profilo di velocità e dei tempi di condizionamento.

Fissata la produttività a 300 flaconi/ora e disponendo i flaconi in configurazione 3SL a distanza di 6 mm, si è stimata, usando la formula (2.6), una lunghezza del canale di 3 m.

Il tempo necessario al condizionamento dei provini in questa configurazione è di circa 25 minuti. Si è quindi stimata la velocità (2.7) come:

$$v = \frac{\text{lunghezza canale}}{\text{tempo di condizionamento}} = 0,002 \text{ m/s} \quad (2.7)$$

Per simulare il movimento relativo dei provini rispetto all'azoto, si è aggiunta all'azoto una componente di velocità pari alla velocità dei provini e con direzione opposta.

La velocità dei provini è stata fatta variare dal valore calcolato di 0,002 m/s fino a 0,2 m/s, stesso ordine di grandezza della velocità dell'azoto. Solo a questa velocità si osserva una modifica del profilo all'ingresso, ma una volta impattati i provini il profilo diventa analogo ai casi precedenti. Poiché muovere i provini a queste velocità è impensabile, e comunque la fluidodinamica si può considerare invariata, si è considerata valida l'ipotesi di partenza e si è continuato lo studio con velocità dei provini nulla.

Il **Figura 2.17** sono riportati i profili di velocità dell'azoto con velocità dei provini crescenti. La velocità dell'azoto tra i provini nelle tre file si assesta intorno a 2 m/s, circa quattro volte la velocità di alimentazione.

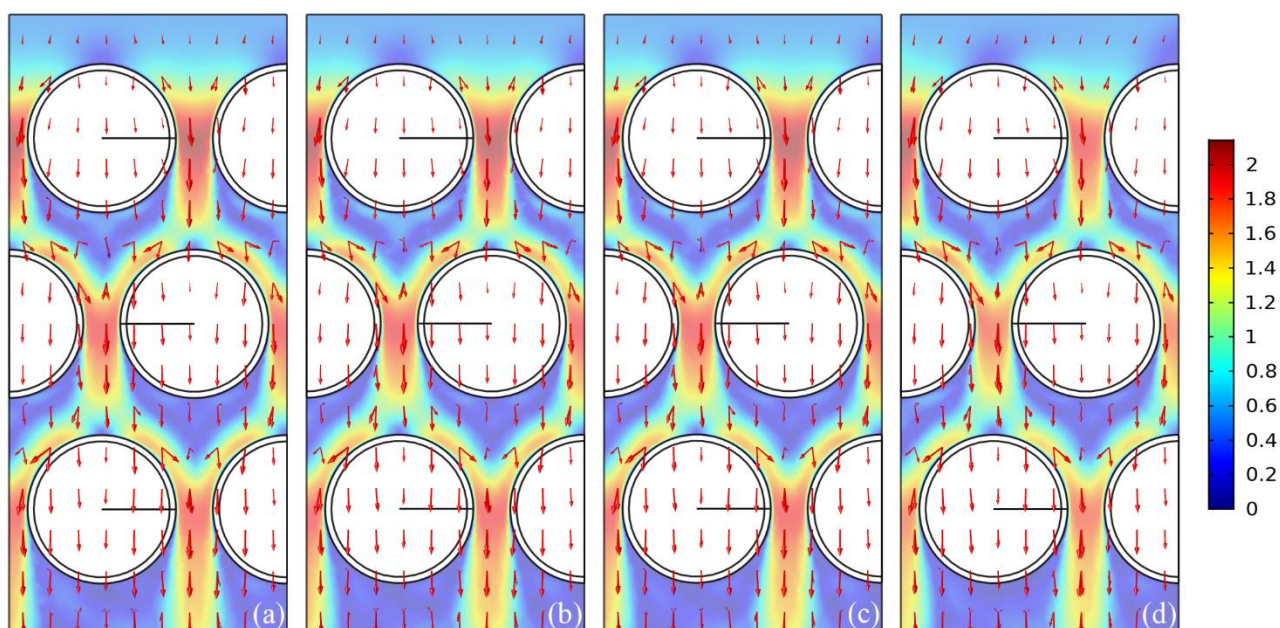


Figura 2.17: Profili di velocità con provini fermi (a) e in moto a 0,002 m/s (b), 0,02 m/s (c), e 0,2 m/s (d).

2.7 Scambio termico

2.7.1 Contributi allo scambio termico

Per approfondire le dinamiche di raffreddamento dei singoli provini, si sono valutati i contributi di calore scambiati attraverso le superfici delimitanti il volume di acqua.

Si sono calcolati gli integrali di superficie del flusso di calore attraverso la superficie laterale, quella inferiore e quella superiore del dominio contenente l'acqua (2.8).

$$\mathbf{q}_{\text{com}}(t) = \iint \mathbf{J}_q \cdot d\mathbf{S} \quad (2.8)$$

L'andamento della potenza termica attraverso le tre superfici è riportato in **Figura 2.18**. L'andamento nei tre casi è simile, presenta un picco nelle fasi iniziali e poi scende a zero man mano che la forza spingente diminuisce. I due contributi predominanti sono quello laterale e inferiore, poiché il vetro scambia continuamente calore con l'azoto a 268 K. Il contributo laterale è favorito dalla sezione più estesa, la cui forma migliora fluidodinamica e, di conseguenza, lo scambio termico. Infine, il contributo superiore risulta ridotto poiché il coefficiente di conducibilità termica dell'aria è molto basso.

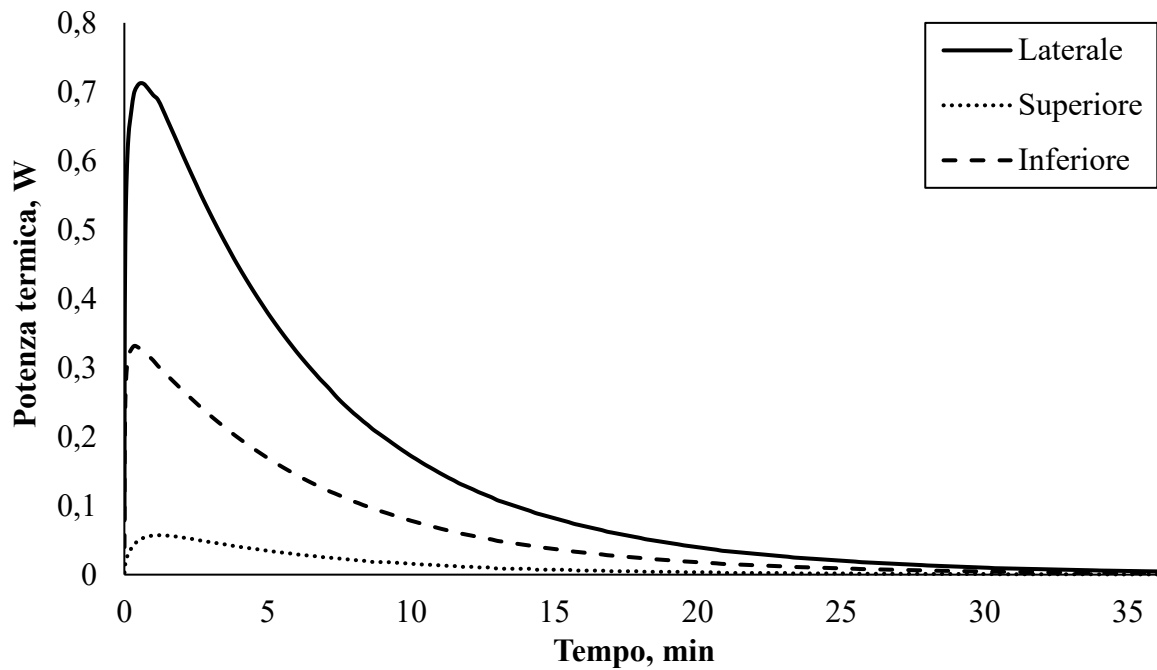


Figura 2.18: Variazione della potenza termica scambiata attraverso le tre superfici del provino nel tempo.

Integrando la potenza tra l'istante iniziale e quello in cui il condizionamento è concluso (2.9), si è ottenuta la quantità di calore scambiata dall'acqua attraverso la superficie di riferimento.

$$Q_{com} = \int_0^{t_{cond}} \mathbf{q}_{com}(t) \cdot dt = \int_0^{1370} \mathbf{q}_{com}(t) \cdot dt \quad (2.9)$$

I risultati sono riportati in **Tabella 2.18**.

Tabella 2.18: Calore scambiato sulle tre superfici.

Superficie	Calore scambiato, J
Laterale	305,06
Superiore	26,30
Inferiore	137,14
Totale	468,5

Il calore totale è stato confrontato con quello teoricamente necessario al raggiungimento della temperatura target. Trovata in COMSOL l'espressione per il c_p (2.10)

$$c_p = 12010.15 - 80.41 \cdot T + 0.31 \cdot T^2 - 5.38 \cdot 10^{-4} \cdot T^3 + 3.63 \cdot 10^{-7} \cdot T^4 \quad (2.10)$$

e calcolata la quantità di acqua nel singolo provino (2.11)

$$m = \rho \cdot \pi r^2 \cdot h = 3,8 \text{ g} \quad (2.11)$$

si è definito il calore scambiato con la relazione (2.12)

$$Q_{th} = \int_{269}^{298} m \cdot c_p(T) \cdot dT = 462,97 J \quad (2.12)$$

Il valore di t_{cond} è riferito al tempo in cui la temperatura media dell'acqua raggiunge il valore target. In questo istante ci saranno inevitabilmente zone in cui l'acqua è sottoraffreddata. Considerando questo aspetto, che fa registrare un Q_{com} superiore, si è considerata superata la verifica del calore scambiato.

2.7.2 Gradienti di temperatura

I risultati riportati nella sezione precedente sono stati utilizzati per localizzare i punti in cui sono presenti i massimi gradienti termici. Come ci si aspettava, lo scambio termico non è uniforme e inevitabilmente ci saranno dei gradienti di temperatura all'interno dell'acqua nei singoli provini. Conoscendo il calore scambiato dall'acqua attraverso le tre superfici, le cui percentuali sono riportate in **Figura 2.19**, si sono riusciti ad individuare i punti tra i quali è misurabile il massimo gradiente di temperatura. Il calore viene scambiato prevalentemente dalla superficie laterale, mentre quello scambiato dalla superficie superiore è quasi trascurabile.

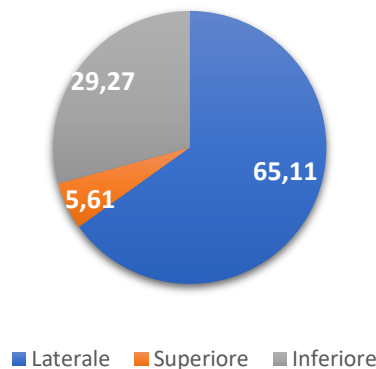


Figura 2.19: Percentuali di calore scambiato attraverso le tre superfici.

Poiché il calore scambiato dalla superficie laterale e da quella superiore sono i due contributi principali, il punto a temperatura più bassa sarà sulla superficie anteriore del provino e situato sul fondo. Viceversa, quello a temperatura maggiore sarà situato in prossimità dell'interfaccia acqua-aria.

Queste affermazioni sono facilmente verificabili dai diagrammi di iso-temperatura, riportati in **Figura 2.20**. Il punto più caldo è posizionato in prossimità della superficie, ma leggermente decentrato rispetto all'asse del provino. Ciò è dovuto al fatto che l'azoto che impatta il provino sulla superficie anteriore è più freddo di quello stagnante su quella posteriore. Di conseguenza il calore non è scambiato uniformemente e il punto è leggermente decentrato.

