

# 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

**Studio del processo di liofilizzazione in un  
micro-liofilizzatore**



**Relatore**

prof. Davide Fissore

**Candidato**

Stefania Conti Dragà

Marzo 2019





## Indice

<b>1. Introduzione</b> .....	1
1.1 Congelamento e Nucleazione spontanea e controllata.....	2
1.2 Essiccamento primario e secondario.....	6
1.3 PAT (Tecnologie analitiche di processo).....	8
1.4 Parametri $K_v$ e $R_p$ .....	10
1.5 Mini-FD e Micro-FD.....	11
1.6 Obiettivi della Tesi.....	14
<b>2. Metodologie e prove sperimentali</b> .....	15
2.1 Micro-FD.....	15
2.2 Prove condotte con il Mannitolo.....	30
2.3 Modello matematico monodimensionale.....	31
2.3.1 Coefficiente termico $K_v$ del Micro-FD.....	32
2.3.2 Coefficiente di resistenza al flusso del vapore $R_p$ .....	34
2.4 Descrizione prove sperimentali.....	35
<b>3. Risultati e discussione</b> .....	41
3.1 Effetto della temperatura dell'anello <i>Lyosim</i> .....	41
3.1.2 Effetto della pressione $P_c$ .....	48
3.1.3 Effetto della temperatura $T_{shelf}$ .....	49
3.1.4 Effetto della nucleazione controllata.....	52
3.2 Effetto del soluto: prove con Mannitolo.....	56
3.3 Analisi dei dati.....	60
3.4 Valutazione del flusso di calore proveniente dallo <i>shelf</i> .....	66
3.5 Parametri caratteristici di processo: $K_v$ e $R_p$ .....	67
<b>4. Conclusioni</b> .....	73
<b>Bibliografia</b> .....	77
<b>Notazioni</b> .....	79





## 1. Introduzione

La *liofilizzazione* è sinonimo di *crioessiccamento* poiché da un campione precedentemente congelato è possibile rimuovere acqua, tramite sublimazione, permettendo di aumentarne la conservabilità nel tempo, evitandone il deterioramento della struttura e dei componenti. Il termine liofilizzazione deriva da “*liofilo*”, cioè “affine al solvente”, ed indica la forte tendenza dei prodotti liofilizzati alla reidratazione, in seguito alla quale riacquistano le proprietà (ad esempio farmacologiche o nutritive) possedute prima del trattamento. Agli inizi del Novecento questa tecnica veniva utilizzata solamente per la conservazione dei microrganismi, ed oggi trova ampio spazio nel settore farmaceutico ed alimentare e per trattare sostanze termolabili grazie alle basse temperature coinvolte nel processo, che ne evitano la degradazione. Inoltre, i prodotti liofilizzati, essendo più leggeri del prodotto di partenza, sono più facili da trasportare e immagazzinare negli scaffali (Nireesha, 2013).

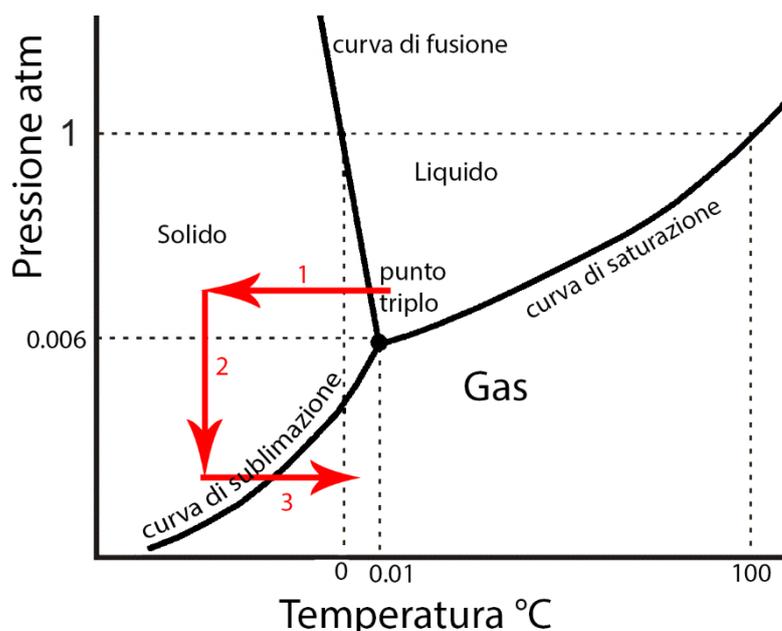
Considerando, ad esempio, il caso della liofilizzazione di prodotti farmaceutici, il processo si compone di tre fasi, nelle quali i protagonisti sono la soluzione acquosa e il prodotto (o il principio attivo) di interesse disciolto nella soluzione.

La prima fase è il **congelamento** a temperature inferiori rispetto al punto di solidificazione (in genere tra  $-30^{\circ}\text{C}$  e  $-50^{\circ}\text{C}$ ), che comporta il passaggio di fase dell'acqua da liquida allo stato solido. Tuttavia, non tutta l'acqua subisce questa trasformazione di fase; in particolare, l'acqua legata alle molecole del prodotto rimane in fase liquida (Fissore et al., 2018).

La seconda fase è l'**essiccamento primario** durante il quale avviene la sublimazione del ghiaccio e, quindi, la rimozione dell'acqua. Questo passaggio avviene a temperature più elevate del congelamento e, essendo endotermico, fornendo continuamente calore; la pressione invece è più bassa. In tali condizioni il passaggio dallo stato solido a quello vapore avviene in maniera diretta e, a seguito di ciò, si forma, nel prodotto, una struttura solida porosa comunemente chiamata “*cake*” o “torta”.

La terza e ultima fase è l'**essiccamento secondario**, per eliminare quella frazione di acqua adsorbita, cioè rimasta chimicamente legata al prodotto, e non congelata, grazie ad un ulteriore aumento della temperatura.

Il processo può essere spiegato analizzando il diagramma di stato dell'acqua, illustrato in Fig. 1:



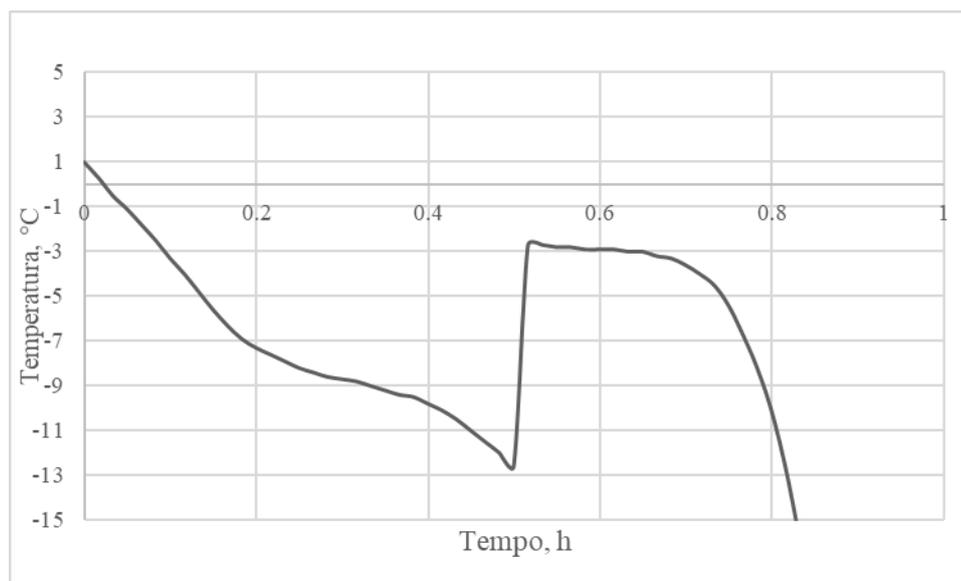
**Fig.1** Diagramma di stato dell'acqua con evidenziate le tre fasi della liofilizzazione.

Nel diagramma sono evidenziate i tre *step* della liofilizzazione: la freccia (1) indica il congelamento dell'acqua, che avviene a temperatura e pressione maggiori di quelle del punto triplo; la freccia (2) indica l'abbassamento della pressione all'inizio dell'essiccamento primario; infine la freccia (3) indica l'innalzamento di temperatura dell'essiccamento primario durante il quale l'acqua passa direttamente dallo stato solido allo stato vapore per sublimazione.

### 1.1 Congelamento e Nucleazione spontanea e controllata

Durante il congelamento avviene la nucleazione, un processo nel quale si formano aggregati di molecole, detti *nuclei*, dai quali parte l'accrescimento dei cristalli; maggiore è il numero di molecole presenti in soluzione, maggiore sarà la possibilità di formare i

cristalli (Auffret, 2010). Tuttavia, la soluzione non può congelare istantaneamente; ne consegue un incremento di temperatura interno fino al punto di congelamento (circa 0°C). Il contro-effetto di questo innalzamento di temperatura è il rallentamento della crescita dei cristalli stessi. Terminata la nucleazione, la temperatura torna a diminuire per garantire il completo congelamento della soluzione; in Fig.2 è mostrato l'andamento della temperatura in un flacone contenente la soluzione acquosa che viene fatta congelare.



**Fig.2** Profilo di temperatura in un flacone durante nucleazione spontanea.

La fase di congelamento influenza enormemente le fasi successive di essiccamento: le caratteristiche del prodotto liofilizzato dipendono infatti dalla dimensione dei cristalli di ghiaccio e, pertanto, la comprensione ed il controllo di tale fenomeno è un passo importante per assicurare la qualità del prodotto finale e l'efficienza del processo (Malik, 2017). È, difatti, dimostrato che più il sotto-raffreddamento è spinto (risultando quindi in temperature di nucleazione più basse) tanto più i cristalli formati saranno piccoli, e da ciò ne consegue una maggiore resistenza al passaggio del vapore durante la sublimazione e un aumento della durata dell'essiccamento primario (Patapoff & Overcashier, 2002). Infatti, i pori del prodotto essiccato corrispondono allo spazio lasciato vacante dai cristalli di ghiaccio una volta che sono sublimati. Per quanto concerne l'essiccamento secondario, la durata di tale fase diminuisce col diminuire della dimensione dei cristalli di ghiaccio poiché la maggior superficie specifica della torta favorisce il desorbimento dell'acqua legata (Fissore, 2013).

La nucleazione dei cristalli di ghiaccio nei diversi flaconi non avviene però alle stesse temperature (generalmente tra  $-10^{\circ}\text{C}$  e  $-20^{\circ}\text{C}$ ) e negli stessi tempi (può esserci anche un'ora di distanza tra quanto accade in due differenti flaconi), dando luogo ad una disomogeneità nelle dimensioni dei cristalli di ghiaccio ottenuti nei vari flaconi. Si otterranno quindi, in conseguenza di ciò, tempi diversi di essiccamento nei differenti flaconi, diverse aree specifiche e diverse storie termiche, che daranno differenti proprietà al prodotto finale (Siew, 2013). Generalmente, temperature di raffreddamento più elevate favoriscono maggiormente la crescita dei cristalli di ghiaccio rispetto alla nucleazione: ciò comporta un numero ridotto di cristalli, ma con grandi dimensioni; temperature più basse, invece, favoriscono la nucleazione e, quindi, un maggior numero di cristalli di ghiaccio, ma di dimensioni inferiori (Auffret, 2010).

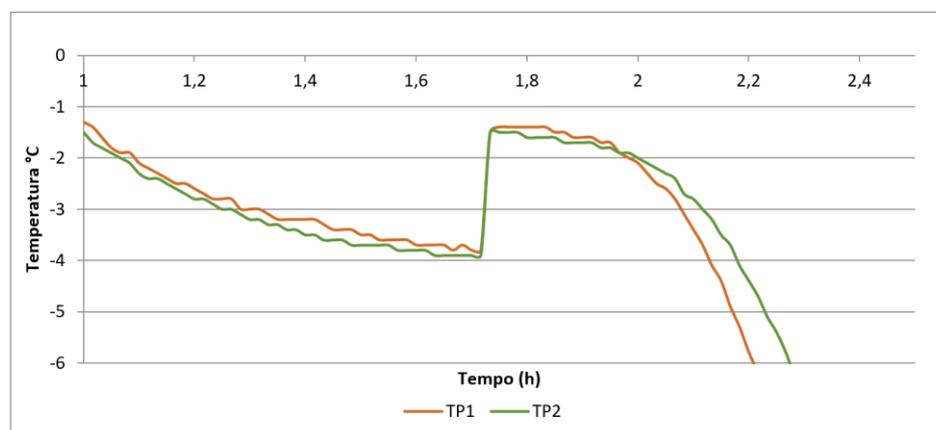
Per risolvere questi problemi di disomogeneità, sono state sviluppate nel tempo delle tecniche di **nucleazione controllata** con l'obiettivo di creare cristalli di caratteristiche uniformi nei vari flaconi. Generalmente queste tecniche prevedono un sotto-raffreddamento ad una temperatura inferiore del punto di congelamento, ma al di sopra della temperatura di nucleazione spontanea, cioè tra  $-5^{\circ}\text{C}$  e  $-10^{\circ}\text{C}$  (Siew, 2013). Alcune tecniche in uso sono riportate di seguito:

1. *Ice-fog*, tecnica principalmente impiegata in laboratorio, si basa sulla creazione di microscopici cristalli di ghiaccio distribuiti come una nebbia di particelle all'interno della camera di liofilizzazione, e che agiscono come centri di nucleazione. La temperatura di lavoro è quella a cui si vuole far avvenire la nucleazione, mentre la pressione è intorno ai 50 Torr (Thomas, 2011). Da questa tecnica sono nate alcune tecnologie, come quella del *FreezeBooster*, nella quale all'*ice-fog* viene accoppiato un controllo del flusso termico al prodotto post-nucleazione. Con questa tecnologia si ottiene un prodotto liofilizzato molto più uniforme e una riduzione del tempo di essiccamento (Thompson T. N., 2013);
2. *VERISEQ*<sup>®</sup>, tecnica sviluppata da Linde Gases in collaborazione con IMA Life North America, nella quale i microscopici cristalli di ghiaccio vengono generati dalla miscelazione di azoto freddo (proveniente da un flusso d'azoto sterile e filtrato, a partire da gas liquefatto) e vapore caldo. Questi cristalli vengono, in seguito, inviati all'interno dei flaconi, causando una nucleazione rapida ed uniforme del prodotto (Wexler & Brower, 2015);

3. Pressurizzazione, corrispondente alla tecnologia *ControLyo*<sup>®</sup> (di Praxair). La nucleazione controllata avviene dopo che il prodotto è stato portato a temperature comprese fra -5°C e -10°C e a pressioni maggiori di quella atmosferica. Si formeranno velocemente i cristalli di ghiaccio sulla superficie della soluzione in seguito al rapido ripristino della pressione atmosferica (Thomas, 2011). Questo metodo, molto veloce, consente un risparmio energetico rispetto all'*ice-fog* grazie alla camera più calda (Siew, 2013).
4. Vibrazioni ultrasoniche, con frequenze superiori ai 10kHz, causano la formazione di piccole bolle di gas che, accrescendosi, collassano, dando luogo ad innalzamenti localizzati di temperatura e pressione che causano la nucleazione nei flaconi.