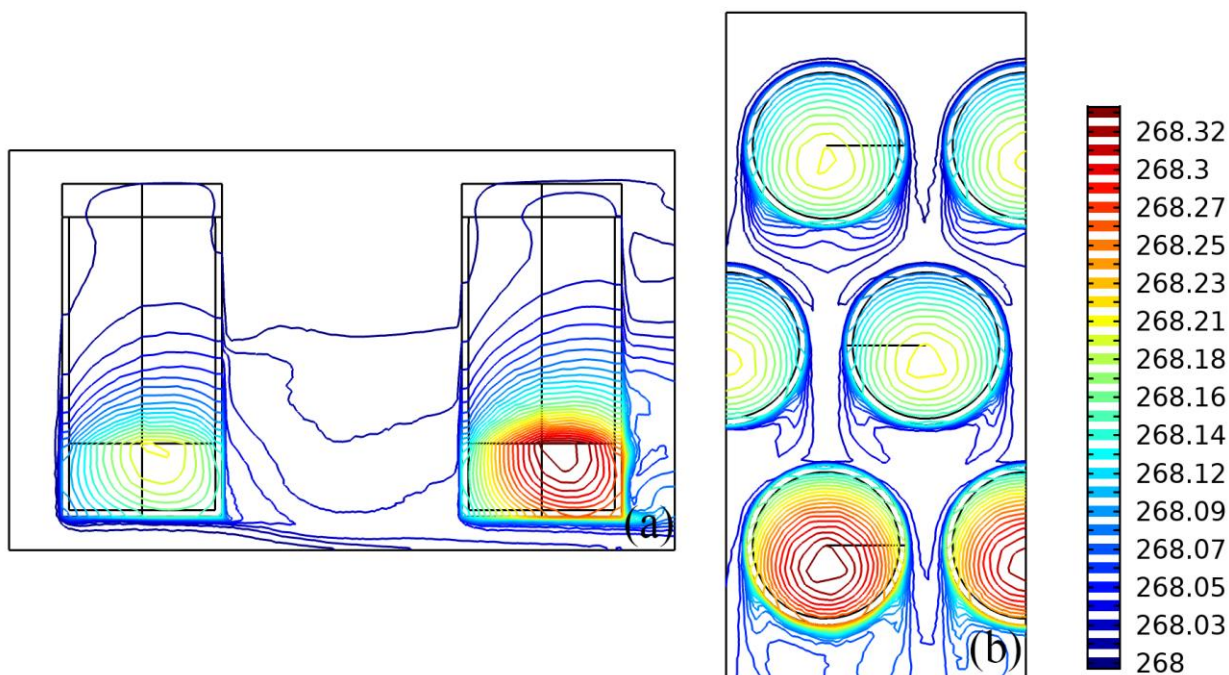


Figura 2.20: Diagramma iso-T con vista frontale (a) e dall'alto (b).

Posizionando dei misuratori di temperatura nelle zone descritte in precedenza, si sono determinate le coordinate del punto più caldo e di quello più freddo. I punti in questione sono rappresentati in **Figura 2.21** in un sistema di riferimento cilindrico con origine sul fondo del volume di acqua. Le coordinate di questi punti sono riportate in **Tabella 2.19**.

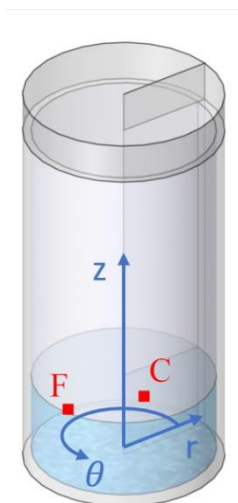


Figura 2.21: Posizione del punto più freddo (F) e di quello più caldo (C) nel sistema di riferimento cilindrico.

Tabella 2.13: Coordinate dei punti F e C nel sistema di riferimento cilindrico.

Punto	Coordinata z	Coordinata r	Coordinata θ
F	0 mm	11 mm	$\pi/2$ rad
C	9 mm	4 mm	$3/4 \cdot \pi$ rad

Dopo aver approfondito le dinamiche dello scambio termico, si sono ridefiniti i tempi di condizionamento e gli indici di eterogeneità.

Al tempo di condizionamento definito come tempo in cui l'acqua raggiunge una temperatura media pari a quella di target, ci sono ancora punti che si trovano ad una temperatura superiore a quella desiderata. Risulta più consistente definire il tempo di congelamento come istante in cui il punto a temperatura massima, ossia quella del punto C, raggiunge la temperatura di interesse. Ovviamente i tempi risulteranno più lunghi, ma sarà possibile passare alla fase successiva con il provino completamente condizionato in cui tutti i punti si trovano sotto i 269 K.

Fino a questo momento, osservando il processo da un punto di vista macroscopico, si è definita l'eterogeneità come differenza tra i tempi di condizionamento dei provini in prima e ultima fila. Diventa interessante quantificare anche l'eterogeneità all'interno dei singoli provini, per cui si è calcolata la differenza di temperatura tra i punti C ed F. I ΔT riportati in seguito sono calcolati alla fine del condizionamento.

Nelle **Tabelle 2.20** e **2.21** sono riportati i tempi di condizionamento riferiti alla temperatura media e a quella massima con i relativi ΔT .

Tabella 2.20: Tempi di condizionamento riferiti alla temperatura media e ΔT .

Fila	Tempo di condizionamento, min	ΔT , K
1	22,8	0,6
2	22,8	0,7
3	25,5	0,9

Tabella 2.21: Tempi di condizionamento riferiti alla temperatura massima e ΔT .

Fila	Tempo di condizionamento, min	ΔT , K
1	25,2	0,4
2	25,2	0,5
3	27,8	0,6

I tempi di condizionamento aumentano di circa 2,5 minuti, ma, poiché la quantità di calore scambiata cresce, i ΔT risultano inferiori di 3 punti decimali. Il prodotto arriverà nella camera di congelamento alla temperatura desiderata e con minori gradienti termici interni.

2.8 Configurazione definitiva

L'ultima modifica apportata alla camera riguarda la sezione di alimentazione dell'azoto. Dovendo raffreddare l'acqua che si trova in una zona limitata della camera, si è provato ad alimentare azoto da una sezione ristretta, posizionata alla stessa quota alla quale è presente l'acqua nei provini. Riducendo l'altezza della sezione da 6 a 2 cm, e volendo tenere la portata costante, si è triplicata la velocità di azoto fino ad 1,5 m/s. In **Figura 2.22** è riportato un confronto tra le due configurazioni.

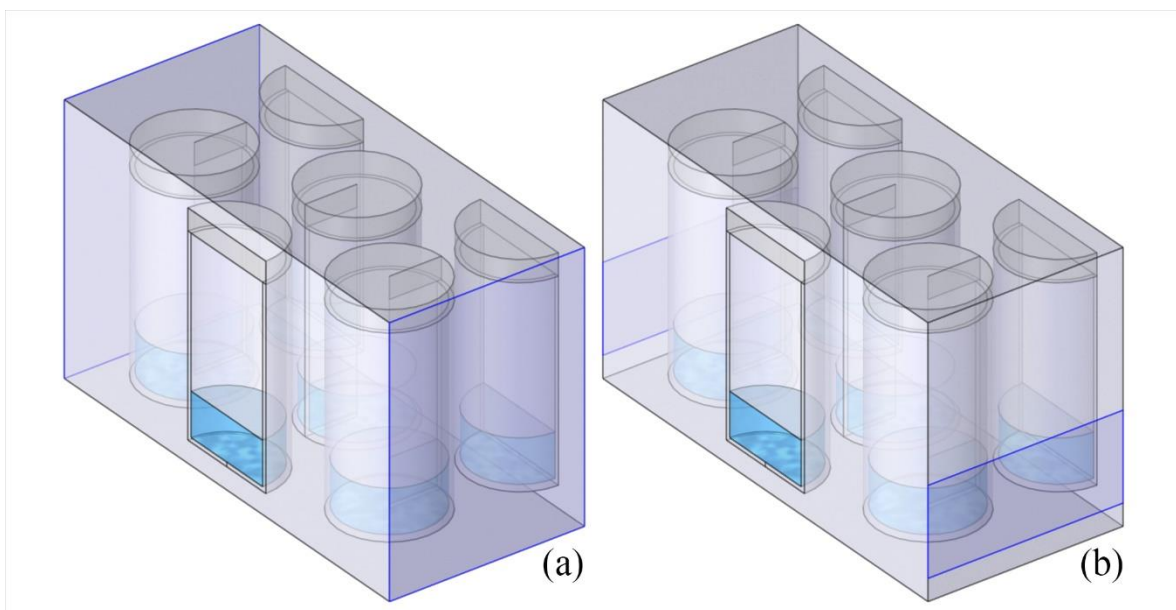


Figura 2.22: Configurazione con sezione di alimentazione completa (a) e parziale (b). Le sezioni di entrata e uscita dell'azoto sono evidenziate in blu scuro.

Si sono confrontati i tempi di condizionamento a parità di portata di azoto e di dimensione della camera. In **Figura 2.23** è riportato il profilo di velocità nel caso con sezione di alimentazione ridotta, leggermente modificato dall'espansione del gas all'interno della camera. Nelle **Tabelle 2.22** e **2.23** sono riportati i tempi di condizionamento nelle due configurazioni.

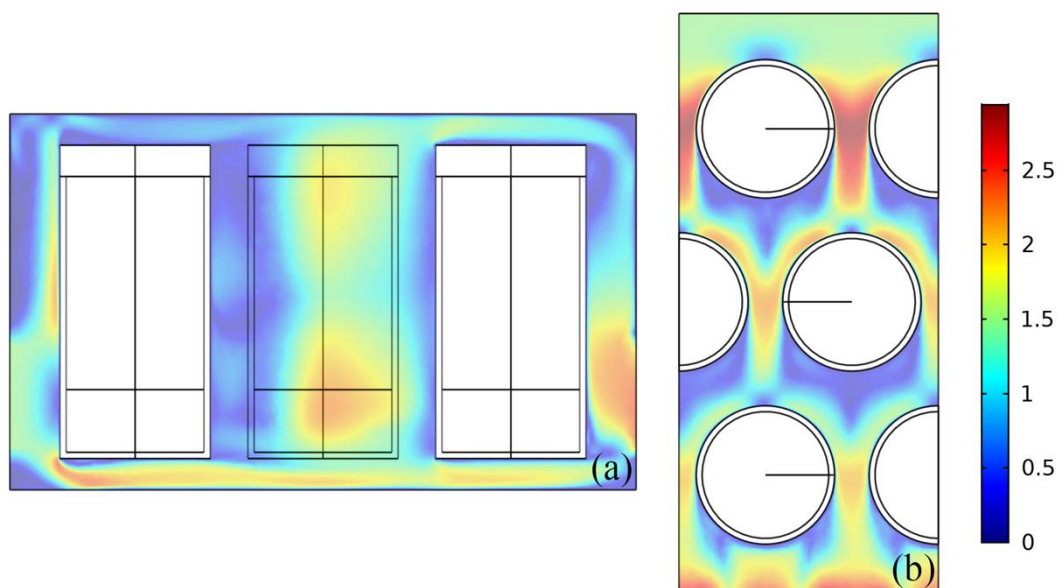


Figura 2.23: Profilo di velocità con azoto alimentato dalla sezione parziale. Vista frontale (a) con azoto che fluisce da sinistra a destra, e dall'alto (b) con azoto che fluisce dall'alto verso il basso.

Tabella 2.42: Tempi di condizionamento con sezione di alimentazione completa.

Fila	Tempo di condizionamento, min	ΔT , K
1	25,2	0,4
2	25,2	0,5
3	27,8	0,6

Tabella 2.23: Tempi di condizionamento con sezione di alimentazione ridotta.

Fila	Tempo di condizionamento, min	ΔT , K
1	20,6	0,4
2	22,3	0,6
3	23,1	0,6

Nel secondo caso lo scambio termico risulta favorito sia dall'aumento della velocità dell'azoto che dall'alimentazione diretta sull'acqua. Si è quindi scelta quest'ultima configurazione come definitiva.

2.9 Conclusioni

A valle degli studi effettuati sulla fluidodinamica del sistema, tenendo anche in considerazione la produttività, i consumi di azoto e le eterogeneità tra i provini, si è arrivati a definire la configurazione ottimale del modulo di congelamento di un liofilizzatore in continuo a flaconi sospesi. In particolare, sono stati valutati diversi parametri di processo quali: distanza tra i provini, posizione relativa dei provini rispetto alla camera, velocità di alimentazione dell'azoto e dimensione della sezione di alimentazione. Poiché la velocità con cui i provini si muovono lungo la camera non ha influenza pratica sulla fluidodinamica del sistema, essi si sono considerati fermi all'interno del tunnel di raffreddamento.

L'unità ripetitiva della camera e i parametri operativi sono riportati, rispettivamente, in **Figura 2.24** e in **Tabella 2.24**.

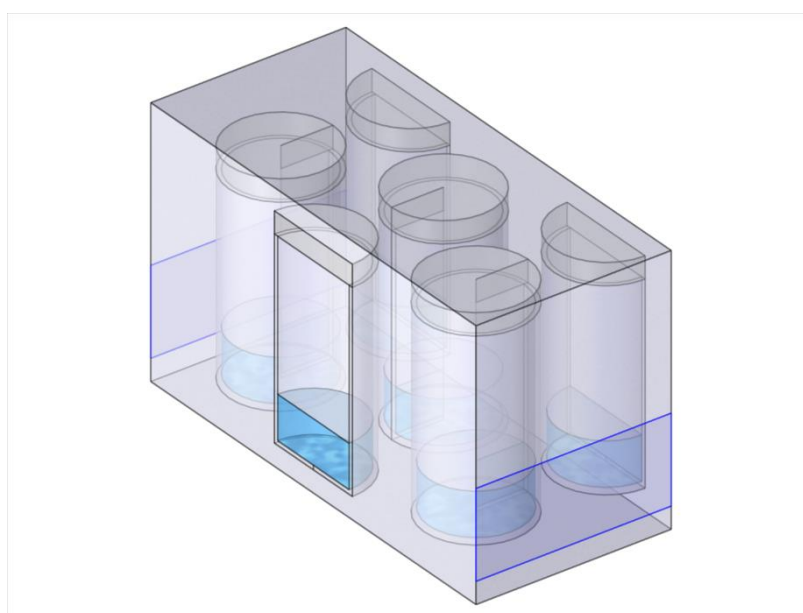


Figura 2.24: Unità ripetitiva della camera di liofilizzazione. Le sezioni di entrata e uscita dell'azoto sono evidenziate in blu scuro.

Tabella 2.24: Parametri operativi.

Nome	Valore
Lunghezza canale	3 m
Altezza canale	6 cm
Profondità canale	10,4 cm
Altezza sezione alimentazione	2 cm
Distanza tra i provini	6 mm
Distanza tra le file	6 mm
Distanza dei provini dal fondo	5 mm
Distanza dei provini dall'ingresso	1 cm
Distanza dei provini dall'outlet	1 cm
Velocità dell'azoto	1,5 m/s
Temperatura dell'azoto	268 K

Le simulazioni effettuate sulla configurazione sopra esposta, hanno dato i risultati riportati in **Tabella 2.25**.

Tabella 2.25: Tempi di condizionamento e gradienti termici dei provini nelle tre file.

Fila	Tempo di condizionamento, min	ΔT , K
1	20,6	0,4
2	22,3	0,6
3	23,1	0,6

La fase di condizionamento ha la durata di 23 minuti, e all'interno dell'acqua dei singoli provini sono presenti gradienti termici accettabili che non dovrebbero compromettere la qualità del prodotto finale.

Capitolo 3

Fase di congelamento

3.1 Descrizione fenomenologica

La struttura porosa del prodotto liofilizzato ricalca quella dei cristalli di ghiaccio che si formano durante il congelamento. Studiando la dinamica di questo cambio di fase è possibile manipolare la morfologia e la dimensione dei cristalli, e ottenere prodotti secchi con delle caratteristiche strutturali omogenee. L'uniformità del prodotto permette di modulare la resistenza al trasporto di vapore durante la fase di essiccamento e di ridurne la durata.

Durante il congelamento la temperatura dell'acqua segue l'andamento riportato in **Figura 3.1** [45].

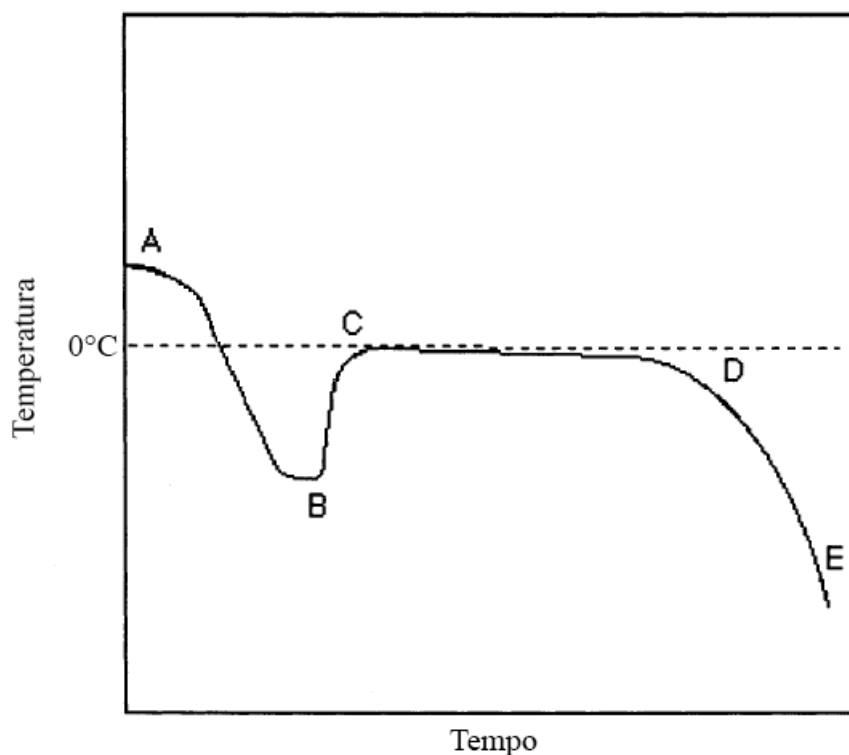


Figura 2.1: Variazione della temperatura durante il congelamento di un campione di acqua. Tratta da [45] con modifiche.

Raffreddando l'acqua si osserva che essa può esistere allo stato liquido anche a temperature inferiori a quella di congelamento. In queste condizioni l'acqua si definisce sottoraffreddata e si trova in uno stato metastabile: una perturbazione esterna può rompere l'equilibrio e innescare il congelamento. Operando in condizioni estremamente controllate, rimuovendo ogni contaminante esterno e minimizzando il contatto con superfici ruvide, è possibile ottenere acqua sottoraffreddata fino a -41°C [46]. Alla temperatura di nucleazione (punto B) si formano i primi nuclei stabili, l'acqua rilascia il calore latente di solidificazione e la temperatura sale fino a quella di equilibrio (Punto C). Essa rimane circa costante fino al momento in cui il congelamento è concluso (Punto D). Da questo punto in poi comincia la fase di raffreddamento del ghiaccio.

Il sottoraffreddamento risulta essere un parametro particolarmente importante del processo, in quanto la temperatura di nucleazione influenza sia la morfologia che la dimensione dei cristalli di ghiaccio. In generale si osserva che le dimensioni dei cristalli si riducono all'aumentare del grado di sottoraffreddamento [47], mentre la morfologia risulta influenzata anche dal tipo di soluto e dalla sua concentrazione [48,49]. Agendo su questi parametri è possibile, con alcuni limiti, avere un controllo sulla morfologia dei cristalli di ghiaccio all'interno della fase solida e, di conseguenza, sulla struttura porosa del prodotto essiccato.

3.2 Descrizione del modello per la VISF

Per innescare la nucleazione dell'acqua si è utilizzata la VISF. I provini in uscita dal modulo di condizionamento attraversano un breve tratto sottovuoto, alla pressione di circa 1 mbar, e l'acqua in superficie inizia ad evaporare. Questo evento causa una brusca diminuzione di temperatura dell'acqua in superficie e innesca la nucleazione. L'evaporazione dell'acqua indotta dal vuoto si è approssimata come una potenza termica negativa distribuita all'interfaccia aria-acqua. Tale potenza è pari al prodotto tra il flusso di vapore, N_w , e l'entalpia di evaporazione massica, ΔH_e :

$$\mathbf{q} = N_w \cdot \Delta H_e \quad (3.1)$$

L'espressione per il flusso di acqua che evapora (3.2) è definita tramite una serie di assunzioni dalla teoria cinetica dei gas [50].

$$N_w = \sqrt{\frac{M\eta^2}{2\pi R}} \left[\frac{p^0(T_l)}{\sqrt{T_l}} - \frac{p_v}{\sqrt{T_v}} \right] \quad (3.2)$$

Dove M è la massa molare dell'acqua, R è la costante universale dei gas, η è l'efficienza di evaporazione che varia tra 0,004 e 0,015, $p^0(T_l)$ è la tensione di vapore calcolata alla temperatura dell'acqua liquida, p_v è la pressione parziale dell'acqua nella camera e T_l e T_v sono, rispettivamente, le temperature dell'acqua e del vapore. Poiché la camera del liofilizzatore viene messa sottovuoto, si è assunta p_v nulla. L'efficienza di evaporazione utilizzata per il calcolo della portata è stata posta pari al valor medio tra i due estremi, ossia 0,0095. Tutte le grandezze vanno inserite nelle unità fondamentali del Sistema Internazionale.

I valori di tensione di vapore in funzione della temperatura sono riferiti all'acqua sottoraffreddata validi nel range di temperature da 0 a -40°C [51]. Un estratto è riportato in **Tabella 3.1**. I valori presenti sono stati utilizzati per definire una funzione in COMSOL tramite il comando *Interpolation*.

L'espressione dell'entalpia di evaporazione massica (3.3), reperita da [52].

$$\Delta H_e = 3,14 \cdot 10^6 \cdot \left(1 - \frac{T}{T_c} \right)^{0,61204 - 0,6257 \frac{T}{T_c} + 0,3988 \left(\frac{T}{T_c} \right)^2} \quad (3.3)$$

Dove T_c è la temperatura critica dell'acqua, pari a 647.096 K.

Tabella 3.1: Variazione della tensione di vapore dell'acqua sottoraffreddata con la temperatura. Tabella tratta da [51] con modifiche.

Temperatura, K	Tensione di vapore, kPa
273	0,6112
272	0,5682
271	0,5279
270	0,4901
269	0,4548
268	0,4218
267	0,3909
266	0,3620
265	0,3351
264	0,3099
263	0,2865
262	0,2646

3.3 Comportamento dell'acqua sottovuoto

Per valutare i gradienti termici che si sviluppano nel liquido durante la VISF, si è effettuata una simulazione sui provini in uscita dal modulo di condizionamento. A partire dalle condizioni finali del condizionamento, si è attivata la potenza termica e si sono valutati i gradienti termici sviluppati dopo 60 e 90 secondi.

Prima di tutto si sono osservati i profili di temperatura dei punti tra i quali era presente il massimo gradiente di temperatura, ossia i punti F e C individuati nella sottosezione 2.7. Questo andamento è riportato in **Figura 3.2**.

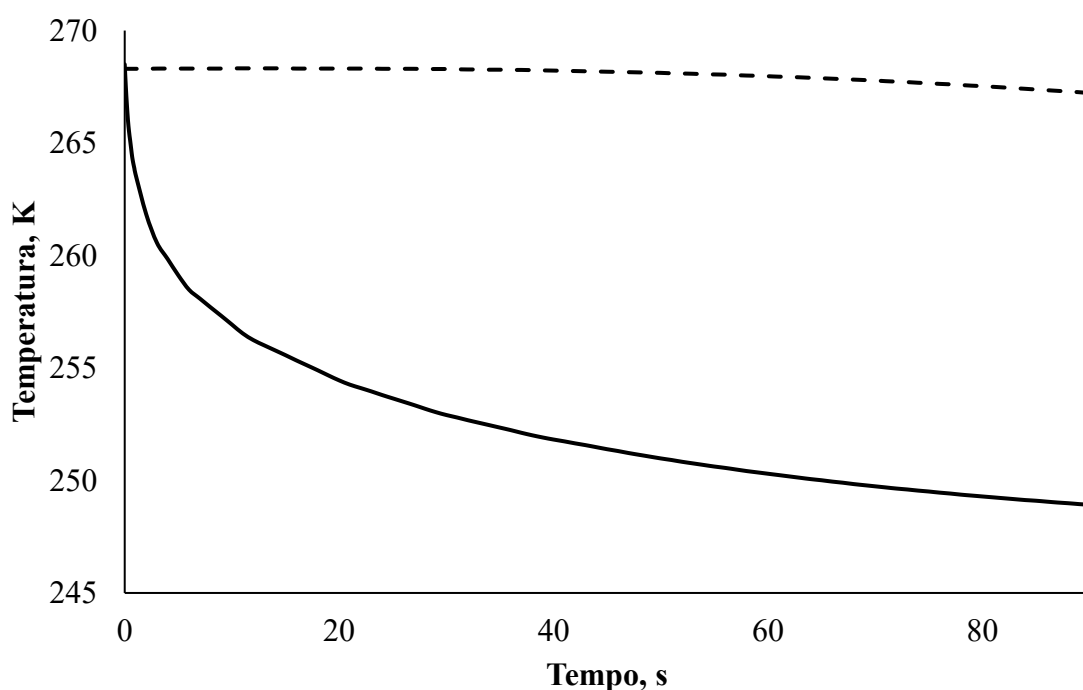


Figura 3.2: Profili di temperatura dei punti C (linea continua) ed F (linea tratteggiata).

Alla fine del condizionamento il punto più caldo era situato in superficie, mentre quello più freddo sul fondo. In seguito alla VISF, data la potenza termica elevata esportata dall'evaporazione, il punto più freddo si localizza sulla superficie, mentre sul fondo la temperatura rimane pressoché costante. Per valutare più dettagliatamente il comportamento dell'acqua lungo l'asse del provino, si sono inseriti dei misuratori di temperatura a diverse quote all'interno dell'acqua. I profili di temperatura sono riportati in **Figura 3.3**, mentre in **Tabella 3.2** sono riportati i gradienti di temperatura alle varie quote tra l'inizio e la fine della VISF.