Con le tecniche di “nebbia di ghiaccio”, a differenza della nucleazione spontanea nella quale la generazione dei cristalli parte dal basso del flacone e si propaga verso l’alto con progressivo rallentamento della velocità con la quale il ghiaccio si forma, la propagazione parte dall’alto e prosegue verso il basso del flacone, evitando che si formino cristalli più piccoli in testa e più grandi al fondo, come accade con la nucleazione spontanea (Thomas, 2011).

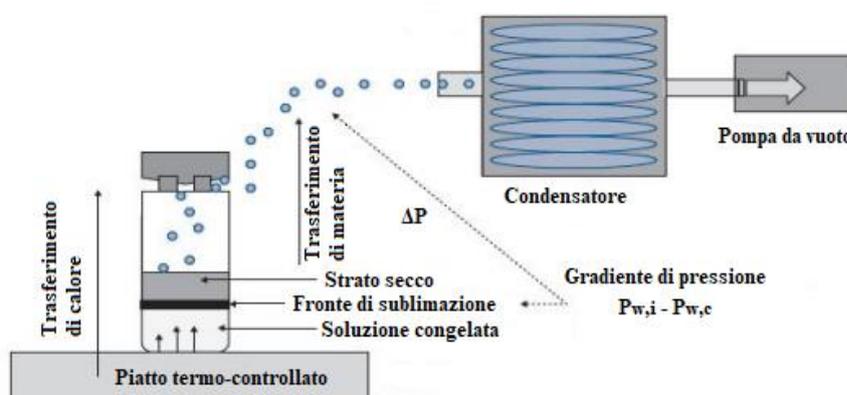
In Fig.3 è mostrato l’andamento delle temperature in due flaconi durante una prova di laboratorio in presenza di nucleazione controllata con il metodo dell'*ice-fog*. È possibile notare come la nucleazione, evidenziata dal subitaneo aumento della temperatura, avvenga contemporaneamente e allo stesso valore di temperatura nei due flaconi monitorati dalle termocoppie.



**Fig.3** Nucleazione spontanea in due flaconi monitorati da termocoppie durante una prova di laboratorio.

## 1.2 Essiccamento primario e secondario

Subito dopo il congelamento, avviene la fase di essiccamento primario o *primary drying*, durante la quale, come detto, avviene la sublimazione del ghiaccio e, quindi, l'eliminazione della quasi totalità dell'acqua, ovvero la totalità dell'acqua congelata nella prima fase del processo. Durante questa fase la temperatura viene innalzata e la pressione abbassata rispetto ai valori utilizzati nella fase di congelamento. Le condizioni di temperatura e pressione devono essere tali da mantenersi al di sotto del punto triplo (come mostrato nella Fig.1). Generalmente, la temperatura viene innalzata fino a valori compresi tra  $-40^{\circ}\text{C}$  e  $-10^{\circ}\text{C}$  e mantenuta costante durante tutta la fase. Alla fine del *primary drying* avviene il *secondary drying* per eliminare l'acqua rimasta legata al prodotto; questa fase è svolta a temperature più elevate, comprese tra  $20-40^{\circ}\text{C}$ , in modo da ottenere la percentuale di umidità residua desiderata nel prodotto finale (Pisano et al., 2011).



**Fig.4** Rappresentazione dello scambio di materia e calore per un processo di liofilizzazione (immagine tratta da Khairnar & al., 2013, modificata).

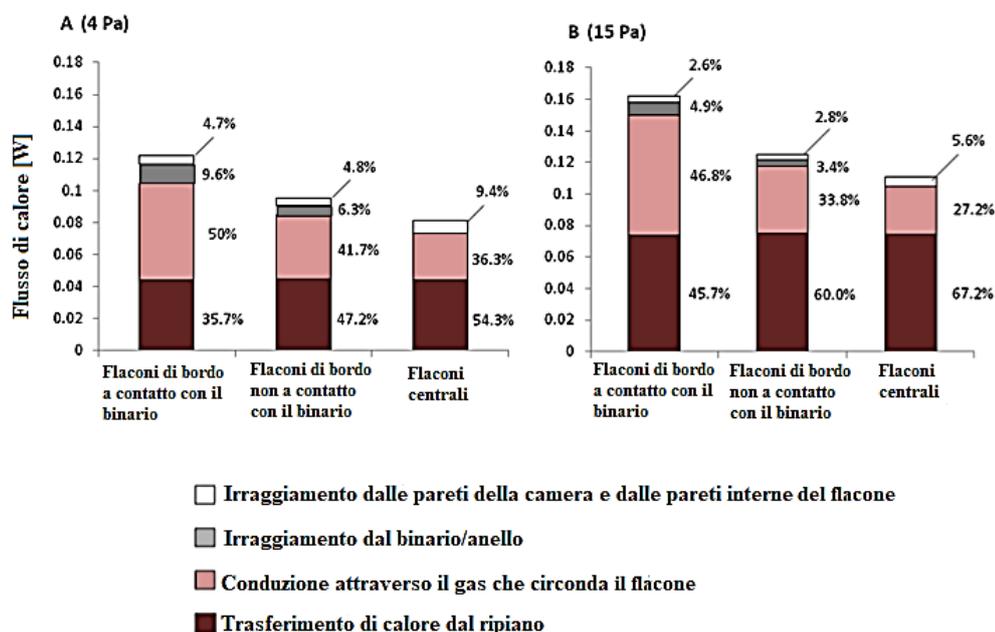
Di seguito si analizzano le principali problematiche relative all'essiccamento primario.

- Innanzitutto, le condizioni ottimali del processo dipendono fortemente dalla soluzione da liofilizzare, sia per la tipologia di soluto che per la sua concentrazione. Infatti, è bene tenere a mente che la temperatura deve essere mantenuta al di sotto di un certo valore limite, in base al tipo di soluto che si sta utilizzando: se cristallizza (mannitolo), al di sotto della temperatura eutettica, per evitare la comparsa del liquido, se è amorfo (saccarosio), al di sotto della temperatura di transizione

vetrosa, per evitare il collasso del *cake* e, quindi, un peggioramento delle condizioni di sublimazione, con la conseguenza di un maggior contenuto di acqua residua nel prodotto finale (Fissore, 2013).

- In secondo luogo, come detto, l'essiccamento è influenzato enormemente dalle condizioni del precedente congelamento: una velocità di congelamento dell'ordine di 1°C/min risulta essere un buon compromesso per ottenere un'area superficiale elevata e un congelamento ragionevolmente rapido, oltre che una struttura del ghiaccio uniforme all'interno dei flaconi (Tang & Pikal, 2004).
- Un altro fattore da considerare è la velocità di produzione del vapore. Tale velocità deve essere compatibile con la capacità del condensatore che, se non sarà in grado di smaltire il vapore, causerà un accumulo di vapore dentro la camera con conseguente aumento della pressione (Fissore et al., 2018).
- Durante l'essiccamento primario avviene un altro fenomeno che causa disomogeneità all'interno dei flaconi: questo fenomeno è chiamato “**effetto di bordo**” o “*edge vial effect*”. Questo effetto si traduce in una maggiore temperatura del prodotto, fino a 4-5°C in più nei flaconi esterni rispetto a quelli posizionati nel centro. Nonostante il flusso di calore proveniente dal ripiano sia identico per tutti i flaconi, i flaconi posizionati esternamente ricevono ulteriori contributi termici che innalzano la temperatura. Uno di questi contributi è la conduzione attraverso il gas che circonda i flaconi: questo risulta essere un contributo più importante nei flaconi esterni che in quelli interni. Il flusso termico proveniente dal ripiano costituisce invece un contributo maggiore per i flaconi che si trovano all'interno. Contrariamente a quello che si immagina, l'irraggiamento, sia quello dalle pareti della camera o dei flaconi, sia quello dall'anello generalmente inserito per contenere il lotto dei flaconi, risulta dare un minor contributo al flusso termico totale. Si ha comunque il maggior effetto dell'anello sui flaconi con cui esso è in contatto diretto, ovvero quelli di bordo (Scutellà, et al., 2017). È chiaro che questo *effetto di bordo* potrebbe causare collasso del prodotto, disomogeneità nel flusso sublimativo e differenti valori di flusso termico al prodotto a seconda della posizione dei flaconi.

In Fig. 5 sono riportati i vari contributi al flusso di calore in funzione della posizione dei flaconi nel ripiano, ricavati attraverso un modello matematico tridimensionale in condizioni stazionarie (Scutellà et al., 2017).



**Fig.5** Contributi del flusso di calore e loro percentuale relativa rispetto al meccanismo di scambio termico totale per diverse posizioni dei flaconi sul ripiano, per due diverse pressioni in camera e temperatura del ripiano pari a 0 °C (immagine tratta da Scutellà et al., 2017, modificata).

- Infine, un'ultima considerazione va fatta sull'essiccamento secondario: anche durante questa fase bisogna prestare attenzione alle condizioni operative perché, ad esempio, se venisse anticipato l'innalzamento di temperatura al valore proprio dell'essiccamento secondario quando sono ancora presenti dei cristalli di ghiaccio nel prodotto, si potrebbe causare il collasso del *cake* (Fissore, 2013).

### 1.3 PAT (Tecnologie analitiche di processo)

Nel 2004 la *US Food and Drug Administration* decise di supportare l'introduzione nelle industrie di processo di strumenti di controllo, monitoraggio ed analisi dei sistemi di produzione che vanno sotto il nome di PAT, con lo scopo di assicurare la qualità dei prodotti al termine del processo produttivo. Nell'ambito del processo di liofilizzazione, molti di questi vengono esaustivamente descritti nella letteratura, con particolare attenzione a quelli che tengono conto della misura della temperatura del prodotto o della pressione in camera o del flusso di sublimazione (Fissore, 2017).

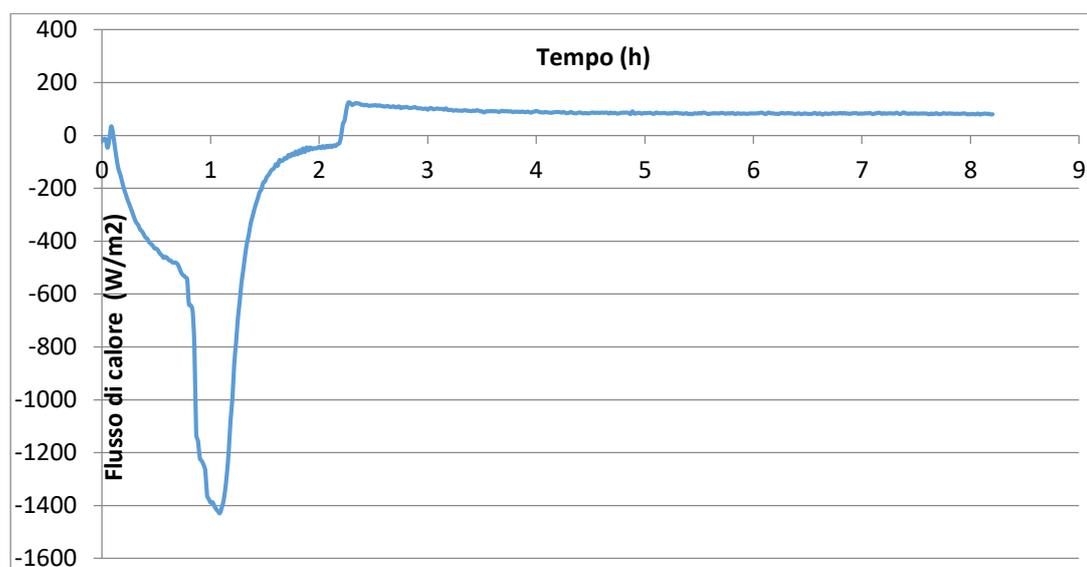
Per il singolo flacone è possibile monitorare la temperatura attraverso l'utilizzo di termocoppie: queste vengono disposte all'interno dei flaconi contenenti la soluzione da liofilizzare, in posizione centrate ed in modo tale da rilevare la temperatura sul fondo del flacone, con la possibilità di monitorare uno o più flaconi all'interno della camera. Tuttavia, l'utilizzo delle termocoppie può influenzare il processo; esse, infatti, possono velocizzare la sublimazione e, di conseguenza, l'essiccamento all'interno dei flaconi in cui sono poste creando disomogeneità nel lotto; inoltre, possono influenzare la nucleazione nel liquido e, quindi, la dimensione dei cristalli, e compromettere la sterilità del prodotto (Fissore, 2017). La maggior velocità di sublimazione nei flaconi con termocoppia è evidenziata dall'aumento di temperatura al valore della superficie riscaldante che, in questi flaconi, si realizza ben prima di quanto ci si aspetterebbe e di quanto accade negli altri flaconi del lotto. Questo si manifesta solo quando tutto il ghiaccio è sublimato e, quindi, il calore fornito è destinato unicamente all'aumento di temperatura e non al passaggio di stato. Questo comportamento può però essere anche causato dalla perdita di contatto fra la punta della termocoppia e il prodotto (Fissore, 2017). Altri studi hanno tuttavia dimostrato, che almeno in scala di laboratorio, la differenza nella struttura del prodotto in flaconi monitorati e in flaconi non monitorati risulta essere praticamente trascurabile (Bosca et al., 2013).