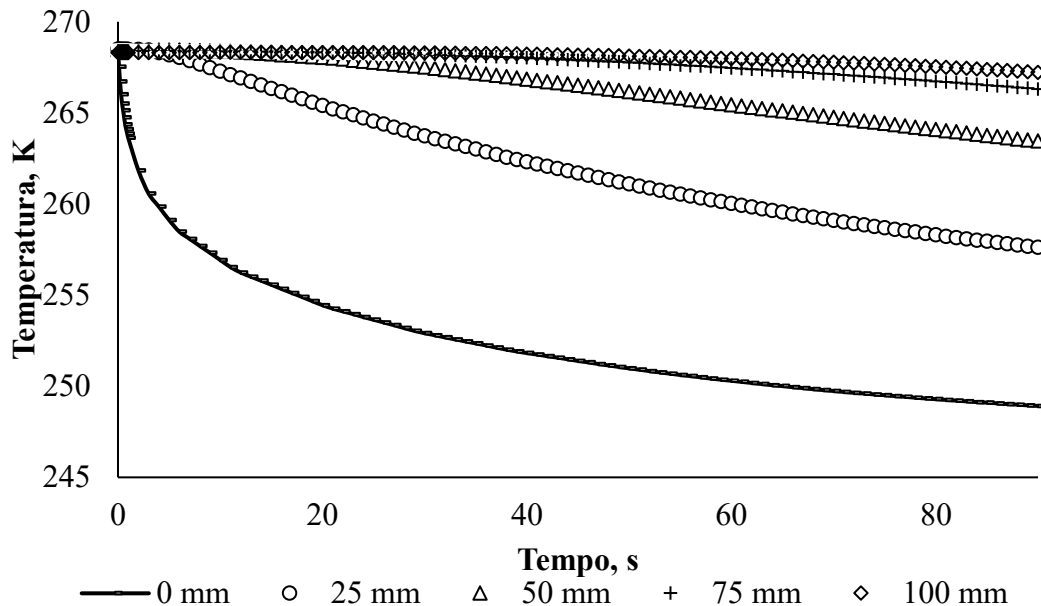


Figura 3.3: Profili di temperatura durante la VISF di cinque punti a distanza dalla superficie variabile.

Tabella 3.2: Gradienti di temperatura lungo l'asse del provino dopo 60 e 90 secondi di VISF.

Punto	Distanza dalla superficie, mm	ΔT_{60} , K	ΔT_{90} , K
A	0	-18,3	-19,7
B	25	-8,5	-11,0
C	50	-3,0	-5,0
D	75	-0,9	-2,1
E	100	-0,3	-1,1

Già dopo un minuto si riesce a ridurre di circa 18 K la temperatura dei punti sulla superficie dell'acqua. La temperatura cala in maniera significativa nella metà superiore del volume di acqua.

3.4 Descrizione del modello per il congelamento

Il modello già presente in COMSOL per i cambi di fase liquido-solido è basato sulla variazione di c_p in un dato intervallo di temperatura. Esso richiede l'inserimento di una temperatura di equilibrio e di un range di temperatura durante il quale avviene la transizione di fase. Il simulatore farà variare il c_p in maniera proporzionale al calore latente nell'intervallo prescelto centrato nella temperatura di equilibrio. Esso, però, non tiene in considerazione il

sottoraffreddamento e la nucleazione, e in più l'aumento di c_p in un intervallo di temperatura ridotto porta a problemi numerici per velocità di raffreddamento molto elevate.

Per i motivi sopra esposti si è sviluppato un modello alternativo per il congelamento grazie agli studi del gruppo di ricerca del professor Pisano. Sostanzialmente la transizione di fase si innesca quando la temperatura in un punto del dominio dell'acqua scende al disotto di quella di nucleazione, evento che attiva una potenza termica corrispondente al rilascio di calore latente. La transizione di fase è considerata conclusa nel momento in cui l'acqua nei singoli provini ha scambiato una quantità di calore pari all'intero calore latente di solidificazione. Si è definita la frazione di ghiaccio come rapporto tra il calore sviluppato durante il cambio di fase e il calore latente totale sviluppabile; in questo modo le proprietà termiche variano linearmente con la frazione di ghiaccio. I risultati ottenuti della simulazione hanno evidenziato la stabilità del modello e la corrispondenza con i fenomeni che si verificano durante il congelamento.

Oltre alle modifiche apportate alla fisica *Heat Transfer in Solids and Fluids*, si sono aggiunte le fisiche *Events*, per innescare il congelamento, e *Domain ODEs and DAEs*, per la risoluzione di equazioni differenziali.

3.4.1 Definitions

Le funzioni che descrivono la variazione della conducibilità termica e del calore specifico di acqua e ghiaccio con la temperatura sono state definite utilizzando i dati riportati in **Tabella 3.3** e **3.4** [53]. Le proprietà dell'acqua sottoraffreddata sono estrapolate linearmente. Poiché COMSOL mantiene la geometria costante e si sono voluti evitare problemi di conservazione di massa, si è tenuta costante la densità dell'acqua a 1000 kg/m^3 . Il calore latente è pari a $333,3 \text{ J/g}$.

Tabella 3.3: Conducibilità termica e calore specifico dell'acqua con la temperatura. Tabella tratta da [55] con modifiche.

Temperatura, K	Conducibilità termica, W/(m·K)	Calore specifico, J/(kg·K)
273,15	0,5610	4217,6
283,15	0,5800	4192,1
293,15	0,5984	4181,8
303,15	0,6154	4178,4
313,15	0,6305	4178,5

Tabella 3.4: Conducibilità termica e calore specifico del ghiaccio con la temperatura. Tabella tratta da [55] con modifiche.

Temperatura, K	Conducibilità termica, W/(m·K)	Calore specifico, J/(kg·K)
273,15	2,14	2110
263,15	2,3	2030
253,15	2,4	1960
243,15	2,5	1880
233,15	2,6	1800
223,15	2,8	1720

La frazione di ghiaccio (3.4), x_i , è stata definita come la frazione di calore latente scambiato al tempo t (3.5). In quest'ultima espressione $\dot{q}$ è la potenza termica che simula il cambio di fase.

$$x_i(t) = \frac{l(t)}{\lambda} \quad (3.4)$$

$$l(t) = \int_{t_0}^t \dot{q} dt \quad (3.5)$$

Le proprietà del materiale sono combinazioni lineari di quelle dell'acqua e del ghiaccio, pesate sulla frazione di ghiaccio (3.6), (3.7).

$$k = k_w(1 - x_i) + k_i x_i \quad (3.6)$$

$$c_p = c_{p,w}(1 - x_i) + c_{p,i} x_i \quad (3.7)$$

Dove k e c_p rappresentano rispettivamente la conducibilità termica e il calore specifico del materiale, mentre i pedici w ed i si riferiscono rispettivamente all'acqua e al ghiaccio.

3.4.2 Events

Questa fisica permette di modificare un indicatore nel momento in cui si verifica un determinato evento. Nella sezione *Discrete States* si definiscono il valore iniziale e quello finale dell'indicatore *nucleation*, rispettivamente 0 ed 1. La condizione grazie alla quale l'indicatore varia è la (3.8).

$$\delta T = T_{min} - T_n \quad (3.8)$$

In cui T_n , posta uguale a 263 K, è la temperatura di nucleazione mentre T_{min} è la temperatura minima nell'acqua.

Quando δT diventa negativo, cioè quando la temperatura minima raggiunge quella di nucleazione, l'indicatore passa da 0 ad 1 e la potenza termica dovuta al cambio di fase si attiva.

3.4.3 Heat Transfer in Solids and Fluids

In questa fase del processo l'azoto viene alimentato alla temperatura di 223 K. Per simulare il cambio di fase si è inserita una *Domain heat source*, in cui la potenza termica è stata definita con la formula (3.9).

$$\dot{q} = \dot{q}_{lat} \cdot nucleation (x_i < 1) + 0 (x_i \geq 1) \quad (3.9)$$

Essa si attiva nel momento in cui *nucleation* diventa pari ad 1 e si disattiva quando la frazione di ghiaccio raggiunge l'unità.

L'espressione di $\dot{q}_{lat}$ (3.10)

$$\dot{q}_{lat} = \vartheta \cdot \frac{T - T_{eq}}{T_n - T_{eq}} \quad (3.10)$$

è stata formulata tenendo in considerazione che essa è direttamente proporzionale alla differenza tra la temperatura dell'acqua, T , e quella di equilibrio, T_{eq} , pari a 273 K. In questo modo il sistema si riporta alla temperatura di equilibrio sviluppando una potenza termica tanto più grande quanto più l'acqua si raffredda. Il denominatore è stato inserito per rendere il gruppo adimensionale.

Il valore di ϑ , che ha le dimensioni di una potenza per unità di massa, è stato determinato tramite esperimenti di DSC effettuati dal gruppo di ricerca. L'esperimento è stato effettuato su un campione di circa 30 mg di acqua raffreddato con una rampa di $-20^\circ\text{C}/\text{min}$. Durante il raffreddamento si è misurata la potenza termica sviluppata dall'acqua, e si è posto ϑ pari alla potenza registrata nel momento in cui la temperatura fosse uguale a quella di nucleazione, e quindi il secondo termine dell'espressione (3.10) pari ad 1. Tale valore è pari a 300 mW, che divisi per i 30 mg di acqua porta a $\vartheta = 10 \text{ W/g}$.

3.5 Congelamento

Per testare il modello di congelamento, si sono effettuate delle simulazioni sui provini uscenti dal condizionamento. Essi passano nel modulo apposito dove sono raffreddati da azoto a 223 K alla velocità di 1,5 m/s. In **Figura 3.4** sono riportati i profili di temperatura dell'acqua nei provini.

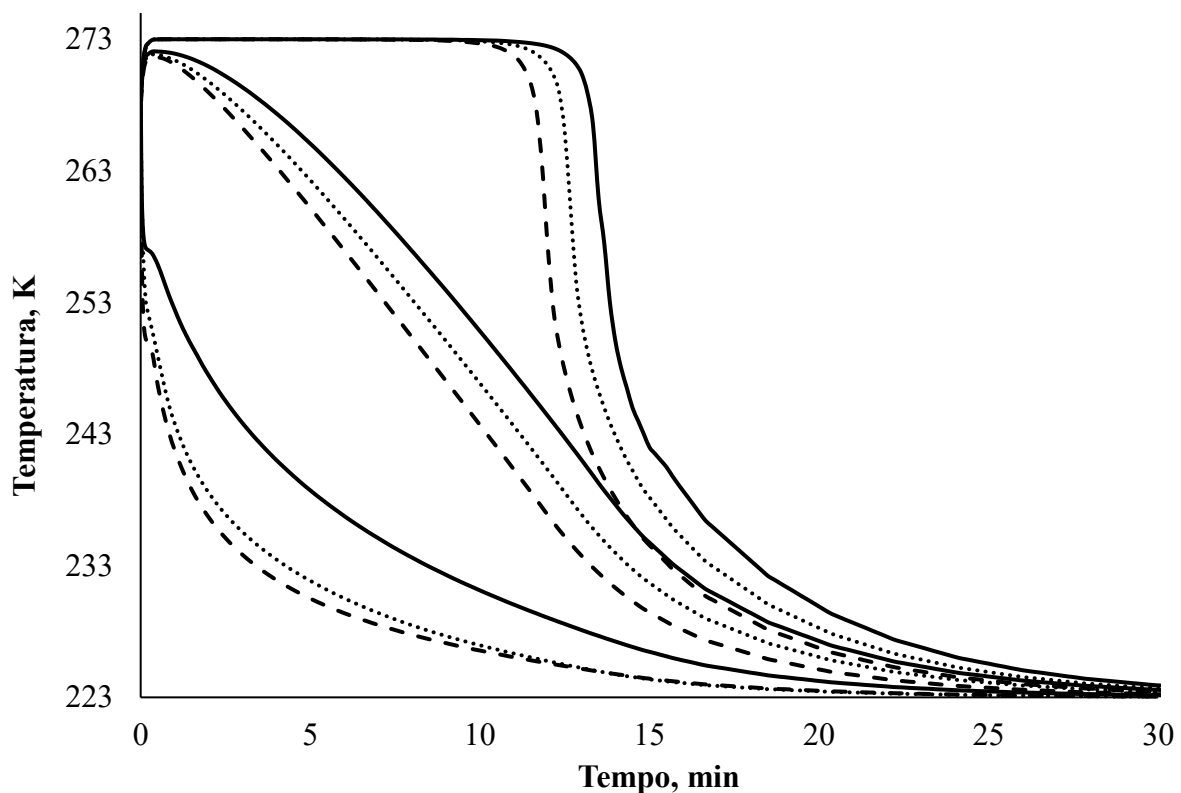


Figura 3.3: Andamento della temperatura massima (in alto), media (al centro) e minima (in basso) dell'acqua nei provini situati in prima (linea tratteggiata), in seconda (linea puntinata) e terza fila (linea continua).

Si nota che le temperature minime diminuiscono molto velocemente, arrivando in tempi brevi a 263 K e innescando la nucleazione. In questi punti non si osserva la risalita della temperatura, poiché il calore scambiato è talmente alto da smaltire velocemente il calore latente.