Esistono altri dispositivi che invece monitorano il comportamento del *batch* sfruttando la misura dell'aumento della pressione in camera in uno specifico test; questi test vengono chiamati *Pressure Rise Test* (PRT) e consistono nell'isolare la camera in cui avviene la liofilizzazione dal condensatore, chiudendo la valvola posta nel condotto che collega le due parti; questo fa sì che la pressione vada aumentando per l'accumulo di vapore dentro la camera e, di conseguenza, anche la temperatura aumenta. Da questi test, ripetuti più volte e molto rapidamente (10-30 secondi), utilizzando un modello matematico del processo, è possibile ricavare la temperatura del prodotto, il quantitativo di ghiaccio residuo e il coefficiente  $R_p$ , che indica la resistenza del *cake* al flusso di vapore, e  $K_v$ , coefficiente globale di scambio termico (Fissore et al., 2018).

Un'altra tipologia di PAT è basata sulla misura del flusso di sublimazione ottenuto monitorando la velocità del vapore in uscita dalla camera durante la fase di essiccamento, da cui si ricava il flusso di materia  $J_w$ ; da questo è possibile calcolare direttamente i parametri del modello  $K_v$  ed  $R_p$ , purché sia nota la temperatura del prodotto, misurata tramite altri sensori. Uno dei dispositivi più usati, che fa uso di questa metodologia, è il TDLAS.

Infine, per la determinazione della fine dell'essiccamento primario, ma anche per un monitoraggio del processo di liofilizzazione, è possibile utilizzare i sensori di flusso di calore: essi riescono a monitorare il ciclo di liofilizzazione a partire dalla fase di congelamento, in quanto rilevano il fenomeno di nucleazione, e sono anche in grado di determinare la fine dell'essiccamento primario (Fissore et al., 2018). Questi sensori permettono un controllo non invasivo, non intaccando, pertanto, la dinamica del prodotto nei flaconi, sebbene bisogna fare comunque attenzione al posizionamento del sensore.

In Fig.6 è mostrato l'andamento del flusso di calore rilevato durante il congelamento, da cui si può notare la nucleazione, in cui si ha il picco del flusso di calore, e durante l'essiccamento primario, durante il quale il flusso di calore si mantiene pressoché costante. La curva si riferisce ad una prova di liofilizzazione condotta ad una temperatura del ripiano pari a  $-20^{\circ}\text{C}$  e pressione in camera pari a 60 mTorr, durante la fase di essiccamento primario.



**Fig.6** Andamento del flusso di calore durante le fasi di congelamento e di essiccamento primario.

#### 1.4 Parametri $K_v$ e $R_p$

$K_v$  e  $R_p$  sono due parametri del modello matematico mono-dimensionale usualmente impiegato per descrivere l'evoluzione del sistema, legati, rispettivamente, alla pressione della camera e allo spessore dello strato secco ( $L_{dried}$ ). Tramite questi parametri è possibile valutare il flusso dall'interfaccia di sublimazione alla camera di liofilizzazione, legato al

gradiente di pressione parziale di acqua tra l'interfaccia e la camera, e il flusso termico scambiato con il prodotto, legato al gradiente di temperatura tra il fluido riscaldante e il prodotto. Per valutare questi parametri esistono diversi metodi.

$K_v$ , cioè il coefficiente di scambio termico tra il prodotto contenuto nei flaconi e lo *shelf*, può essere espresso mediante la somma di diversi contributi (Pisano et al., 2011):

1. un coefficiente  $K_c$  per il contatto diretto fra lo *shelf* riscaldante ed il flacone;
2. un coefficiente  $K_r$  per l'irraggiamento delle pareti della camera;
3. un coefficiente  $K_g$  per la convezione attraverso il gas contenuto nel meato tra il fondo del flacone e il ripiano riscaldante.

Dato che il coefficiente  $K_v$  è funzione di tutti questi fattori, esso può assumere diversi valori nei diversi flaconi in base alla posizione dentro la camera; ad esempio, i flaconi più esterni sono più soggetti all'irraggiamento delle pareti rispetto ai flaconi interni.

L'equazione che lega il  $K_v$  al flusso termico è la seguente:

$$K_v = \frac{J_q}{(T_{shelf} - T_b)} \quad (1)$$

dove la temperatura del prodotto al fondo del flacone,  $T_b$ , è misurata attraverso le termocoppie.

$R_p$  invece è legato allo spessore dello strato secco ( $L_{dried}$ ) tramite la seguente equazione:

$$R_p = R_{p,0} + \frac{A_{R_p} \cdot L_{dried}}{1 + B_{R_p} \cdot L_{dried}} \quad (2)$$

dove i parametri sono dipendenti dal prodotto e ricavati sperimentalmente.

## 1.5 Mini-FD e Micro-FD

La liofilizzazione di un prodotto al livello industriale è un processo generalmente molto lungo che può richiedere da alcune ore fino anche delle settimane; è quindi un processo

molto dispendioso, soprattutto quando lo studio, ad esempio, di un prodotto farmaceutico è a livello sperimentale. I prodotti utilizzati sono infatti molto costosi e il loro utilizzo in grandi liofilizzatori per scopi di sviluppo del processo può comportare sprechi di prodotto e elevati costi in fasi che sono solamente preliminari alla produzione industriale vera e propria. Da ciò nasce l'esigenza di impiegare dei micro-liofilizzatori che permettano di poter svolgere esperimenti, in scala di laboratorio, minimizzando il consumo dei prodotti e la durata del processo, utilizzando un numero minore di flaconi, per poi eseguire un adeguato *scale-up*, cioè mantenendo invariati, per quanto possibile, i parametri di processo e la qualità del prodotto nel liofilizzatore industriale vero e proprio.

Sono due le tecnologie proposte in questo ambito: il Mini-FD e il Micro-FD.

Il *MiniFD*, proposto da Obeidat et al. nel 2017, utilizza un numero molto ridotto di flaconi (sette flaconi da 20 cm<sup>3</sup>) e una camera molto più piccola dei liofilizzatori grandi, cercando però di emularne le caratteristiche di scambio termico, in particolare "l'effetto di bordo". Con pochi flaconi, la maggior parte di questi saranno esterni ed avranno un coefficiente di trasferimento di calore più elevato e, quindi, tempi di essiccamento più corti rispetto ai flaconi nella parte centrale del lotto che, in una apparecchiatura industriale, costituiscono la maggioranza dei flaconi caricati. Gli esperimenti eseguiti avevano l'obiettivo di valutare proprio il coefficiente di scambio termico  $K_v$  in due diverse condizioni di lavoro: soluzione al 5% in peso di saccarosio con temperatura di parete pari a -16°C per simulare la temperatura dei flaconi esterni di un liofilizzatore industriale (*Lyostar*) e, successivamente, con temperatura di parete pari a -33°C per simularne i flaconi interni. L'essiccamento primario si è svolto a -20°C, mentre la pressione in camera considerata è pari a 8 Pa. Gli esperimenti sono poi stati ripetuti per una soluzione al 5% in peso di mannitolo. I risultati ottenuti mostrano che il *MiniFD* riesce a simulare lo scambio termico di un liofilizzatore industriale controllando la temperatura delle pareti: modificando il valore di tale temperatura è possibile che il prodotto contenuto nei flaconi del *MiniFD* presenti una dinamica simile a quella del prodotto contenuto nei flaconi esterni, o in quelli centrali, di un liofilizzatore di grandi dimensioni. La resistenza del prodotto, invece, può essere studiata tramite le metodologie implementate all'interno del *MiniFD*, quali l'MTM (*manometric temperature measurement*, misuratore manometrico della temperatura) o il TDLAS (*tunable diode laser absorption spectroscopy*, spettroscopia ad assorbimento laser) (Obeidat, 2017). In ogni caso, questo mini liofilizzatore è una valida

opzione per poter studiare, in piccolo, ciò che avviene in un liofilizzatore più grande con una quantità notevolmente inferiore di prodotto.

L'altra tecnologia è stata sviluppata dalla Millrock Technology. Thompson et al. hanno infatti progettato e brevettato il micro-liofilizzatore, *MicroFD*, utilizzato per le prove sperimentali del presente lavoro di Tesi. L'obiettivo da realizzare attraverso il micro-liofilizzatore è stato quello di sviluppare una tecnologia in grado di mantenere la stessa "storia termica" nel passaggio dalla scala di laboratorio a quella commerciale (Thompson, 2017). L'innovativo utilizzo di un *LyoSim*, cioè un anello termo-controllato che circonda la camera, ha il vantaggio di eliminare gli effetti di bordo, simulando il comportamento dei flaconi centrali di un liofilizzatore industriale per tutti i flaconi del *batch*, creando un ambiente tale da avere velocità di sublimazione uguale, o comunque molto simile, in ogni flacone; l'anello infatti simula un'altra fila di flaconi che agisce da sorgente di calore e nei quali ha luogo la sublimazione. La temperatura di tale anello è modificata sulla base della temperatura media del prodotto, monitorata in tempo reale tramite apposite termocoppie.

La seconda innovazione introdotta è quella dell'utilizzo del sensore termico *AccuFlux* in grado di rilevare il flusso termico proveniente dal ripiano. Questo permette di misurare il  $K_v$ , cioè il coefficiente di scambio termico tra i flaconi e il ripiano, il quale durante i test di prova è stato confrontato con il  $K_v$  ottenuto per via gravimetrica, misurato nel liofilizzatore REVO (progettato sempre dalla Millrock Technology), che ospita un numero maggiore di flaconi. I risultati di queste prove hanno dimostrato che, a parità di condizioni operative, si possono ottenere storie termiche molto simili e, conseguentemente, parametri di processo equivalenti per i due casi, semplicemente variando la temperatura dell'anello *LyoSim* nel *MicroFD* (Thompson et al., 2017).

Un'altra serie di esperimenti svolti utilizzando solamente il *MicroFD* si sono concentrati sul confronto tra il valore di  $K_v$  misurato dall'*AccuFlux* e quello gravimetrico, portando alla conclusione che il sensore così progettato è in grado di stimare esattamente il coefficiente in questione, a patto di utilizzare un opportuno coefficiente correttivo ottenuto dalla pesatura dei campioni prima e dopo un ciclo di liofilizzazione opportunamente condotto (Thompson et al., 2017).

Questa tecnologia permette di ridurre il tempo impiegato dallo sviluppo del ciclo e di ridurre anche a valori trascurabili gli errori dovuti all'elevato numero di misurazioni manuali, richieste da una prova gravimetrica.

## 1.6 Obiettivi della Tesi

Lo studio effettuato in questa Tesi consiste nell'utilizzo del *MicroFD* e nell'interpretazione dei dati ottenuti. L'interesse verso questa apparecchiatura è legato alla possibilità di replicare i test svolti in laboratorio anche su liofilizzatori industriali, utilizzando un modello matematico monodimensionale per la descrizione del fenomeno che coinvolge due parametri, ovvero il coefficiente di scambio termico  $K_v$  e il coefficiente di resistenza della matrice solida al trasporto di vapore  $R_p$ .

Per ciascuna prova è stata verificata l'uniformità del *batch*, durante l'essiccamento primario, in termini di flusso sublimativo, con particolare interesse alla deviazione standard della perdita di peso, informazione importante per stabilire se tutti i flaconi si comportano allo stesso modo e quanto si discostano dal comportamento medio, e, infine, in termini di temperature, registrate nei flaconi interni ed esterni, mediante l'ausilio delle termocoppie. In ogni prova è stata cambiata una variabile di processo per volta, tra cui, la temperatura del ripiano, la temperatura dell'anello *LyoSim* e la pressione in camera.

Nel Capitolo 2 è presente un'ampia trattazione utile per capire il funzionamento dell'apparecchiatura, oggetto di studio della Tesi, e un'analisi delle equazioni del modello matematico monodimensionale utilizzato.

Nel Capitolo 3, invece, viene presentata l'analisi approfondita dei dati ricavati dal *MicroFD*, mostrando i risultati attraverso grafici, utili per comprendere l'uniformità delle temperature, e tabelle, utili per verificare l'omogeneità del *batch* in termini di flusso sublimativo.

## 2. Metodologie e prove sperimentali

L'apparecchiatura utilizzata per le prove sperimentali di questo lavoro di Tesi è il *MicroFD*. In questo capitolo si esamineranno le principali caratteristiche, gli strumenti utilizzati, i componenti della macchina e infine il sistema di controllo *LyoPat* con cui si elaborano i parametri di processo.

### 2.1 Micro-FD

Il *MicroFD* è un'apparecchiatura piccola, se confrontata con i liofilizzatori industriali; esso ha, infatti, le seguenti dimensioni 30" x 20" x 67", che gli permettono di occupare spazi ridotti. In Fig.7 è mostrato l'esterno della macchina:

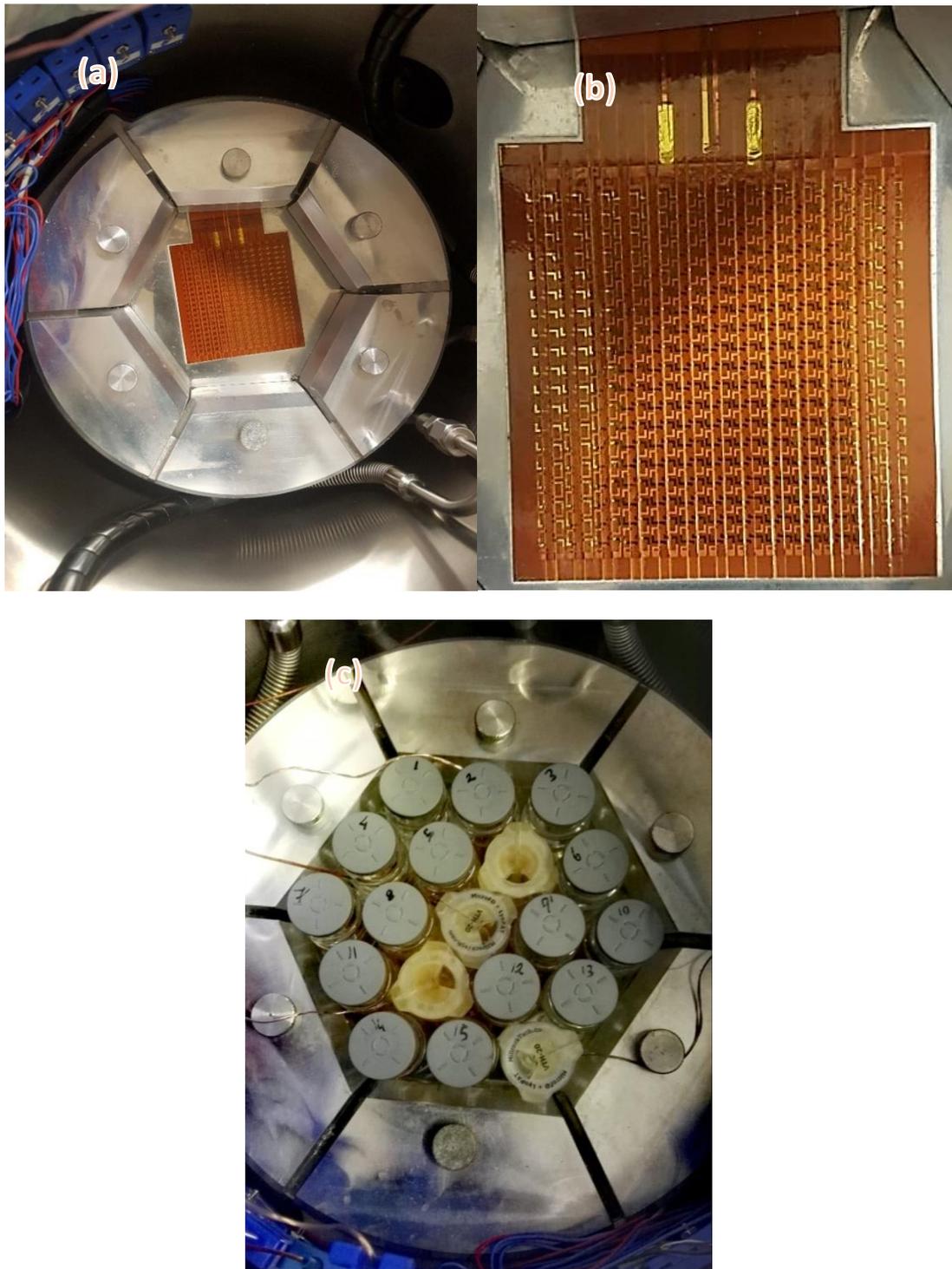


*Fig.7 MicroFD®. Dimensioni 30" x 20" x 67". Peso di circa 136 kg.*

In cima, sollevando il coperchio della macchina, è possibile osservare la camera di lavoro all'interno della quale si distinguono diversi componenti importanti per lo sviluppo del processo:

- Sul fondo della camera è presente il ripiano o *shelf*, con un diametro di 6" (15,24 cm) e di forma circolare, che ospita *AccuFlux* e *LyoSim*. All'interno del ripiano viene fatto scorrere un fluido termo-vettore (*Slytherm*) a bassa viscosità e ad alto coefficiente di scambio termico, con durabilità di servizio fino a 10 anni. Questo liquido rende possibile lo scambio termico fra il ripiano e il prodotto dentro i flaconi. Questi ultimi vengono posizionati all'interno della camera, e appoggiati al di sopra del ripiano in numero variabile. In base alle dimensioni del flacone e dell'anello è possibile porre 7, 19 o 33 flaconi (nel presente lavoro di Tesi se ne sono usati 19). Questi sono i numeri consigliati per garantire il contatto fra i flaconi e la parete dell'anello, ma è possibile comunque utilizzarne un numero differente.
- Un altro componente importante che si trova dentro la camera è il *LyoSim*, un anello in acciaio di forma esagonale, composto da sei blocchi al cui interno circola lo stesso fluido *Slytherm* del ripiano, ma indipendente rispetto a quello utilizzato in quest'ultimo. L'anello può operare in un intervallo di temperatura che va da -60 a +60°C, con una velocità di raffreddamento pari a 1°C al minuto e di riscaldamento pari a 2°C al minuto. In base alla dimensione dei flaconi è possibile utilizzare due tipi di anelli, uno per i flaconi 6R, uno per i flaconi 10R. Infine, l'utente può impostare manualmente la temperatura del *LyoSim* fra -15°C e +15°C rispetto la temperatura media del prodotto rilevata dalle termocoppie. Il *LyoSim* è la novità di questa macchina poiché, come detto, permette di controllare lo scambio termico con i flaconi disposti sul bordo. Si può inoltre utilizzare una pasta termica tra l'anello e i blocchi, in modo da garantire una miglior adesione tra le parti ed una migliore conduzione del calore.
- Infine, è presente un sensore del flusso termico, installato direttamente sul ripiano, chiamato *AccuFlux* che permette di valutare quantitativamente lo scambio termico, tramite il flusso di calore, nonché la temperatura del ripiano, in tempo reale. È possibile quindi ricavare il  $K_v$ , cioè il coefficiente di scambio termico, tramite l'equazione (1).

In Fig.8 sono mostrati questi principali componenti:



**Fig.8** (a) Immagine della camera nella quale è possibile vedere i sei blocchi del LyoSim e l'AccuFlux di cui un ingrandimento nell'immagine (b); (c) vista della camera complessiva con dentro i flaconi nella disposizione usata per i test di questo lavoro di Tesi.

La camera, quando si vuole condurre un processo di liofilizzazione, viene sigillata dal coperchio a pistone con l'ausilio di un anello in silicone posto fra le due parti. Anche il coperchio è termo-controllato mediante lo stesso fluido che scorre dentro il ripiano, in modo tale da simulare un ulteriore ripiano posto superiormente, come si avrebbe in un liofilizzatore più grande; è inoltre possibile selezionare un'altra modalità operativa che consente al coperchio di chiudere i flaconi, al termine del processo di essiccamento, qualora si operi con prodotti ad alto rischio di contaminazione.

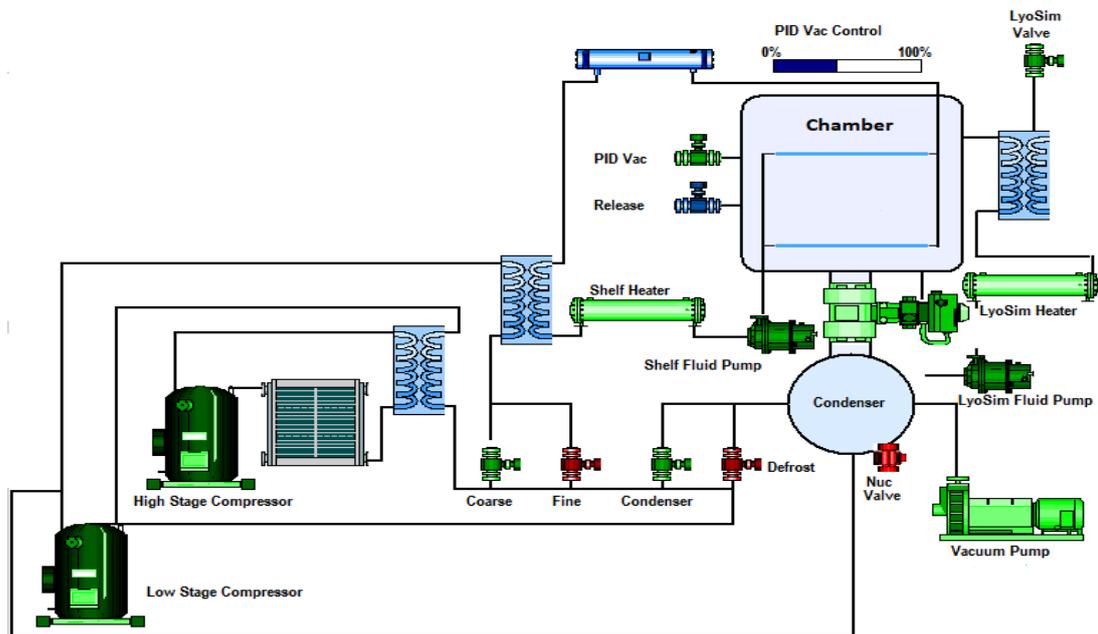
Sempre all'interno della camera è presente un condotto laterale che conduce il vapore prodotto dalla sublimazione verso il condensatore esterno. Quest'ultimo è costituito da una serpentina, all'interno della quale passa un fluido refrigerante a temperatura di circa  $-70^{\circ}\text{C}$  che consente la completa condensazione del vapore; inoltre, esso è isolato dalla camera tramite una valvola pneumatica a farfalla, di 2 pollici di diametro (5,08 cm). Bisogna stare attenti al ghiaccio che si può formare attorno alla serpentina poiché può influenzare in negativo il processo: infatti, tanto più elevato è lo spessore di ghiaccio formatosi, meno efficiente sarà lo scambio di calore fra il condensatore e il vapore e quindi il processo di condensazione. Bisogna quindi sbrinare il ghiaccio e ciò lo si può fare attraverso gas riscaldato. In condizioni ottimali di lavoro, il condensatore possiede una velocità di condensazione di 0,5 litri al giorno. In Fig.9 è mostrato il condensatore:



*Fig.9 Condensatore del MicroFD.*

Infine, dentro la camera è possibile adoperare fino ad un massimo di 8 termocoppie.

In Fig. 10 è mostrato l'insieme delle apparecchiature e dei sistemi che compongono il *MicroFD*:



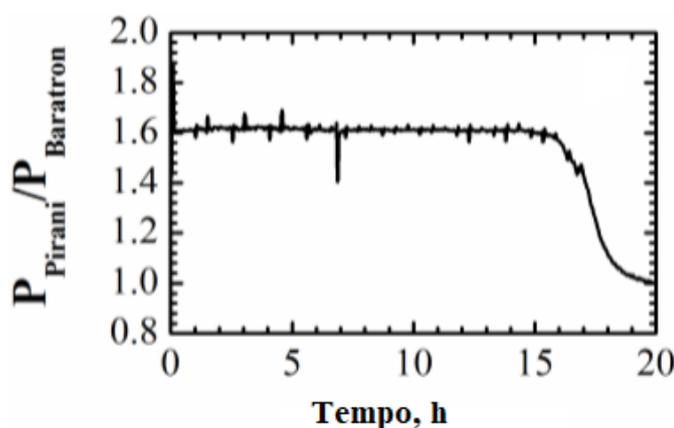
**Fig.10** Rappresentazione schematica del *MicroFD*, dove le zone verdi rappresentano le parti in funzione al momento della cattura dell'immagine, mentre quelle in rosso le parti inattive.

Tra le apparecchiature è importante segnalare la presenza della pompa da vuoto, che permette il raggiungimento in camera di pressioni molto basse, ben al di sotto della pressione atmosferica, prossime al vuoto assoluto (10 mTorr cioè 0,00001 atm circa).

Le pressioni raggiunte in camera durante l'essiccamento primario arrivano a circa 8-9 Pa per poter fare avvenire il processo di sublimazione a temperature ben al di sotto di 0°C. A queste pressioni, infatti, il ghiaccio sublima a -44°C, valore di temperatura molto più basso rispetto a quello utilizzato solitamente per l'essiccamento.

Il monitoraggio della pressione in camera avviene tramite il manometro Pirani, a termoconducibilità, ed un manometro capacitivo: il sensore Pirani (calibrato in aria) rileva pressioni da 0 a 760.000 mTorr, mentre il manometro capacitivo (MKS Baratron) rileva pressioni da 0 a 2000 mTorr, quindi fornisce un valore numerico solo quando viene raggiunto un vuoto molto spinto. Il manometro Pirani è costituito da un filamento in metallo, generalmente Platino, sospeso in tubo connesso al sistema di cui si desidera misurare la pressione.