Le temperature massime, invece, si assestano alla temperatura di equilibrio e iniziano a diminuire nel momento in cui la frazione di ghiaccio è prossima all'unità. Questo andamento è molto simile alle curve sperimentali di congelamento.

Per osservare l'avanzamento del fronte di congelamento si sono diagrammate le frazioni di ghiaccio nei provini in diversi istanti durante il congelamento. Questi fotogrammi sono riportati in **Figura 3.5**.

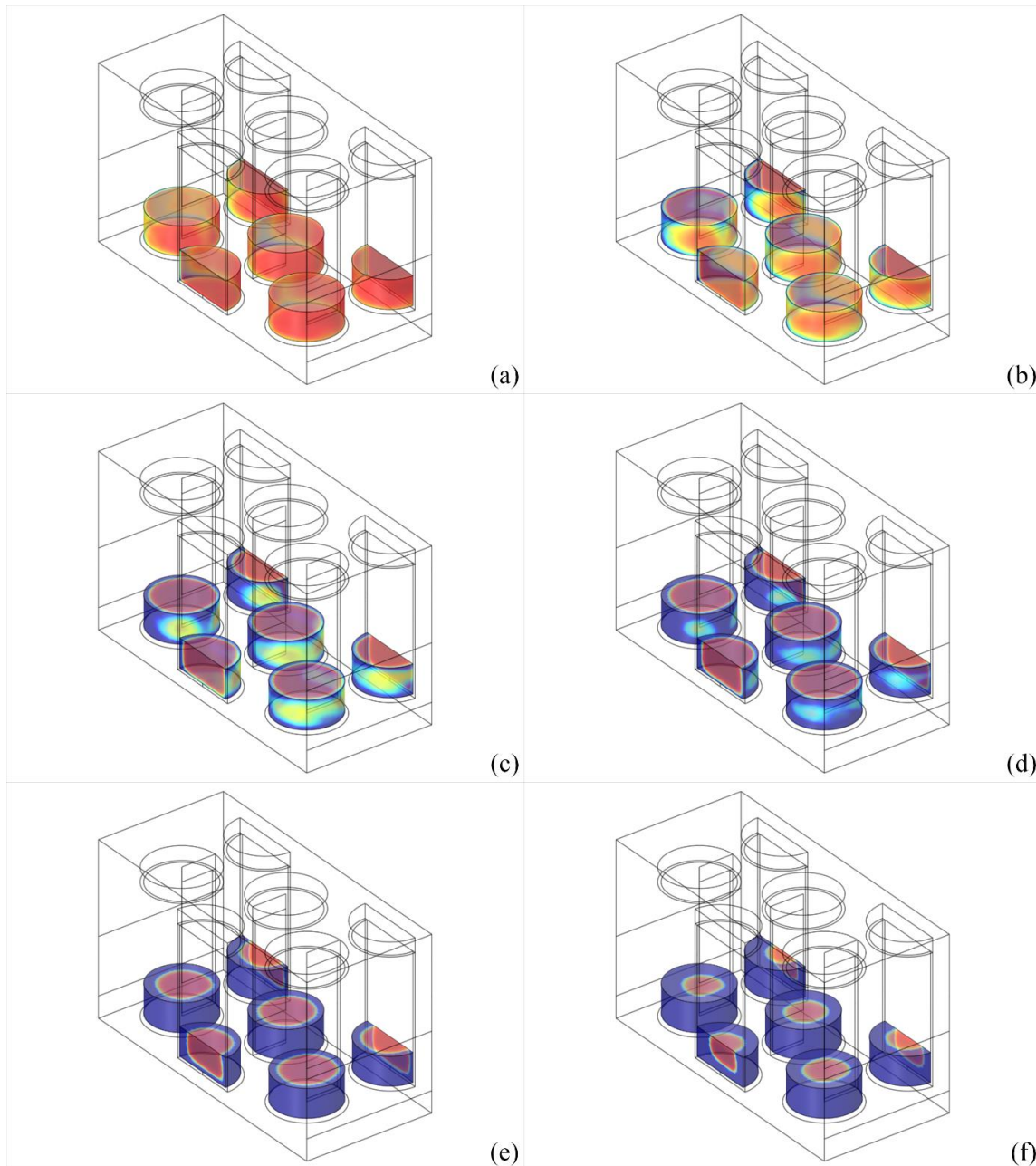


Figura 3.4: Variazione della frazione di ghiaccio tra 0 (in rosso) e 1 (in blu) nei provini dopo 10 s (a), 30 s (b), 60 s (c), 90 s (d), 180 s (e) e 360 s (f).

I primi punti a congelare sono quelli situati sul fondo della superficie anteriore del provino, in quanto sono i punti più freddi del dominio. In generale si nota come il fronte di congelamento si muova verso il centro del provino lungo la direzione radiale, e dal basso verso l'alto lungo quella longitudinale. Poiché l'azoto sulla sezione anteriore è più freddo di quello sulla sezione posteriore, il fronte di congelamento non è centrato sull'asse del provino. I punti all'interfaccia acqua-aria sono gli ultimi a congelare dato che il calore asportato in prossimità della superficie è quasi trascurabile.

3.6 Congelamento con induzione della nucleazione

Una volta sviluppati i due modelli si è simulato il congelamento dell'acqua secondo due protocolli di congelamento: il primo in cui la fase sottovuoto ha la durata di 60 secondi e il secondo in cui il vuoto è disattivato nel momento in cui si osserva l'inizio della nucleazione. La fase di congelamento si è considerata conclusa nel momento in cui la temperatura massima dell'acqua nei provini ha raggiunto il target di 223,5 K ($223\text{ K} \pm 0,5\text{ K}$).

3.6.1 Congelamento con VISF "completa"

Pensando ad un'apparecchiatura completamente automatizzata, si è scomposto il modulo di congelamento in due sezioni: la prima nella quale è generato il vuoto, con tempo di permanenza dei provini pari ad 1 minuto, e la seconda a pressione atmosferica, nella quale si completa il congelamento raffreddando l'acqua con azoto alla velocità di 1,5 m/s e alla temperatura di 223 K.

In **Figura 3.6** è riportato l'andamento della temperatura massima, media e minima nei tre provini.

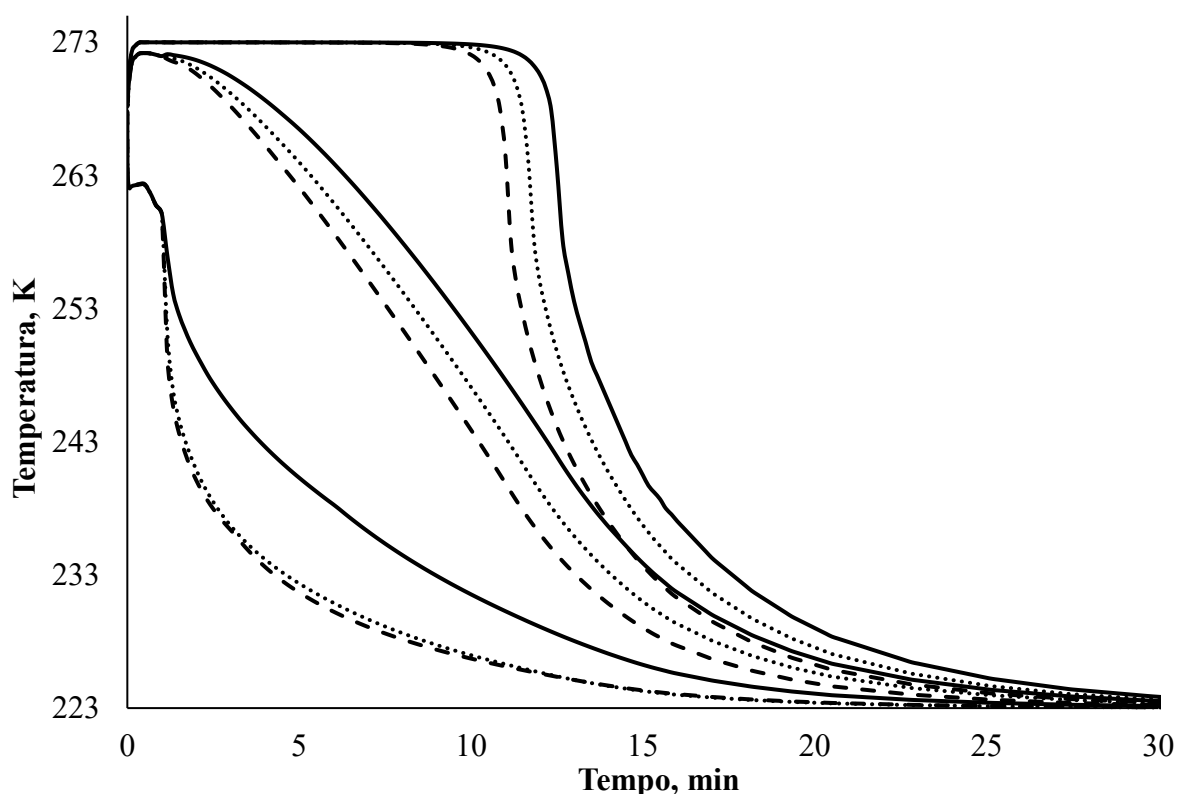


Figura 3.5: Andamento della temperatura massima (in alto), media (al centro) e minima (in basso) dell'acqua nei provini situati in prima (linea tratteggiata), in seconda (linea puntinata) e terza fila (linea continua).

In questa situazione le temperature minime hanno un andamento leggermente diverso. L'evaporazione innesca la nucleazione dei punti in superficie, attivando la potenza che simula il calore latente prima che l'azoto inizi a raffreddare il provino. Essendo il calore di evaporazione inferiore a quello sviluppato dal congelamento, si osserva una leggera risalita nel momento in cui si innesca la nucleazione. Nel momento in cui l'evaporazione si ferma e si alimenta l'azoto, il raffreddamento prosegue seguendo curva di pendenza superiore. Le temperature massime seguono un andamento analogo a quello del caso precedente.

In **Figura 3.7** sono riportati dei fotogrammi in cui si nota il movimento del fronte di congelamento. Poiché nelle fasi iniziali del processo il calore è asportato soltanto dalla superficie superiore, si nota come questa sia l'unica zona in cui si forma il ghiaccio. Alla fine della VISF si alimenta l'azoto e comincia il congelamento della porzione inferiore dell'acqua nei provini in maniera simile al caso precedente.

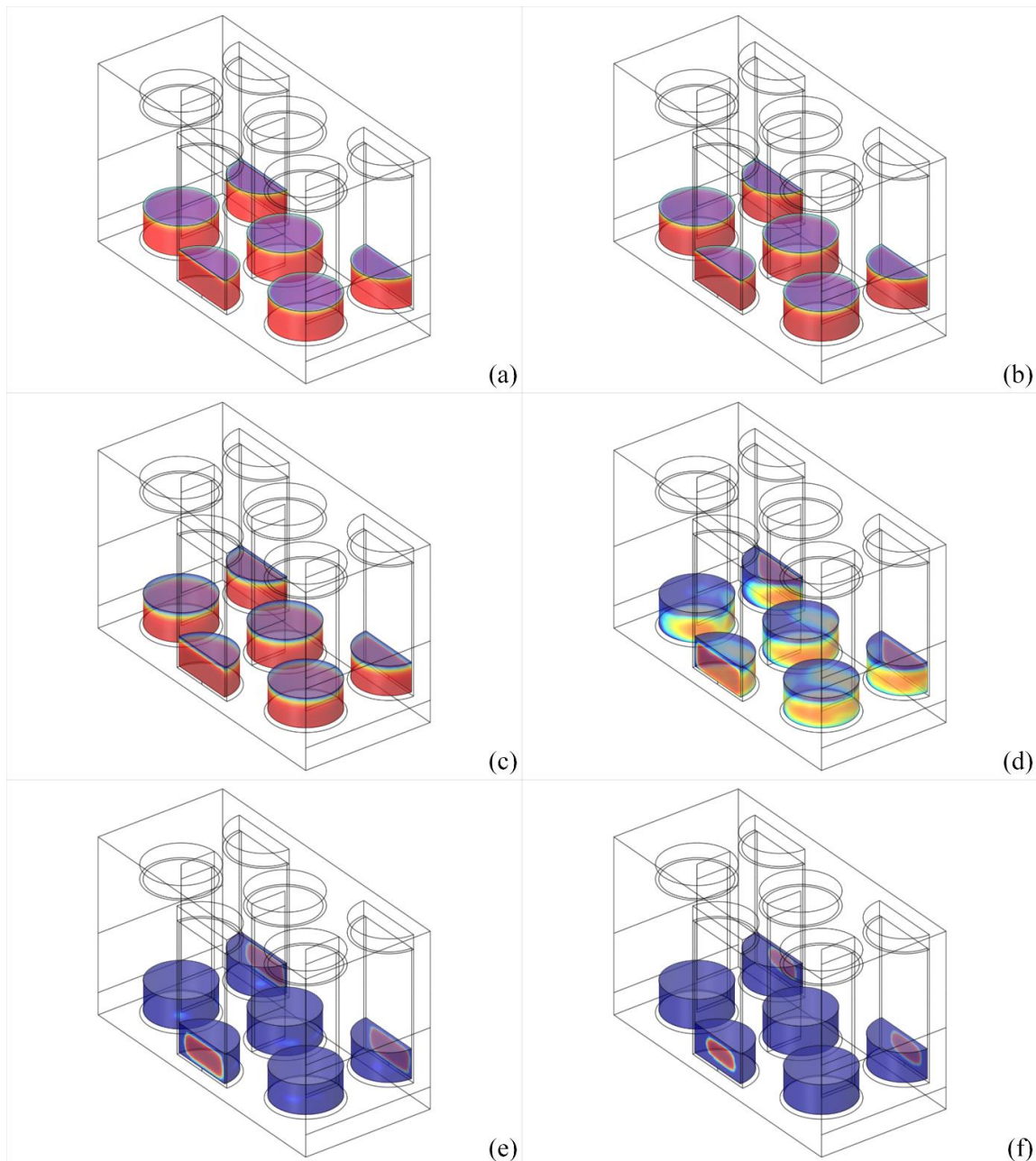


Figura 3.6: Variazione della frazione di ghiaccio tra 0 (in rosso) e 1 (in blu) nei provini dopo 10 s (a), 30 s (b), 60 s (c), 90 s (d), 180 s (e) e 360 s (f).