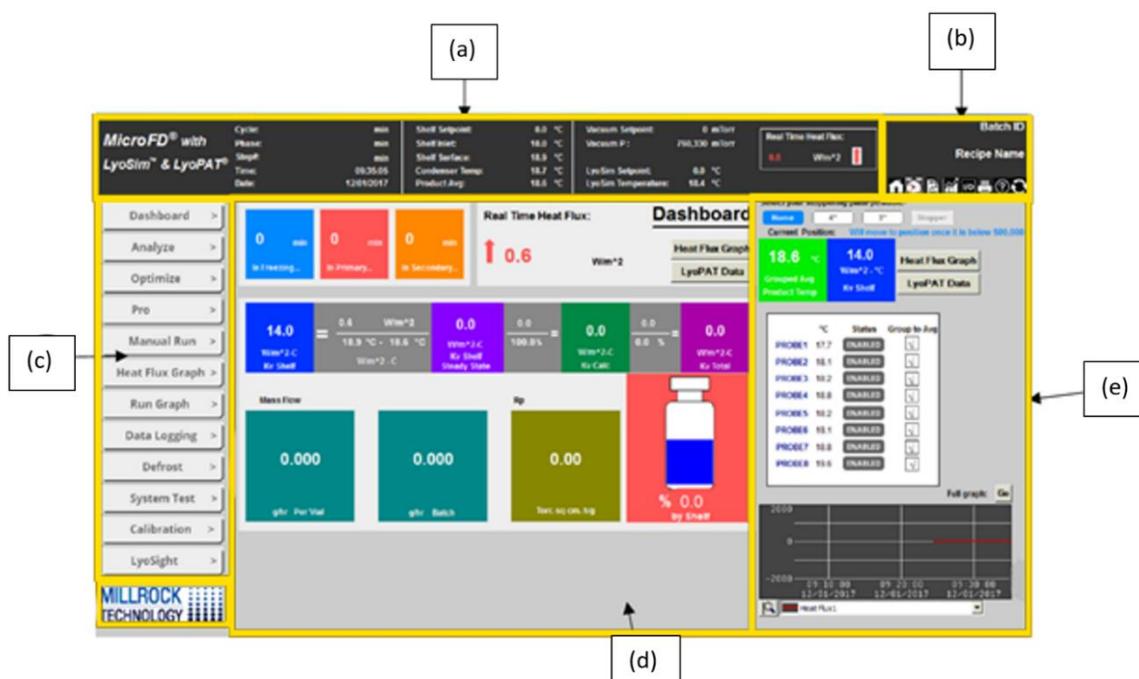
Il ponte di Wheatstone a cui è collegato il filamento, tramite la misura della corrente necessaria per mantenere costante la temperatura del filamento stesso, permette di valutare la pressione; essendo il filamento calibrato in aria si parla di misura di pressione relativa. Il manometro capacitivo, invece, misura la pressione assoluta. Esso è un sensore a diaframma in metallo che può deflettersi in seguito a variazioni di pressione. Questa variazione genera un segnale elettrico che converte la posizione della membrana in un segnale e da ciò si trova il valore della pressione. Dal rapporto fra i due valori di pressione dati dai due manometri si può definire la fine dell'essiccamento primario: durante l'essiccamento il dispositivo Pirani rileva una pressione circa il 60% maggiore di quella letta dal manometro capacitivo per via del fatto che la conducibilità termica del vapore d'acqua è circa 1,6 volte maggiore di quella dell'azoto (Patel, 2010) ma, nella fase finale dell'essiccamento primario, non ci sarà più vapore acqueo e le due pressioni misurate si porteranno allo stesso valore, dando un rapporto pari a uno. Quando il sensore Pirani rileva una pressione uguale a quella misurata dal sensore di pressione capacitivo la sublimazione del ghiaccio può essere ritenuta completata (Andrieu et al, 2011), (Fissore et al., 2017). In Fig. 11 è mostrato un esempio di andamento del rapporto di pressioni dentro la camera durante la fase di essiccamento primario in un ciclo di liofilizzazione:



**Fig.11** Rapporto tra le due misure di pressione in camera, in funzione del tempo (immagine tratta da Fissore et al., 2017, modificata).

Per concludere, la macchina necessita di *utilities* per il suo funzionamento; distinguiamo pertanto: l'allacciamento alla rete elettrica, che assicura voltaggio e amperaggio necessari; aria compressa, necessaria per l'attuazione della valvola di isolamento del sistema; azoto, necessario ad assicurare la pressione in camera; acqua refrigerata (opzionale), a 15 °C.

Insieme alla macchina, è stato dato in dotazione dalla Millrock, un computer attraverso il quale utilizzare il *LyoPat* il *software* tramite il quale utilizzare un'interfaccia grafica semplice e intuitiva.



**Fig.12** Interfaccia grafica del programma.

Su questa interfaccia è possibile distinguere le cinque sezioni di seguito descritte:

- Nella sezione (a) vengono inserite delle informazioni relative alla durata e data del processo, temperatura dello *shelf* e del condensatore, i valori di pressione dei due sensori (quello letto dal Pirani, tra 0 e 760000 mTorr, e quello letto dal manometro capacitivo, tra 0 e 2000 mTorr, che verrà mostrato solo quando sarà raggiunto un elevato grado di vuoto) e, infine, la temperatura del *LyoSim* e il flusso di calore in tempo reale.
- Nella sezione (b) sono presenti i tasti di accesso rapido (*Home*, allarmi, etc.) e le informazioni relative alla *recipe*, come il codice identificativo del *Batch* e il nome della ricetta.
- Nella sezione (c) sono presenti collegamenti che rimandano a varie interfacce, alcune di queste utilizzate nel presente lavoro di Tesi, la cui descrizione è rimandata successivamente.

- Nella sezione (d) viene mostrata la finestra relativa all'interfaccia scelta nella sezione (c).
- Infine, nella sezione (e) è possibile scegliere la posizione del pistone di chiusura rispetto al ripiano (4 pollici o 3 pollici); la temperatura media delle termocoppie (evidenziata in verde) o l'attuale valore del  $K_{v,Shelf}$  (evidenziato in blu) e infine tramite il tasto "Heat Flux Graph" è possibile visualizzare il grafico del flusso di calore. La temperatura di ogni termocoppia è espressa in gradi centigradi ed è possibile abilitare una termocoppia cliccando su "Enabled" (abilitata) o "Disabled" se la si vuole disabilitare. Se la termocoppia è abilitata verrà mostrata la temperatura da essa misurata. È possibile "spuntare" ciascuna termocoppia attivata (sotto la scritta "Group to Avg") in modo tale da scegliere quale termocoppia considerare nel calcolo della temperatura media del prodotto, utilizzata dal software per la determinazione della temperatura del *LyoSim*.

Analizziamo adesso, in breve, alcune delle interfacce più significative che sono state utilizzate:

### 1. Dashboard

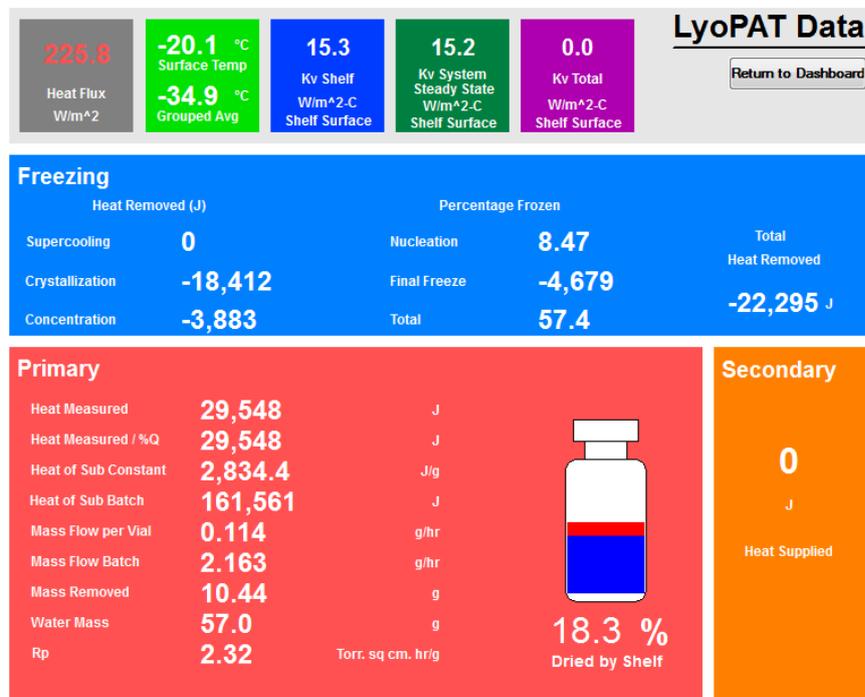


Fig.13 Finestra relativa al Dashboard.

Questa interfaccia permette di osservare in tempo reale le varie fasi (congelamento, essiccamento primario, essiccamento secondario) e fornisce i parametri critici del processo ( $K_v$ ,  $R_p$ , flusso di massa e percentuale essiccata). È inoltre possibile visualizzare l'andamento grafico di tali variabili nel tempo (in funzione dell'intera durata del processo o considerando solo una parte).

## 2. Analyze Mode

Loading: <input type="checkbox"/> Off Ready? <input type="button" value="Go"/> Shelf °C 0.0 LyoSim °C 0.0	<b>BATCH INFO</b> Concentration %w/w 5.0 Number Of Vials 19	Critical Temp (Tc) °C 0 Vial OD cm 2.25 Vial ID cm 2.05 Water per vial g 3.0 Vial Mass g 7.98													
<b>FREEZING</b>															
Shelf °C: 1: 20, 2: 20, 3: -40, 4: -40, 5: 0, 6: 0, 7: 0, 8: 0, 9: 0, 10: 0 Time min: 1: 0, 2: 10, 3: 60, 4: 60, 5: 0, 6: 0, 7: 0, 8: 0, 9: 0, 10: 0 LyoSim Track From: 9 Track Offset: -1.0 °C										<b>FINAL FREEZE</b> Shelf °C -40.0 Hold Time min 10 Primary Vac Start mT 90					
<b>PRIMARY DRYING</b>															
Shelf °C: 1: -20, 2: -20, 3: 0, 4: 0, 5: 0, 6: 0, 7: 0, 8: 0, 9: 0, 10: 0, 11: 0, 12: 0, 13: 0, 14: 0, 15: 0, 16: 0 Time min: 1: 0, 2: 360, 3: 0, 4: 0, 5: 0, 6: 0, 7: 0, 8: 0, 9: 0, 10: 0, 11: 0, 12: 0, 13: 0, 14: 0, 15: 0, 16: 0 Vacuum mT: 1: 60, 2: 60, 3: 0, 4: 0, 5: 0, 6: 0, 7: 0, 8: 0, 9: 0, 10: 0, 11: 0, 12: 0, 13: 0, 14: 0, 15: 0, 16: 0 LyoSim Track From: 9 Track Offset: -3.0 °C Auto EOPD mT <input type="button" value="DISABLED"/>															
<b>SECONDARY DRYING</b> Shelf Ramp °C/min 0.0 Vacuum mT 60 Shelf °C -20.0 LyoSim 9 Time min 0 Track Offset: °C -3.0				<b>STORAGE SETPOINT</b> Shelf °C 20.0 LyoSim °C 20.0				<b>ALARM SETTINGS</b> Cond Overload °C -40.0 Vacuum Overload mT 500 Power Outage min 15							

Fig.14 Pannello di controllo Analyze con inserita la ricetta utilizzata nelle prove sperimentali.

Questa modalità permette di creare una *recipe*, o ricetta, da far eseguire al *MicroFD*; il *LyoSim* è controllato impostando una temperatura compresa fra più o meno 15°C rispetto alla temperatura media del prodotto. Essendo di facile utilizzo, in quanto permette di inserire manualmente tutte le variabili richieste, è stata la modalità più utilizzata durante le prove sperimentali. La ricetta utilizzata è proprio quella rappresentata in Fig.14, tranne per le prove svolte col mannitolo, delle quali si parlerà più avanti. Nel caso di prove con soluzioni acquose di saccarosio, la ricetta scelta prevede che la temperatura dello *shelf* raggiunga, nel minor tempo possibile ( $t=0$ ), il valore di 20°C. Subito dopo, si mantiene la temperatura a 20°C per 5/10 minuti in modo da uniformare la temperatura dentro il *batch* e stabilizzare il prodotto. Segue un abbassamento della temperatura fino a -40°C,

operazione che richiede 60 minuti, poiché la velocità con cui fare avvenire questo abbassamento è 1°C/min. Durante questa fase avviene la nucleazione dei cristalli di ghiaccio e, per garantire il completo congelamento della soluzione, o quantomeno della parte di acqua che può congelare, si mantiene la temperatura a -40°C per un'ora. Facoltativamente, è possibile mantenere a questa temperatura il ripiano per altri 10 minuti (*Final Freeze*). Si passa pertanto all'essiccamento primario, dove come primo *step* si impone il raggiungimento di una temperatura pari a -20°C, nel minor tempo possibile ( $t=0$ ), e successivo mantenimento per 360 minuti in modo tale da registrare una sensibile perdita di peso. L'essiccamento secondario non è stato considerato in questo lavoro di Tesi e, pertanto, le prove sono sempre state interrotte dopo i 360 minuti (6 ore) dell'essiccamento primario. Infine, per l'eventuale *storage*, è consigliabile riportare le condizioni della camera a quelle ambientali (20°C e 760 Torr), per evitare che si abbiano alterazioni nel prodotto una volta che la prova è stata terminata.

Nella modalità *Analyze* è inoltre possibile inserire diverse informazioni nella sezione *Batch Info* relative al tipo e al numero dei flaconi utilizzati, prodotto utilizzato e quantitativo inserito nei flaconi, temperatura critica del prodotto che non deve essere raggiunta durante l'essiccamento primario e, infine, il volume d'acqua inserito nel flacone.