In **Tabella 3.5** sono riportati i tempi di congelamento dei tre provini.

Tabella 3.5: Tempi di congelamento dell'acqua nelle tre file.

Fila	Tempo di congelamento, min
1	29
2	31
3	32

3.6.2 Congelamento con VISF "incompleta"

In questo caso si suppone di aver a disposizione un rilevatore che segnali l'inizio della nucleazione e disattivi la linea del vuoto. In questo momento si alimenta azoto alla stessa velocità e temperatura dello studio precedente.

In **Figura 3.8** è riportato l'andamento della temperatura massima, media e minima nei tre provini.

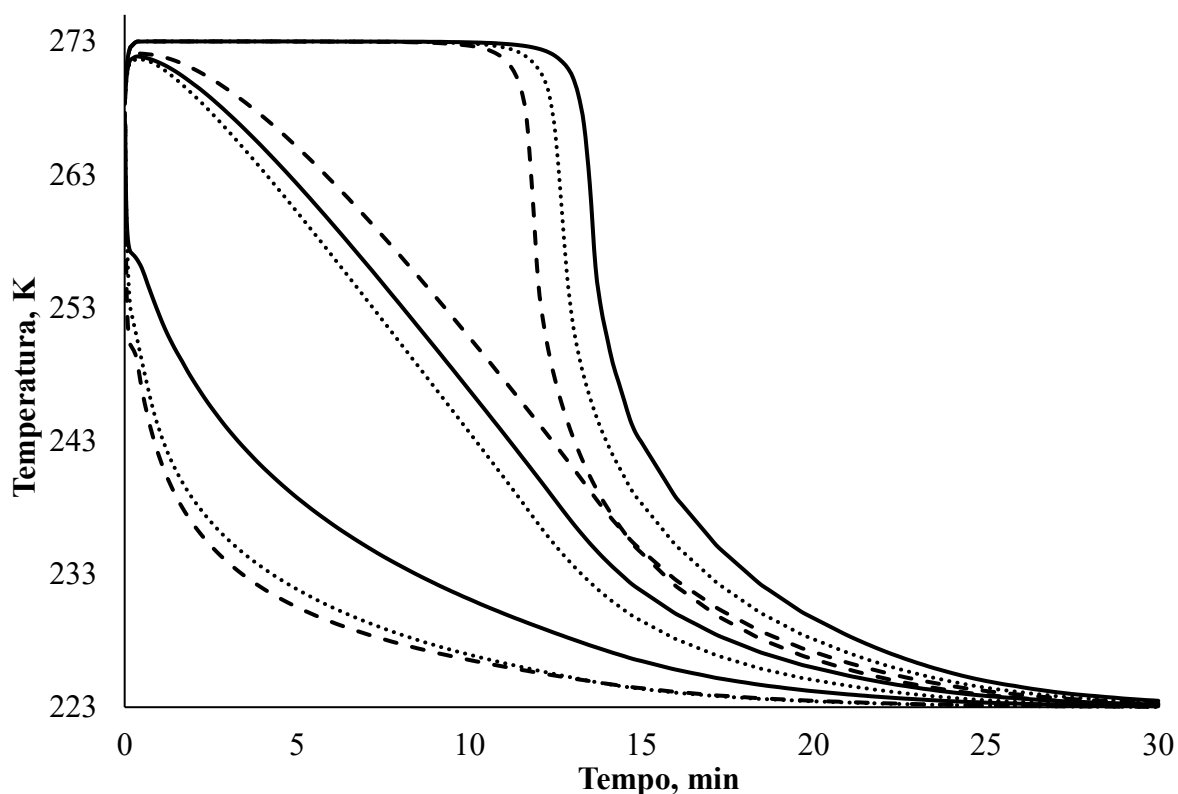


Figura 3.7: Andamento della temperatura massima (in alto), media (al centro) e minima (in basso) dell'acqua nei provini situati in prima (linea tratteggiata), in seconda (linea puntinata) e terza fila (linea continua).

Poiché la temperatura di nucleazione è raggiunta molto rapidamente, l'andamento delle curve è molto simile al caso in cui non si è utilizzata la VISF.

In **Figura 3.9** si osserva come i primi punti a congelare siano situati sulla superficie anteriore del provino, raffreddata maggiormente dall'azoto. Proseguendo con il raffreddamento, il fronte di congelamento si muove allo stesso modo del caso senza VISF.

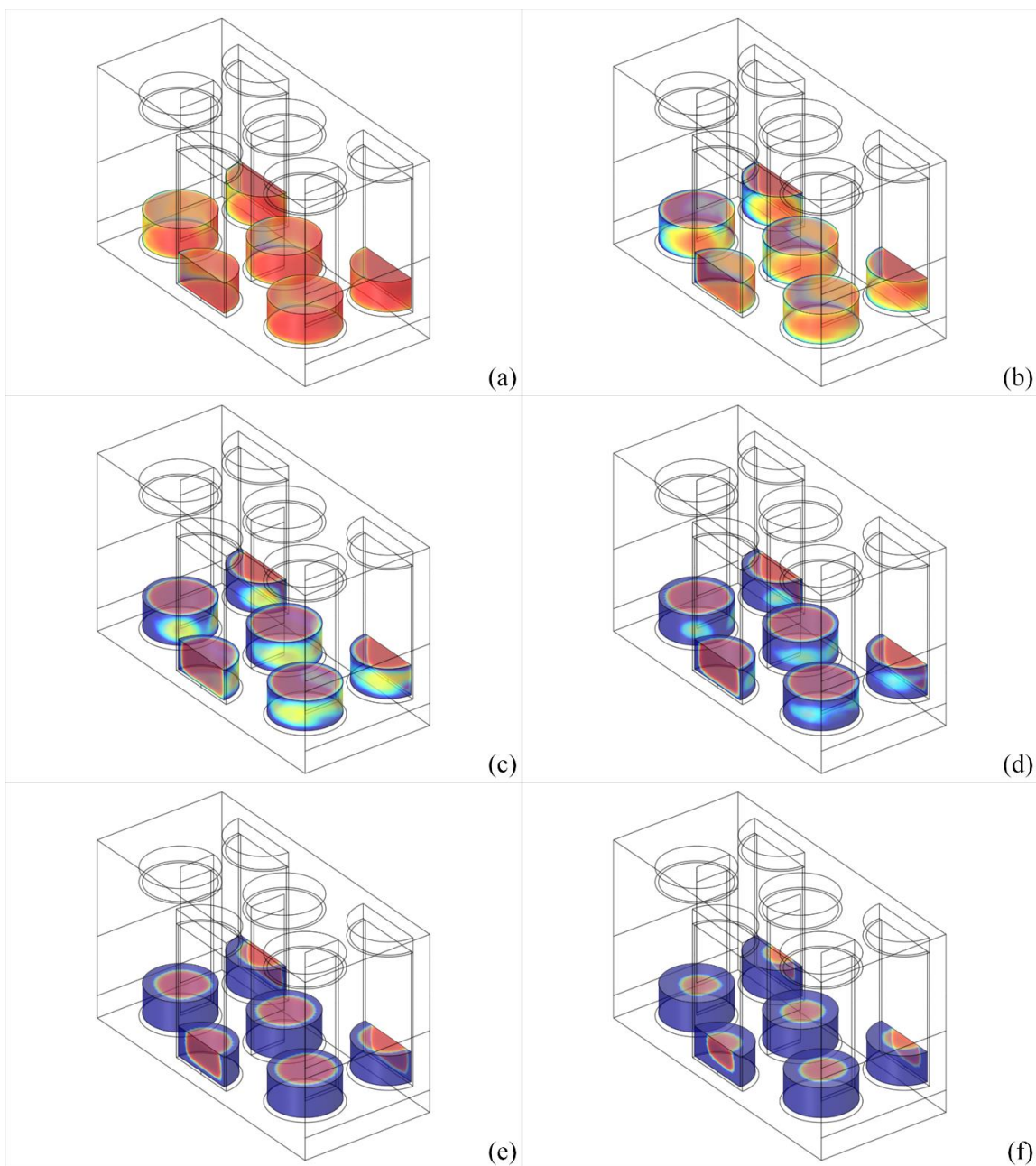


Figura 3.8: Variazione della frazione di ghiaccio tra 0 (in rosso) e 1 (in blu) nei provini dopo 10 s (a), 30 s (b), 60 s (c), 90 s (d), 180 s (e) e 360 s (f).

I tempi di congelamento riportati in **Tabella 3.6** risultano di poco inferiori a quelli calcolati nel caso precedente. Questa diminuzione è dovuta al fatto che in questa opzione l'azoto si alimenta prima rispetto a quella precedente.

Tabella 3.65: Tempi di congelamento dell'acqua nelle tre file.

Fila	Tempi di congelamento, min
1	27
2	29
3	30

3.7 Conclusioni

A seguito degli studi sul condizionamento, si sono sviluppati dei modelli per il congelamento dell'acqua.

Il primo riguarda l'induzione della nucleazione tramite l'utilizzo della VISF, condotta sottovuoto alla pressione di circa 1 mbar. In queste condizioni l'acqua in superficie inizia ad evaporare, asportando calore dal sistema e iniziando a congelare. Questo fenomeno è stato approssimato ad una potenza termica distribuita sulla superficie superiore del volume di acqua.

Il secondo riguarda la fase di congelamento, condotta in una sezione a pressione atmosferica in cui il calore è asportato per mezzo di convezione forzata. Il cambio di fase dell'acqua è stato approssimato ad una potenza termica rilasciata dall'intero volume del liquido.

Nella configurazione proposta i provini hanno un tempo di permanenza di 1 minuto nella camera della VISF, e una volta usciti vengono raffreddati con azoto alla temperatura di -50°C (223 K). In **Figura 3.10** è riportata la variazione di temperatura durante il processo di congelamento, molto simile alle curve sperimentali. I tempi necessari al congelamento dell'acqua nei provini sono riportati in **Tabella 3.7**.