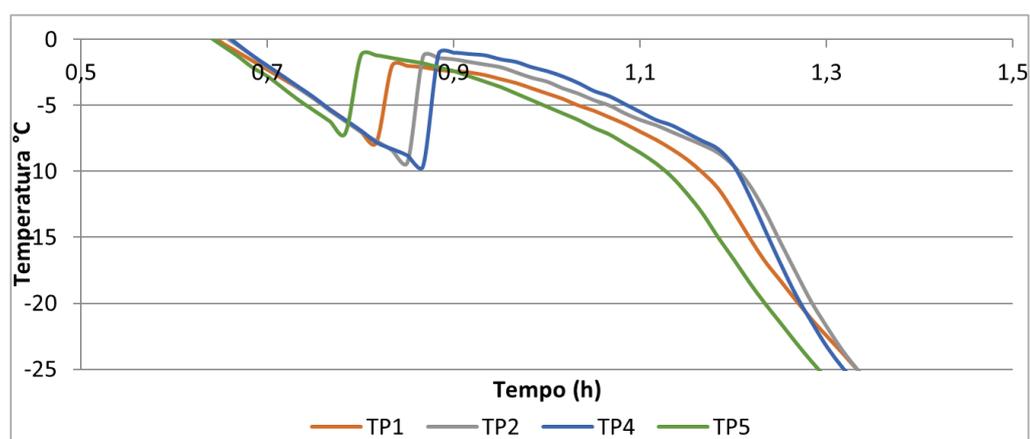
Nella sezione del *Freezing* è possibile impostare fino a 10 *step*, regolando la durata di ciascuno di essi. Vi è inoltre uno *step* extra, il *Final Freeze*, qualora si voglia mantenere una certa temperatura del ripiano finché, completato il congelamento, la pressione non scende autonomamente fino al valore, preimpostato, a cui si vuole dar inizio all'essiccamento primario. Infine, l'opzione *Track offset* si riferisce alla temperatura a cui si vuole portare l'anello *LyoSim* rispetto alla temperatura media del prodotto. Quella relativa al *Freezing* è sempre stata mantenuta a -1°C, mentre quella del *primary drying* è stata variata scegliendo tre valori: -1°C, -3°C, -5°C.

Nella sezione dell'essiccamento primario è presente un numero maggiore di *step* in cui poter variare i parametri, con la possibilità aggiuntiva di manipolare la pressione in camera. In basso a destra, l'EOPD è un'opzione che consente l'interruzione automatica della fase di essiccamento non appena la differenza tra la pressione misurata con il sensore Pirani e quella misurata dal manometro capacitivo Baratron scende al di sotto di un certo valore impostato, ad indicare l'effettivo completamento della sublimazione. Ciò avviene anche se



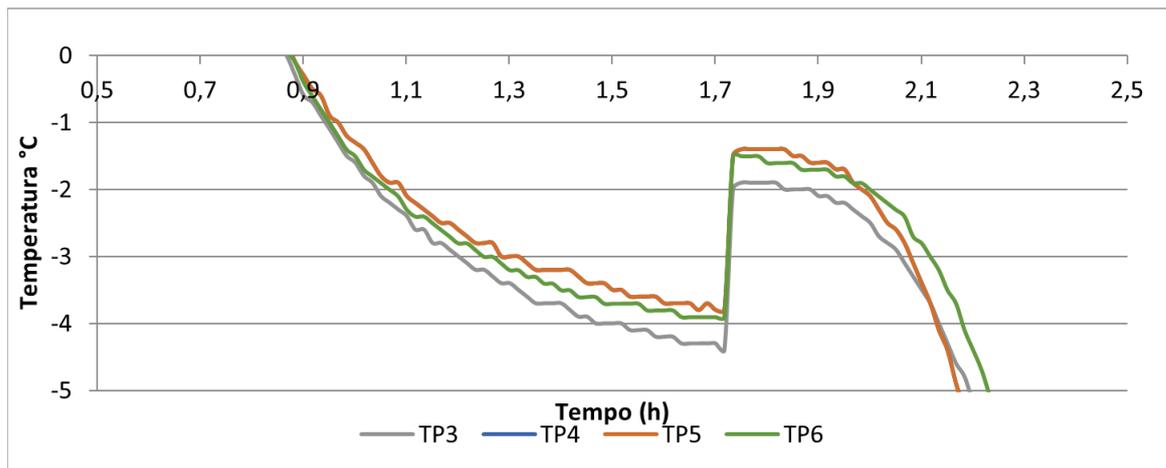
Anche in questa modalità è possibile inserire una ricetta da fare sviluppare al micro-liofilizzatore: l'interfaccia è molto simile a quella dell'*Analyze*, ma con alcune importanti differenze. La prima è il *FreezeBoster* che, se impostato su AUTO, permette di fare avvenire la nucleazione controllata allo step designato, durante il congelamento: è sufficiente impostare alla voce "After STEP #" lo *step* che deve concludersi prima dell'avvio della nucleazione controllata. Terminato il processo di nucleazione controllata il programma passerà allo *step* successivo.

Nucleazione controllata significa far avvenire la nucleazione nello stesso momento in tutti i flaconi. In Fig.16-17 sono mostrati due andamenti della temperatura:



**Fig.16** Andamento della temperatura nei flaconi con nucleazione spontanea (non controllata).

Quando la nucleazione è spontanea, essa avviene in tempi e valori di temperatura differenti nei vari flaconi, come mostrato in Fig. 16. Invece, con il metodo della nucleazione controllata, è possibile condurre la nucleazione contemporaneamente e allo stesso valore di temperatura in tutti i flaconi del lotto (come mostrato in Fig. 17).



**Fig.17** Andamento della temperatura nei flaconi con nucleazione controllata.

Normalmente, nel caso di nucleazione non controllata il fenomeno comincia dal fondo del flacone e continua verso l'alto. La velocità di crescita dei cristalli diminuisce dando luogo alla formazione di cristalli più grandi in basso e cristalli più piccoli in alto. Impiegando invece un controllo sul fenomeno di nucleazione, esso avrà inizio a partire dalla superficie superiore fino in fondo al flacone, mostrando una distribuzione di cristalli più omogenea (Thompson, 2013). La tecnica usata dall'apparecchiatura per la nucleazione controllata è quella dell'*ice fog*. I cristalli di ghiaccio vengono generati nel condensatore, dove una nebbia di acqua viene cristallizzata grazie alle basse temperature raggiunte: si forma quindi una nebbia di cristalli di ghiaccio che viene inviata all'interno della camera. Entrati in contatto con la superficie del prodotto, che si trova già in condizioni di sotto-raffreddamento, questi cristalli fungono da centri di nucleazione, causando così la nucleazione in tutti i punti della superficie ed allo stesso istante, mostrando come risultato una struttura del ghiaccio uniforme in ogni flacone (Thompson, 2013).

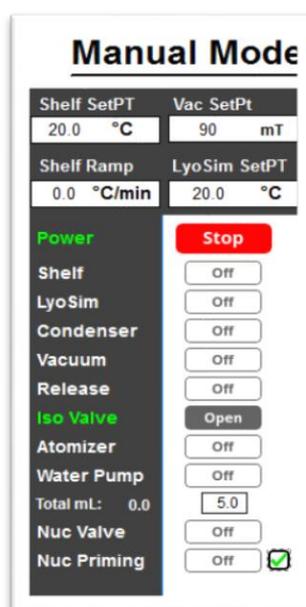
La ricetta utilizzata nelle prove sperimentali è differente da quella utilizzata nell'*Analyze*, specialmente nella fase del *Freezing*, in quanto le temperature devono essere tali da evitare la nucleazione spontanea. Come primo *step* si fa in modo di raggiungere la temperatura di 20°C in camera nel tempo più breve possibile ( $t=0$ ) e, successivamente, la si mantiene per 10 minuti per omogenizzare la temperatura e stabilizzare il prodotto. Con una velocità di 1°C/min si raggiunge la temperatura di -5°C (cioè in 25 minuti), e la si mantiene poi per 40 minuti. Questa temperatura è stata scelta proprio perché leggermente più alta della temperatura a cui avviene la nucleazione spontanea. Dopo lo *step* 4 avviene la fase di *seeding*, ovvero di prelievo di acqua che, giunta al condensatore, genera l'*ice fog*

da inviare in camera; avviene pertanto la nucleazione istantanea e contemporanea nei flaconi. Si impone quindi il raggiungimento della temperatura del ripiano ad un valore di  $-40^{\circ}\text{C}$  in 35 minuti, valore che viene mantenuto per 60 minuti per permettere il completamento omogeneo del congelamento. Successivamente, è possibile scegliere se condurre o meno una fase extra di congelamento, per ulteriori 10 minuti alla temperatura di  $-40^{\circ}\text{C}$ . Infine, avviene l'essiccamento primario a temperature e pressioni desiderate in un tempo pari a 360 minuti (6 ore).

#### 4. Pro Mode

Questa modalità è simile alla modalità *Optimize*, dando però la possibilità all'utente di usare un  $K_{v,Shelf}$  predeterminato per predire la temperatura media del prodotto durante l'essiccamento primario invece che misurarla direttamente tramite le termocoppie, che risulteranno quindi disattivate, e dando la possibilità di controllare il *LyoSim* per *step*, oltre a come è possibile controllarlo nelle modalità *Optimize* e *Analyze*. Questa modalità, tuttavia, non è mai stata usata in questo lavoro di Tesi.

#### 5. Manual Mode



**Fig.18** Pannello di controllo della modalità Manual Mode.

In questa modalità è possibile gestire manualmente ogni singola parte della macchina: si può impostare la temperatura di set-point del ripiano, la temperatura di set-point del *LyoSim*, impostare e controllare il livello di vuoto, gestire la valvola che isola fra loro il condensatore e la camera e effettuare una nucleazione controllata manualmente. Ci si affida a questa modalità prima di procedere con una prova in *Optimize*: essa permette infatti di preparare la macchina alla nucleazione controllata grazie al prelievamento di acqua da un contenitore esterno eseguendo i seguenti passaggi:

1. Accensione dell'*Atomizer* per circa 2 minuti, necessario affinché il liquido venga atomizzato per poter formare la nebbia;
2. Apertura della valvola di nucleazione, che connette il condensatore con la pompa dell'acqua;
3. Accensione del *Nuc Priming*, necessario per poter in seguito ottenere l'innesco della nucleazione;
4. Accensione della pompa dell'acqua, che comincerà a prelevare una quantità d'acqua preimpostata (5 ml) per attivarsi;
5. Accensione del condensatore, impostando una temperatura adeguata per riuscire a vedere la nebbia di ghiaccio formarsi attorno ad esso (facoltativo).

Una volta terminato questo processo manuale, apparirà una spunta verde affianco all'opzione del *Nuc Priming* quando la pompa della nucleazione è stata attivata, come in Fig. 18. A questo punto è indispensabile effettuare il scongelamento (*Defrost*) del condensatore (fuori dalla modalità manuale) per 10-15 minuti. La mancata esecuzione di tutti questi *step* nell'ordine riportato porterebbe il *FreezeBooster* a non riuscire nell'intento di realizzare la nucleazione controllata durante la fase di congelamento.

## 6. *Defrost*

L'ultima interfaccia utilizzata durante le prove sperimentali è il *Defrost*, un pannello di controllo importante da utilizzare alla fine di ogni ciclo, o subito dopo l'attivazione del *Nuc Priming*.

Esso permette di sbrinare il condensatore, impostando la durata del processo per un minimo di 1 minuto fino ad un massimo di 30 minuti. Durante questo periodo un gas caldo verrà fatto circolare all'interno del condensatore. La temperatura nel condensatore oscillerà fra i 40°C e i 60°C durante il processo.

## 2.2 Prove condotte con il Mannitolo

L'altro soluto utilizzato per le prove sperimentali è stato il mannitolo. Per le soluzioni acquose al 5% di mannitolo, la ricetta scelta per la conduzione delle prove è differente, come mostrato in Fig. 19:

FREEZING											
Step:	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shelf	°C	20	20	-40	-40	-15	-15	-40	-40	0	0
Time	min	0	5	60	10	25	120	25	5	0	0
LyoSim	Track From:			9	Track Offset:		-1.0 °C				

PRIMARY DRYING											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shelf	°C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Time	min	0	240	0	0	0	0	0	0	0	0
vacuum	mT	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0
LyoSim	Track From:			9	Track Offset:		-1.0 °C				

Fig. 19 Ricetta in Analyze per test con il mannitolo.

La ricetta prevede il raggiungimento in tempo breve, ( $t=0$ ), della temperatura ambiente e mantenimento per 5 minuti per stabilizzare il prodotto. I passi successivi fanno parte di un ciclo che prende il nome di *annealing*, nel quale la temperatura del prodotto è diminuita (fino a  $-40^{\circ}\text{C}$ , in 60 minuti) e mantenuta per 10 minuti al valore raggiunto, aumentata (fino a  $-15^{\circ}\text{C}$ , in 25 minuti) e mantenuta per due ore al valore raggiunto e, infine, di nuovo diminuita alla stessa temperatura di inizio del ciclo ( $-40^{\circ}\text{C}$ , in 25 minuti). Questa tecnica permette la fusione dei cristalli più piccoli con il conseguente accrescimento dei cristalli più grandi. Il risultato è la formazione di pori più grandi che facilitano il passaggio del vapore durante la sublimazione del ghiaccio (Patapoff & Overcashier, 2002). La fase di essiccamento risulta essere più veloce poiché la resistenza al passaggio del vapore è ridotta; pertanto, la durata della fase di essiccamento primario scelta in questi test è di sole 4 ore. Occorre però evidenziare che anche se la fase di *annealing* consente di ottenere un prodotto con una minore resistenza al flusso di vapore e, quindi, una minore durata della fase di essiccamento primario, è necessario del tempo aggiuntivo per poter condurre questa operazione e, pertanto, complessivamente il guadagno ottenuto, in termini di tempo, durante la fase di essiccamento viene perso (Chakravarty, 2012).