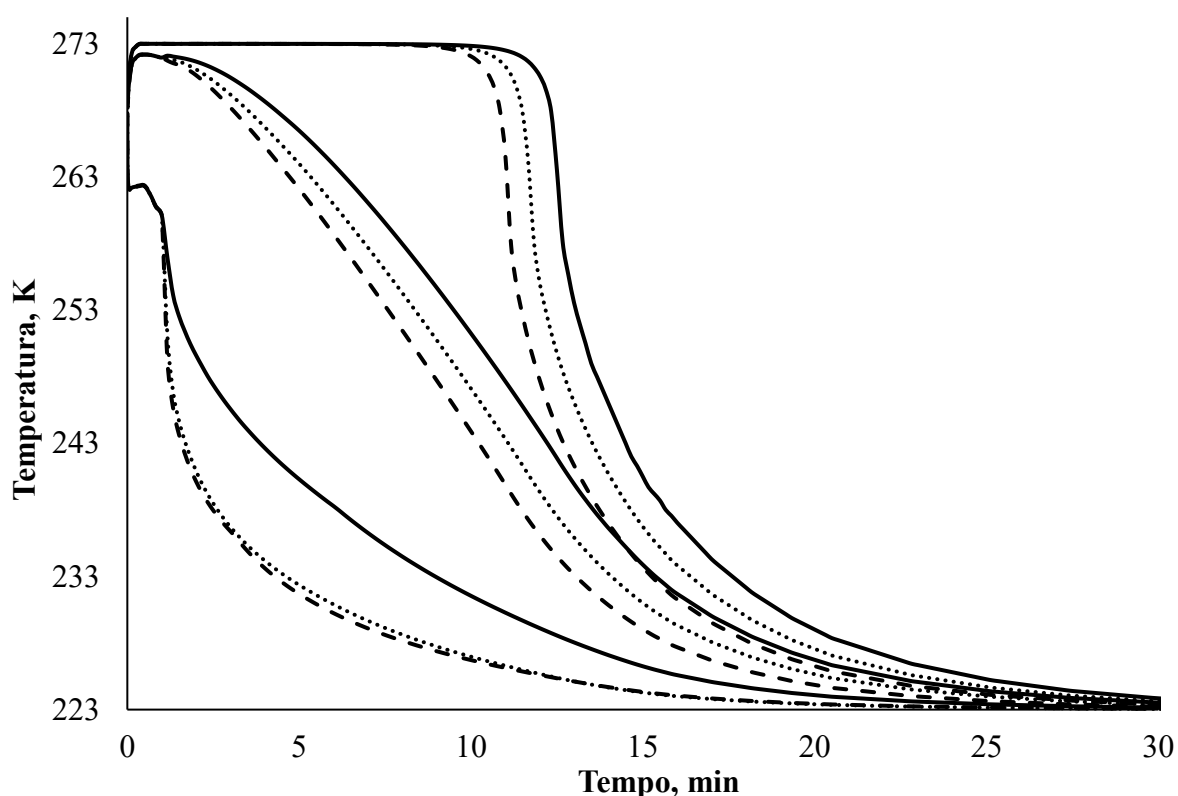


Figura 3.90: Andamento della temperatura massima (in alto), media (al centro) e minima (in basso) dell'acqua nei provini situati in prima (linea tratteggiata), in seconda (linea puntinata) e terza fila (linea continua).

Tabella 3.7: Tempi di congelamento dell'acqua nelle tre file.

Fila	Tempo di congelamento, min
1	29
2	31
3	32

Il processo di congelamento termina in circa 30 minuti in tutte e tre le file, evidenziando l'uniformità delle condizioni di scambio termico.

Capitolo 4

Conclusioni

A valle degli studi effettuati sulla fluidodinamica del sistema, tenendo anche in considerazione la produttività, i consumi di azoto e le eterogeneità tra i provini, si è arrivati a definire la configurazione ottimale del modulo di congelamento di un liofilizzatore in continuo a flaconi sospesi. In **Figura 4.1** è riportata l'unità ripetitiva che costituisce la camera, in **Tabella 4.1** i parametri operativi.

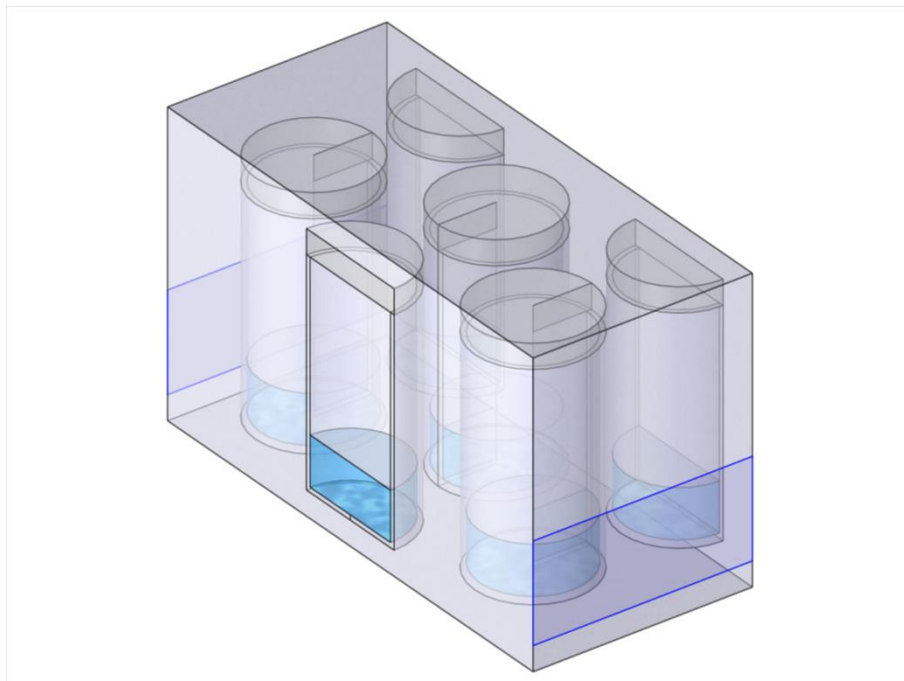


Figura 4.1: Unità ripetitiva della camera di congelamento del liofilizzatore.

Tabella 4.1: Parametri operativi.

Nome	Valore
Lunghezza canale	3 m
Altezza canale	6 cm
Profondità canale	10,4 cm
Altezza sezione alimentazione	2 cm
Distanza tra i provini	6 mm
Distanza tra le file	6 mm
Distanza dei provini dal fondo	5 mm
Distanza dei provini dall'ingresso	1 cm
Distanza dei provini dall'outlet	1 cm
Velocità dell'azoto	1,5 m/s
Temperatura dell'azoto durante il condizionamento	268 K
Temperatura dell'azoto durante il congelamento	223 K

La prima fase è quella di condizionamento, essenziale nei processi che fanno uso della VISF per uniformare la temperatura di nucleazione e quindi la struttura del prodotto liofilizzato. L'acqua viene raffreddata fino a 269 K ($268 \text{ K} \pm 1 \text{ K}$), per poi entrare nella sezione di congelamento. I tempi di condizionamento dei provini, definiti come tempo impiegato dal punto più caldo dell'acqua a raggiungere la temperatura target, e i gradienti termici interni alla soluzione sottoraffreddata alla fine di questa fase sono riportati in **Tabella 4.2**.

Tabella 4.2: Tempi di condizionamento e ΔT .

Fila	Tempo di condizionamento, min	ΔT , K
1	20,6	0,4
2	22,3	0,6
3	23,1	0,6

Il condizionamento ha la durata di circa 23 minuti, e i provini passano alla sezione successiva con dei gradienti di temperatura interni intorno a 0,5 K.

La seconda fase è la nucleazione indotta, particolarmente importante per l'influenza che ha sulla struttura del prodotto finale. Una volta fissata la temperatura di nucleazione, si usano delle tecniche per indurre il congelamento. In questo progetto si è usata la *Vacuum-induced surface freezing (VISF)*, durante la quale si genera il vuoto per un breve intervallo di tempo per innescare la nucleazione dell'acqua in superficie. I cristalli formati fungono da nuclei per la solidificazione del restante volume di acqua. Una volta innescata la nucleazione, i provini passano nella terza sezione, quella in cui avviene il vero e proprio congelamento. Il raffreddamento viene nuovamente effettuato tramite convezione forzata, stavolta con azoto alla temperatura di -50°C . Nella configurazione proposta i provini sono esposti per 1 minuto alle condizioni di vuoto, per poi continuare il raffreddamento a pressione ambiente. Il congelamento si è considerato concluso nel momento in cui la temperatura massima registrata nel volume di acqua raggiunge il target di 223,5 K ($223 \text{ K} \pm 0,5 \text{ K}$). I tempi necessari al completamento della fase di congelamento sono riportati in **Tabella 4.3**.

Tabella 4.3: Tempi di congelamento.

Fila	Tempo di congelamento, min
1	29
2	31
3	32

Anche durante il congelamento si osserva un raffreddamento uniforme dell'acqua nei provini situati nelle tre file, arrivando alla temperatura target in circa 30 minuti.

In **Figura 4.2** sono riportati i profili di temperatura durante l'intero processo di raffreddamento, molto simili a quelli di una curva sperimentale di congelamento. Nel tratto iniziale, quello del condizionamento, si osserva la diminuzione della temperatura dell'acqua fino a -5°C . Successivamente, i provini entrano nel modulo della VISF, in cui i punti in superficie raggiungono molto rapidamente la temperatura di nucleazione, impostata a 263 K. Da questo momento inizia il cambio di fase dell'acqua, con il rilascio del calore latente di solidificazione. Ciò comporta un aumento delle temperature, con quelle massime che si portano alla temperatura di equilibrio, ossia 273 K, e quelle minime che riprendono velocemente a diminuire a causa delle condizioni di scambio termico più favorevoli. Quando la frazione di ghiaccio si avvicina

all'unità, le temperature massime iniziano a calare fino al raggiungimento della temperatura target per il congelamento, ossia 223 K.

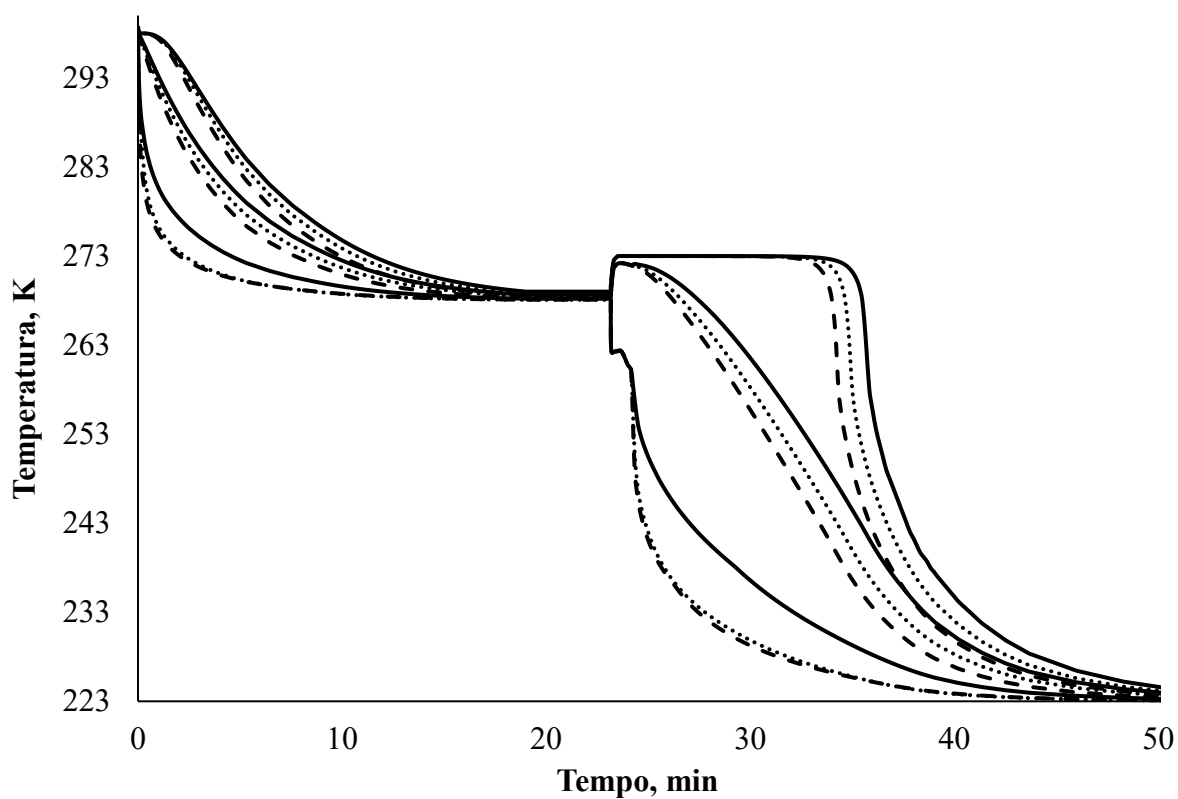


Figura 4.2: Andamento della temperatura massima (in alto), media (al centro) e minima (in basso) dell'acqua nei provini situati in prima (linea tratteggiata), in seconda (linea puntinata) e terza fila (linea continua).

L'intero processo di congelamento ha la durata di circa 55 minuti, e arriva a conclusione con gradienti interni inferiori a 1 K, ritenuti accettabili perché non dovrebbero produrre variazioni significative della morfologia del prodotto congelato.

I modelli sviluppati hanno permesso di valutare l'influenza di diversi parametri sullo scambio termico e la combinazione ottimale tra questi ultimi per migliorare lo scambio termico. Le problematiche caratteristiche della liofilizzazione batch risultano superate.

I risultati ottenuti, da verificare per via sperimentale, sono una buona base di partenza per la costruzione di un liofilizzatore in continuo a flaconi sospesi.