### 2.3 Modello matematico monodimensionale

Il processo di liofilizzazione è generalmente descritto da modelli multidimensionali che risultano essere di difficile risoluzione e poco pratici nel loro utilizzo. Essi, infatti, si basano sulla risoluzione dei bilanci di massa e di calore per il prodotto congelato e quello secco che richiedono parametri spesso sconosciuti, o calcolabili con un'elevata imprecisione (Giordano, 2011).

Risulta più semplice fare uso di un modello monodimensionale, poiché il gradiente di temperatura radiale è molto piccolo e, quindi, trascurabile (Giordano, 2011).

Il modello parte dall'equazione relativa al bilancio di massa del prodotto essiccato:

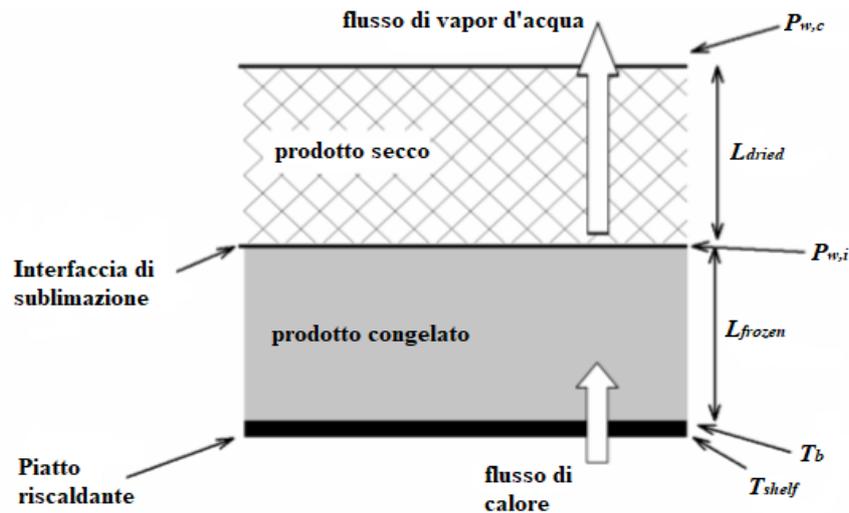
$$\frac{dL_{dried}}{dt} = - \frac{1}{\rho_{frozen} \varepsilon} J_w \quad (2)$$

dove  $\rho_{frozen}$  è la densità del ghiaccio,  $\varepsilon$  è la percentuale di acqua in soluzione e  $J_w$ , il flusso di materia sublimata. Da questa equazione si ricava l'andamento dello spessore dello strato secco,  $L_{dried}$ , nel tempo.

Dalla seconda equazione del modello, risultante dal bilancio di energia all'interfaccia di sublimazione è, invece, possibile calcolare il flusso di materia sublimata (Fissore D. , 2017).

$$J_w = \frac{J_q}{\Delta H_s} \quad (3)$$

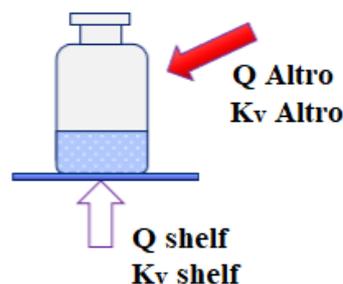
In Fig. 20 è illustrato il processo di sublimazione:



**Fig. 20** Processo di sublimazione, dove sono evidenziate le principali variabili usate nel modello matematico (immagine tratta da Fissore et al., 2017, modificata).

### 2.3.1 Coefficiente termico $K_v$ del Micro-FD

L'AccuFlux, come detto, utilizza l'equazione (1) per la valutazione del coefficiente di scambio termico, considerando il gradiente di temperatura allo stato stazionario. Tuttavia, questa equazione è riferita solamente allo scambio termico tra il prodotto e il ripiano, senza tenere conto dello scambio con le pareti e della convezione nel gas circostante. In Fig. 21 è mostrato uno schema del flusso di calore proveniente dal basso e lateralmente.



**Fig.21** Flusso di calore proveniente dal basso e lateralmente (immagine tratta da Thompson et al., 2017, con modifiche).

L'equazione che permette, pertanto, di calcolare la percentuale di calore realmente scambiato fra il ripiano e il prodotto, cioè  $\%Q_{shelf}$ , è la seguente:

$$\%Q_{shelf} = \frac{J_{q,shelf}}{\Delta H_s \cdot \Delta m} \quad (4)$$

dove  $J_{q,shelf}$  è il flusso termico calcolato nell'intervallo totale dell'essiccamento primario (dall'inizio, fino al termine della prova), come mostrato dall'equazione (5),

$$J_{q,shelf} = \int_0^{\Delta t} (Q_{accuflux}) dt \quad (5)$$

e il denominatore rappresenta la quantità di calore per far sublimare la massa  $\Delta m$  ( $\Delta H_s$  è il calore di sublimazione dell'acqua e  $\Delta m$  la perdita di massa).

Per ricavare, quindi, il coefficiente di scambio globale  $K_{v,totale}$  del processo si fa uso dell'equazione riportata di seguito:

$$K_{v,totale} = \frac{K_{v,shelf}}{\%Q_{shelf}} \quad (6)$$

dove il  $K_{v,shelf}$  è quello calcolato dal *Micro-FD*, secondo l'equazione (1).

Questo coefficiente,  $K_{v,totale}$ , secondo il modello monodimensionale, è funzione della pressione in camera  $P_c$ , sulla base dell'equazione (7):

$$K_v = a_{K_v} + \frac{b_{K_v} \cdot P_c}{1 + c_{K_v} \cdot P_c} \quad (7)$$

dove i coefficienti  $a_{K_v}$ ,  $b_{K_v}$ ,  $c_{K_v}$  vengono calcolati sperimentalmente attraverso tre misurazioni a diversi valori di  $P_c$  per ogni sistema in esame (Bosca & Fissore, 2011).

Si è, quindi, ricavato il valore del  $K_v$  gravimetrico dal bilancio di calore per il prodotto congelato (Fissore et al., 2017):

$$K_v \text{ gravimetrico} = \frac{\Delta m \cdot \Delta H_s}{A_v \cdot \int_0^{\Delta t} (T_{shelf} - T_b) dt} \quad (8)$$

dove  $\Delta m$  si ottiene mediante la pesatura dei flaconi, prima e dopo le prove, e l'integrale della differenza di temperatura è calcolato a partire dall'inizio dell'essiccamento primario fino al termine della prova. Tuttavia, questo integrale può essere sostituito con il suo valore medio, poiché tale gradiente differenza mantiene costante subito dopo una breve frazione di tempo all'avvio della fase di essiccamento primario, fino alla fine del test.

### 2.3.2 Coefficiente di resistenza al flusso del vapore $R_p$

Una volta noti il  $K_v \text{ gravimetrico}$ ,  $T_{shelf}$  e  $T_b$  (temperatura del prodotto), è possibile calcolare il flusso termico  $J_q$  dall'equazione (1) e, di conseguenza, il flusso di materia sublimata utilizzando la seconda equazione principale del modello matematico (2).

Noto  $J_w$  si ottiene  $R_p$ , calcolabile sperimentalmente facendo uso dell'equazione (9):

$$R_p = \frac{P_{w,i} - P_{w,c}}{J_w} \quad (9)$$

dove  $P_{w,c}$  è approssimabile alla pressione in camera,  $P_c$ , dato che in camera è presente essenzialmente vapor d'acqua e  $P_c$  è nota, poiché stabilita dall'operatore prima dell'inizio dei test. È più difficile calcolare il valore di  $P_{w,i}$ , cioè la pressione all'interfaccia di sublimazione. Tuttavia, si possono utilizzare delle correlazioni, come quella proposta da *Pikal* o quella proposta da *Goff e Gratch* (Fissore, 2017). Queste correlazioni sperimentali sono funzioni della sola temperatura, espressa in gradi Kelvin, assumendo che questa sia approssimabile a  $T_b$ , essendo il gradiente assiale di temperatura nel prodotto congelato trascurabile (Fissore, 2017).

Per quanto riguarda  $P_c$ , è sì stabilita dall'operatore, ma bisogna tenere conto della tensione di vapore del ghiaccio alla temperatura a cui si vuole fare avvenire l'essiccamento primario. È necessario, pertanto, che  $P_c$  sia mantenuta a valori più bassi rispetto alla tensione di vapore in corrispondenza del fronte di sublimazione, per consentire la

sublimazione, ma sufficientemente elevata, per consentire un adeguato scambio di calore in tutti i flaconi della camera.

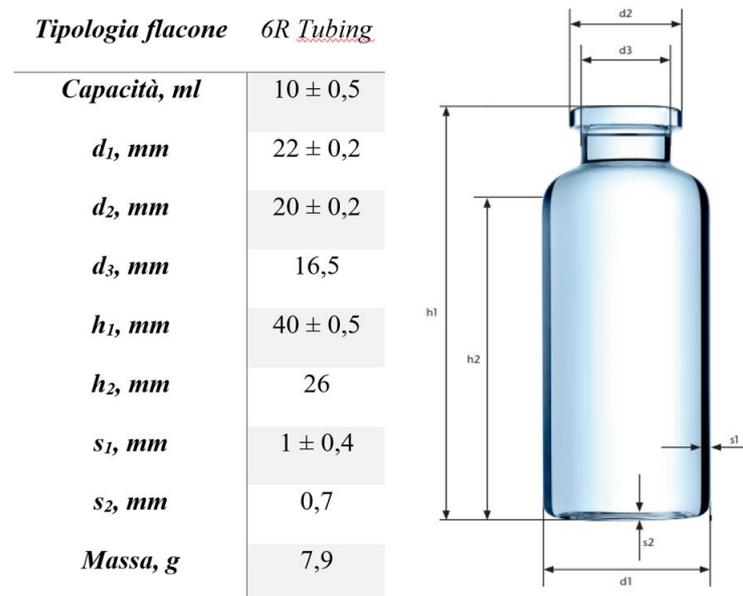
## 2.4 Descrizione prove sperimentali

I test svolti in laboratorio con il MicroFD sono stati realizzati utilizzando delle soluzioni acquose di Saccarosio ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) al 10% in peso o soluzioni di D-Mannitolo ( $C_6H_{14}O_6$ ) al 5% in peso. Le soluzioni sono state poste all'interno di flaconi tubolari (6R *Tubing*) mostrati in Fig. 22.



**Fig.22** Flaconi tubolari utilizzati durante le prove di laboratorio (sinistra); stopper (destra).

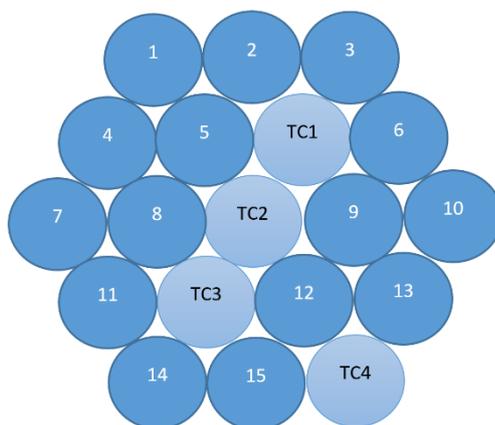
Questi flaconi, dopo essere stati riempiti con la soluzione e chiusi con gli appositi tappi (o *stopper*), sono stati inseriti all'interno della camera di lavoro del micro-liofilizzatore, previa pesatura degli stessi. Le caratteristiche dei flaconi sono mostrate in Fig. 23.



**Fig.23** Caratteristiche flacone 6R Tubing.

Registrare i pesi dei flaconi, prima e dopo i test, è un passo molto importante per valutare la perdita di peso e, dunque, l'omogeneità del batch durante il processo.

La posizione delle termocoppie è stata mantenuta la medesima in tutte le prove, come mostrato in Fig 24.

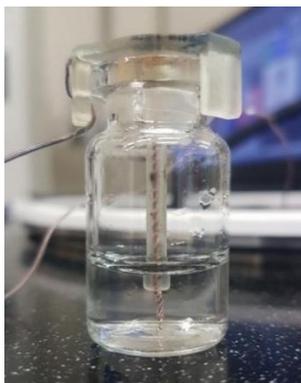


**Fig.24** Posizione dei flaconi dentro la camera: con TC si indicano i flaconi contenenti le termocoppie.

Nella camera del MicroFD è possibile inserire 19 vials di tipo 6R Tubing, di cui quattro con termocoppie. Le termocoppie forniscono il profilo della temperatura media del prodotto contenuto nei flaconi più interni e nei flaconi posti sul bordo e a contatto con

l'anello: sono state scelte, infatti, tre termocoppie in flaconi interni e una in un flacone esterno per valutare l'uniformità delle temperature. La scelta del numero delle termocoppie non è casuale; infatti, da precedenti esperimenti si è mostrato che un eccessivo numero di termocoppie causa una maggiore percentuale di errore che può falsare i risultati dei test.

Una termocoppia inserita in un flacone è mostrata in Fig. 25.