Lista dei simboli

c_p	Calore specifico, J/(kg·K)
h	Altezza della colonna di acqua, m
ΔH_e	Entalpia massica di evaporazione, J/kg
$\mathbf{I}$	Matrice identità, -
$\mathbf{J}_q$	Flusso di calore, J/(m ² ·s)
k	Conducibilità termica, W/(m·K)
l	Quantità di calore latente scambiato, J
M	Massa molare dell'acqua, g/mol
m	Massa, kg
$\mathbf{n}$	Versore normale, -
N_w	Flusso di vapore, kg/(m ² ·s)
p	Pressione, Pa
p^0	Tensione di vapore, Pa
Q	Quantità di calore, J
$\mathbf{q}$	Potenza termica, W
R	Costante dei gas perfetti, J/(mol·K)
r	Raggio del provino, m
T	Temperatura, K
t	Tempo, s
T_c	Temperatura critica, K
$\mathbf{u}$	Velocità dell'azoto, m/s
x_i	Frazione di ghiaccio, -
$\mathbf{v}$	Velocità dei provini, m/s
η	Efficienza di evaporazione, -
ϑ	Potenza termica alla temperatura di nucleazione, W
λ	Calore latente di solidificazione, J/kg
μ	Viscosità dinamica, Pa·s
ρ	Densità, kg/m ³

Bibliografia

- [1] Altmann R., 1894, *die Elementerorganismen und Beziehungen ihre zu den Zellen*, Verlag von Veit and Co., Leipzig, Germany.
- [2] Shackell L.F., 1909, An improved method of desiccation, with some applications to biological problems. *American Journal of Physiology* **24**(325).
- [3] Hammer B.W., 1911, A note on the vacuum desiccation of bacteria. *The Journal of Medical Research* **24**(527).
- [4] Jennings T.A., 1999, *Lyophilization: Introduction and basic principles*, Interpharm Press, Boca Raton, USA.
- [5] Fissore D., Pisano R., Barresi A.A., 2019, *Freeze Drying of Pharmaceutical Products*, CRC Press, Boca Raton, USA. Chapter 1.
- [6] Searles J.A., Carpenter J.F., Randolph T.W., 2001, The ice nucleation temperature determines the primary drying rate of lyophilization for samples frozen on a temperature-controlled shelf. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **90**(7), 860-871.
- [7] Oddone I., Van Bockstal P.J., De Beer T., Pisano R., 2016, Impact of vacuum-induced surface freezing on inter- and intra-vial heterogeneity. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **103**, 167-178.
- [8] Peters B.H., Staels L., Rantanen J., Molnár F., De Beer T., Lehto V.P., Ketolainen J., 2016, Effects of cooling rate in microscale and pilot scale freeze-drying - Variations in excipient polymorphs and protein secondary structure, *European Journal of Pharmaceutical Science* **95**, 72-81.
- [9] Patel S.M., Bhugra C., Pkial M.J., 2009, Reduced pressure ice fog technique for controlled ice nucleation during freeze-drying. *AAPS PharmSciTech*, **10**, 1406-1411.
- [10] Morris J., Morris G. J., Taylor R., et al. 2004, The effect of controlled nucleation on ice structure, drying rate and protein recovery in vials in a modified freeze dryer. *Cryobiology*, **49**, 308-309.
- [11] Nakagawa K., Vessot S., Hottot A., Andrieu J., 2006, Influence of controlled nucleation by ultrasounds one ice morphology of frozen formulations for pharmaceutical proteins freeze-drying. *Chemical Engineering and Processing*, **45**(9), 783-791.
- [12] Konstantinidis A. K., Kuu W., Otten L., et al., 2011, Controlled nucleation in freeze-drying: Effects on pore size in the dried product layer, mass transfer resistance, and primary drying rate. *Journal of Pharmaceutical Science*, **100**(8), 3453-3470
- [13] Kramer M., Sennhenn B., Lee G., 2002, Freeze-drying using vacuum-induced surface freezing. *Journal of Pharmaceutical Science*, **91**, 433-443.
- [14] Liu J., Viverette T., Virgin M., et al., 2005, A study of the impact of freezing on the lyophilization of a concentrated formulation with a high fill depth. *Pharmaceutical Development and Technology*, **10**, 261-272.

- [15] Oddone I., Pisano R., Bullich R., Stewart P., 2014, Vacuum-induced nucleation as a method for freeze-drying cycle optimization. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **53**, 18236-18244.
- [16] Pikal M. J., Bogner R., Mudhivarthi V., Sharma P., Sane P., 2016, Freeze-drying process development and scale-up: scale-up of edge vial versus center vial heat transfer coefficients, K.v. *Journal of Pharmaceutical Science*, **105**, 3333-3343.
- [17] Pisano R., Barresi A. A., Fissore D., 2011, Heat transfer in freeze-drying apparatus. *Intech: Rijeka*, 91-114.
- [18] Cheng H.P., Tsai S.M., Cheng C.C., 2014, Analysis of heat transfer mechanism for shelf vacuum freeze-drying equipment. *Advances in Materials Science and Engineering*, **1**.
- [19] Oetjen G.-W., Industrial freeze-drying for pharmaceutical application, in Rey L., May J.C., 1999, *Freeze Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Product*, second edition, Informa Healthcare, New York, USA.
- [20] Kharaghani A., Tsotsas E., Wolf C., Beutler T., Guttzeit M., Oetjen G.-W, 2000, Freeze-Drying, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 1-47. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- [21] Pisano R., Arsiccio A., Capozzi L.C., Trout B.L., 2019, Achieving continuous manufacturing in lyophilization: Technologies and approaches. *European Journal of Pharmaceutical Science*, **142**, 265-279.
- [22] Badman C., Trout B.L., 2014, Achieving continuous manufacturing. *2014 Continuous Manufacturing Symposium*, 20-21 May 2014. *Journal of Pharmaceutical Science* **104**(3), 779-780.
- [23] Kleinebudde P., Khinast J., Rantanen J., 2017, *Continuous Manufacturing of Pharmaceuticals*, Wiley & sons, Hoboken, USA.
- [24] Fissore D., Pisano R., Barresi A.A., 2019, *Freeze Drying of Pharmaceutical Products*. CRC Press, Boca Raton, USA. Chapter 6.
- [25] Allison G., Cain Y. T., Cooney C., Garcia T., Bizjak T.G., Holte O., Jagota N., Komar B., Korakianiti E., Kourti D., 2014, Regulatory and quality considerations for continuous manufacturing. *Continuous Manufacturing Symposium*, 20-21 May 2014. *Journal of Pharmaceutical Science* **104**(3), 803-812.
- [26] Woodcock J., 2014, Modernizing pharmaceutical manufacturing-Continuous Manufacturing as a key enabler. *International Symposium on Continuous Manufacturing of Pharmaceuticals*, 20-21 May 2014, MIT, Cambridge, MA, USA.
- [27] FDA, 2015, Advancement of Emerging Technology Applications to Modernize the Pharmaceutical Manufacturing Base Guidance for Industry. Draft guidance.
- [28] Lee S., 2017, Present and future for continuous manufacturing: FDA perspective. *3rd FDA/PQRI Conference on Advancing Product Quality*, 22-24 March 2017, Rockville, MD, USA.

- [29] Subcommittee for Advanced Manufacturing of the National Science and Technology Council, 2016, Advanced Manufacturing: A Snapshot of Priority Technology Areas Across the Federal Government. Report.
- [30] Hernán D., 2017, Continuous manufacturing: challenges and opportunities. EMA perspective. *3rd FDA/PQRI Conference on Advancing Product Quality*, 22-24 March 2017, Rockville, MD, USA.
- [31] Matsuda Y., 2016, Continuous Manufacturing: PMDA Perspective. *International Symposium on Continuous Manufacturing of Pharmaceuticals*, 26-27 September 2016, MIT, Cambridge, MA, USA.
- [32] Harrington T.S., Alinaghian L., Srai J. S., 2014, Making the business case for continuous manufacturing in the pharmaceutical industry. *25th Annual Production and Operations Management Society Conference*, 9-12 May 2014, Atlanta, GA.
- [33] Sluder J.C., Olsen R.W., Kenyon E.M., 1947, A method for the production of dry powdered orange juice. *Food Technology*, **1**, 85-94.
- [34] Goldblith S. A., Rey L., Rothmayr W.W., 1975. *Freeze-drying and advanced food technology*. Academic Press, New York, USA.
- [35] Bruttini R., 1992, *Continuous freeze-drying apparatus*. U.S. Patent 5269077 A
- [36] Oetjen G. W., Schmitz F. J., Eilenberg H., 1969. *Continuous freeze dryer*, U.S. Patent 3612411 A
- [37] Rey L., 2010, Glimpses into the realm of freeze-drying: Classical issues and new ventures, in Rey L., May J.C., 2010 *Freeze Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Product*, third edition, CRC Press, New York, USA.
- [38] Van der Wel P.-G.-J., 2015, Active freeze-drying. *5th European Drying Conference*, 21-23 October 2015, Budapest, Hungary.
- [39] Bullich R., 2015, Telstar industry session: Continuous freeze drying. *Pharmaprocess forum*, 28 October 2015, Barcelona.
- [40] De Meyer L., Van Bockstal P.-J., Corver J., Vervaet C., Remon J., De Beer T., Evaluation of spin freezing versus conventional freezing as part of a continuous pharmaceutical freeze-drying concept for unit doses. *International Journal of Pharmaceutics*, **496**(1), 75-85.
- [41] Corver J.A.W.M., 2012, Method and system for freeze-drying injectable compositions, in particular pharmaceutical compositions. U.S. Patent 2014/0215845.
- [42] Capozzi L.C., Trout B.L., Pisano R., 2019, From Batch to Continuous: Freeze-Drying on Suspended Vials for Pharmaceuticals in Unit-Doses. *Industrial and engineering Chemistry Research*, **58**, 1635-1649.
- [43] SCHOTT glass made of ideas, SCHOTT Vials (Ultimo accesso: 22 novembre 2020), https://www.us.schott.com/d/pharmaceutical_packaging/dbea150d-eba0-4315-9ef1-9b7bc8a25b3c/1.4/schott-brochure-schott-vials-english-us-20092017.pdf.

- [44] CourseHero, Butyl, Chlorobutyl & Bromobutyl Rubber (Ultimo accesso: 22 novembre 2020),
<https://www.coursehero.com/file/18781341/Butyl-Chlorobutyl-Bromobutyl-Rubber/>
- [45] Akyurt M., Zaki G., Habeebullah B., 2001, Freezing phenomena in ice-water systems. *Energy Conversion and Management*, **43**, 1773-1789.
- [46] Mossop S.C., 1955, The freezing of supercooled water. *Proceedings of the Physical Society*, B, **68**(193).
- [47] Fennema O., Powrie W., Marth E., 1973, *Low temperature preservation of foods and living matter*. M. Dekker, New York, USA.
- [48] Luyet B., Rapatz G., 1958, Patterns of ice formation in some aqueous solutions. *Biodynamica*, **8**(156), 1-68.
- [49] Rapatz G., Luyet B., 1966, Patterns of ice formation in aqueous solutions of glycerol. *Biodynamica*, **10**(204), 69-80.
- [50] Marek R., Straub J., 2000, Analysis of the evaporation coefficient and the condensation coefficient of water. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, **44**, 39-53.
- [51] Green D.W., Southard M.Z., 2019, *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 9th edition. McGraw-Hill Education, New York, USA. Section 2, page 46.
- [52] Green D.W., Southard M.Z., 2019, *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 9th edition. McGraw-Hill Education, New York, USA. Section 2, page 127.
- [53] Lide D.R., 2001, *Handbook of Chemistry and Physics*, 82th edition. CRC Press, Boca Raton, USA.

Ringraziamenti

A conclusione di questa tesi trovo doveroso ringraziare alcune delle persone che mi hanno accompagnato e/o guidato nello svolgimento di questa e del mio percorso universitario.

Prima di tutti, ci tengo a ringraziare il professor Roberto Pisano per avermi concesso di lavorare a questo progetto innovativo ed allettante, e per la sua disponibilità nonostante le forti problematiche comunicative attuali. Ringrazio, inoltre, l'ingegner Lorenzo Stratta, per essere stato una guida durante la realizzazione di questa tesi e per avermi aiutato in ogni difficoltà.

Grazie ai miei genitori, che mi hanno permesso di intraprendere questo cammino supportandomi e assecondandomi in ogni scelta. A mio fratello, che pur soffrendo la distanza mi ha sempre fatto sentire il suo appoggio. Grazie a mia sorella, quasi gemella, sempre presente e pronta a risollevarmi nei periodi bui.

Grazie ai nonni, che in ogni momento, con semplicità e vigore, hanno sostenuto i miei passi.

Grazie alle zie, che spesso e volentieri si prestano al ruolo di secondi genitori.

Un ringraziamento particolare a Giovanni, familiare acquisito e punto di riferimento accademico, che con la sua voglia di sapere, e di far sapere, mi ha aiutato a sviluppare la mentalità scientifica.

Grazie agli amici, che hanno condiviso con me tristezza e gioia.

Infine, un ringraziamento che è più simile ad una dedica. A Irene, compagna di vita, dall'adolescenza all'età adulta, senza la quale non avrei mai ambito ad un traguardo tanto grande. Gran parte di quello che sono oggi è merito suo.