*Fig. 25 Termocoppia.*

Di seguito è riportata la tabella con tutte le prove svolte in laboratorio:

**Tab.1** Elenco delle prove sperimentali effettuate.

<b>N° Prova</b>	<b>Modalità</b>	<b>Soluto</b>	<b>T<sub>shelf</sub> (°C)</b>	<b>P<sub>c</sub> (mTorr)</b>	<b>T<sub>ring</sub> (°C)</b>
1	Analyze	Saccarosio	-20	60	T <sub>av</sub> -1
2	Analyze	Saccarosio	-20	60	T <sub>av</sub> -3
3	Analyze	Saccarosio	-20	60	T <sub>av</sub> -5
4	Analyze	Saccarosio	-20	90	T <sub>av</sub> -1
5	Analyze	Saccarosio	-20	90	T <sub>av</sub> -3
6	Analyze	Saccarosio	-20	90	T <sub>av</sub> -5
7	Analyze	Saccarosio	0	60	T <sub>av</sub> -1
8	Analyze	Saccarosio	0	60	T <sub>av</sub> -3
9	Analyze	Saccarosio	0	60	T <sub>av</sub> -5
10	Analyze	Saccarosio	0	90	T <sub>av</sub> -1
11	Analyze	Saccarosio	0	90	T <sub>av</sub> -3
12	Analyze	Saccarosio	0	90	T <sub>av</sub> -5
13	Optimize	Saccarosio	-20	90	T <sub>av</sub> -1
14	Optimize	Saccarosio	-20	90	T <sub>av</sub> -3
15	Optimize	Saccarosio	-20	90	T <sub>av</sub> -5
16	Optimize	Saccarosio	0	90	T <sub>av</sub> -1
17	Optimize	Saccarosio	0	90	T <sub>av</sub> -3
18	Optimize	Saccarosio	0	90	T <sub>av</sub> -5
19	Analyze	Mannitolo	0	100	T <sub>av</sub> -1
20	Analyze	Mannitolo	0	100	T <sub>av</sub> -3
21	Analyze	Mannitolo	0	100	T <sub>av</sub> -5
22	Analyze	Mannitolo	0	200	T <sub>av</sub> -1
23	Analyze	Mannitolo	0	200	T <sub>av</sub> -3
24	Analyze	Mannitolo	0	200	T <sub>av</sub> -5
25	Analyze	Mannitolo	10	100	T <sub>av</sub> -1
26	Analyze	Mannitolo	10	100	T <sub>av</sub> -3
27	Analyze	Mannitolo	10	100	T <sub>av</sub> -5
28	Analyze	Mannitolo	10	200	T <sub>av</sub> -1
29	Analyze	Mannitolo	10	200	T <sub>av</sub> -3
30	Analyze	Mannitolo	10	200	T <sub>av</sub> -5

Per ciascuna condizione descritta in tabella sono state eseguite tre prove nelle quali si è impostata la  $T_{ring}$  in modo tale che la temperatura media dell'anello fosse diminuita di 1°C, 3°C o 5°C rispetto alla temperatura media del prodotto.

La temperatura media del prodotto è stata valutata attraverso l'ausilio delle tre termocoppie interne (TC1, TC2, TC3), mentre quella dei flaconi esterni è stata esclusa dalla media.

I passi svolti in laboratorio, per preparare i vari set di prove, sono i seguenti:

1. Preparazione della soluzione acquosa al 10% in peso di Saccarosio o al 5% in peso di Mannitolo;
2. Riempimento dei 19 flaconi con la soluzione, attraverso una opportuna pipetta. Il volume di liquido per ciascun flacone è di 3 ml;
3. Pesatura dei flaconi utilizzando una bilancia digitale (*Mettler Toledo, modello MS204S/01*);
4. Parziale chiusura dei flaconi con gli *stopper* in gomma (rimane una fessura attraverso la quale il vapore fuoriesce durante la fase di sublimazione);
5. Chiusura dei flaconi nei quali vengono inserite le termocoppie, prestando attenzione affinché la parte finale della termocoppia, costituente il sensore, tocchi il fondo del flacone;
6. Inserimento dei flaconi nella camera;
7. Chiusura della camera con il coperchio;
8. Avvio della modalità desiderata per la prova e conseguente attesa per lo svolgimento del test, durante il quale i dati rilevanti vengono monitorati minuto per minuto;
9. Fine della prova, al termine dell'essiccamento primario, e rilascio del vuoto;
10. Estrazione dei flaconi e pesatura finale (senza gli *stopper* e le termocoppie);
11. *Defrost* tramite il quale avviene lo sbrinamento del condensatore, in cui si è venuto a creare uno spesso strato di ghiaccio.



### 3. Risultati e discussione

In questo capitolo verranno analizzati i risultati relativi alle prove sperimentali condotte nell'ambito del presente lavoro di Tesi. Analizzando ogni terna di prove si guarderà cosa avviene durante l'essiccamento primario in termini di uniformità delle temperature e, inoltre, si valuterà la perdita di peso  $\Delta m$  dei flaconi interni ed esterni tra l'inizio e la fine del processo; inoltre, si valuterà la deviazione standard, focalizzandosi sui flaconi senza le termocoppie, che dovrà essere la più piccola possibile per evidenziare la uniformità del lotto.

#### 3.1 Effetto della temperatura dell'anello *Lyosim*

Nel seguente paragrafo vengono presentati e discussi i risultati di una terna di prove condotte con soluzioni al 10% di saccarosio, nelle quali la temperatura del ripiano,  $T_{shelf}$ , è pari a  $-20^{\circ}\text{C}$  mentre la pressione in camera,  $P_c$ , è 90 mTorr. La temperatura del *Lyosim* è impostata per avere  $1^{\circ}\text{C}$ ,  $3^{\circ}\text{C}$  o  $5^{\circ}\text{C}$  in meno rispetto la temperatura media del prodotto, ovvero una *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ ,  $-3^{\circ}\text{C}$  o  $-5^{\circ}\text{C}$ .

In tabella sono riportati i risultati ottenuti dalla pesatura, prima e dopo il test, per una prova svolta con le condizioni operative sopra citate e una *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

**Tab. 2** Risultati relativi alle pesature dei flaconi, prima e dopo la prova, e valore dello scarto per una prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

Flacone	Peso iniziale (g)	Peso finale (g)	Scarto (g)
Termocoppia esterna	11,1842	10,4549	0,7293
Termocoppia 1	11,2824	10,4573	0,8251
Termocoppia 2	11,2744	10,458	0,8164
Termocoppia 3	11,1398	10,3062	0,8336
1	11,1791	10,3891	0,79
2	11,1241	10,3743	0,7498
3	11,1976	10,3885	0,8091
4	11,1136	10,4134	0,7002
5	11,1914	10,4203	0,7711
6	11,1812	10,4743	0,7069
7	11,0492	10,2785	0,7707
8	11,1139	10,3199	0,794
9	11,1784	10,4323	0,7461
10	11,189	10,4448	0,7442
11	11,326	10,5894	0,7366
12	11,1098	10,3215	0,7883
13	11,2374	10,457	0,7804
14	11,1874	10,4595	0,7279
15	11,0852	10,3381	0,7471

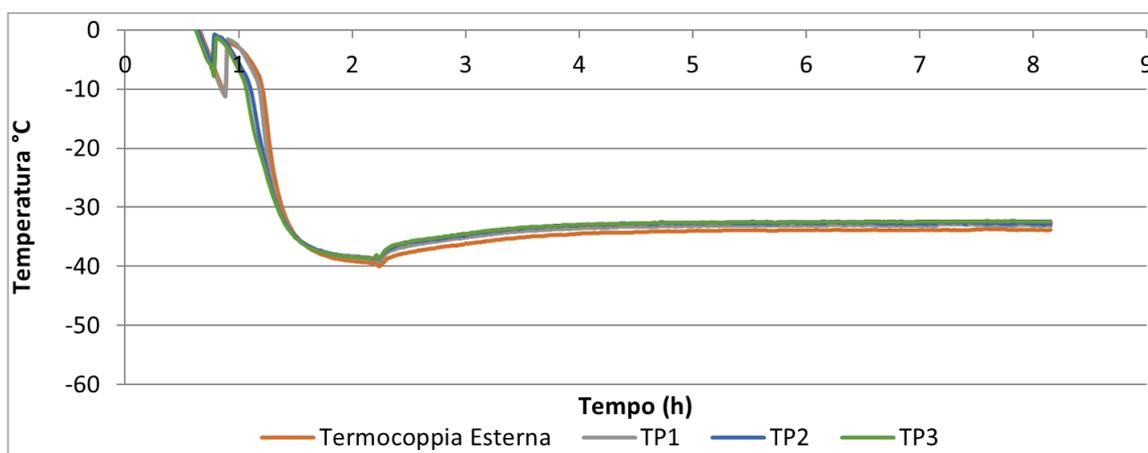
In seguito a questa operazione di pesatura è possibile calcolare le perdite medie dei flaconi interni e dei flaconi esterni e le relative deviazioni standard, come mostrato nella Tab.3.

**Tab. 3** Perdita media e deviazione standard della prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

	Totale	Interna	Esterna
Perdita media (g)	0,7667	0,7824	0,7575
Deviazione standard	5,10%	6,33%	4,00%
Deviazione standard senza TC	4,25%	5,45%	3,99%

Le perdite di peso medie sono molto simili fra loro, a dimostrazione del fatto che la liofilizzazione è avvenuta con uniformità all'interno dei flaconi del lotto. Per un'ulteriore conferma di ciò, è stata calcolata la differenza tra le perdite di peso medie dei flaconi esterni, a stretto contatto con l'anello, e quelli interni, con un risultato uguale a  $-0,02486$  g. Questo è un buon risultato, essendo tale differenza molto piccola.

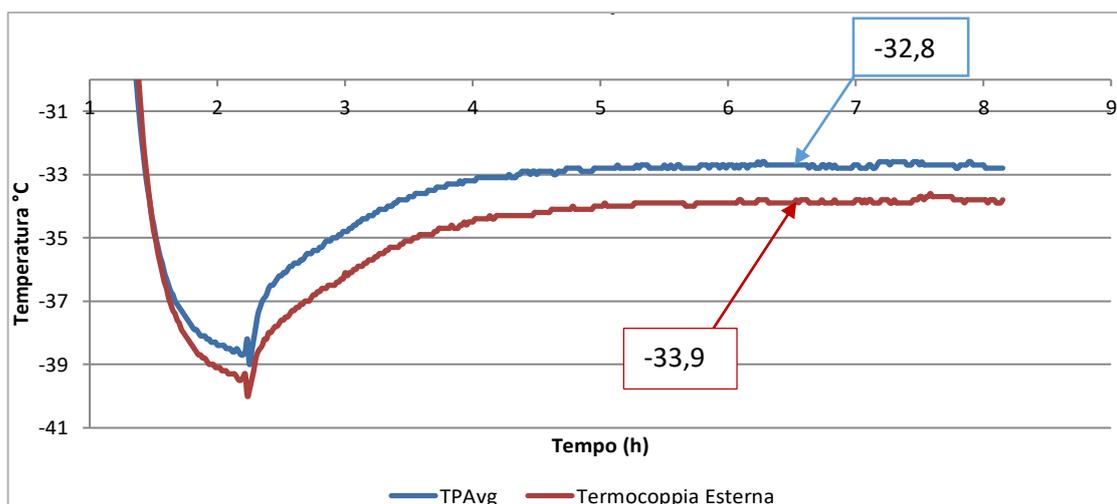
L'altro effetto da valutare è l'andamento delle temperature attraverso l'ausilio delle termocoppie. Gli andamenti sono mostrati in Fig. 26:



**Fig.26** Profilo di Temperatura delle termocoppie per la prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90$  mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

Le temperature sono quasi sovrapposte, tranne nel tratto della nucleazione, essendo questa avvenuta spontaneamente.

In Fig. 27 si mostra il dettaglio della fase di essiccamento: la temperatura media delle tre termocoppie interne,  $TP_{Avg}$  e la temperatura della termocoppia esterna sono rappresentate da due curve tra le quali vi è una differenza di un solo grado circa.



**Fig. 27** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per una prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

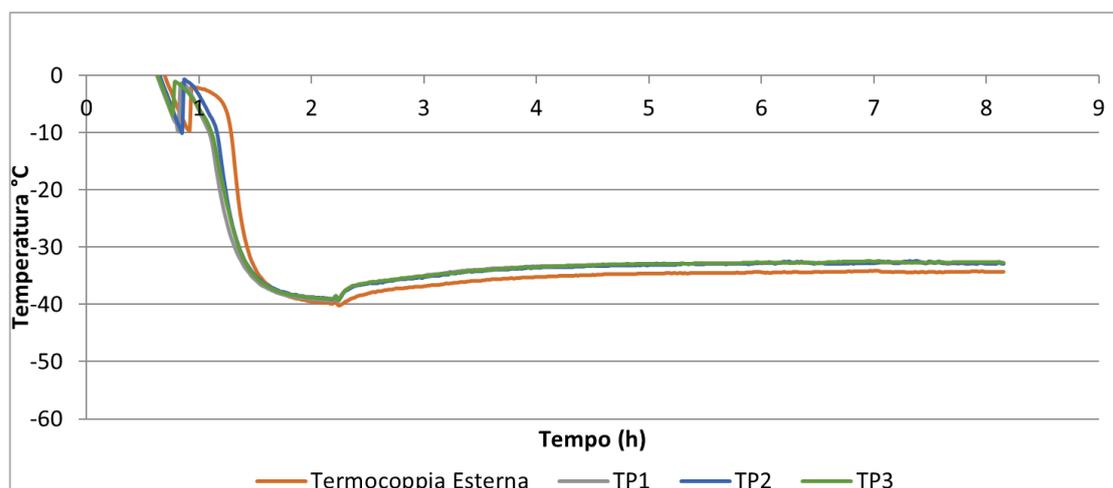
Lo stesso tipo di test è stato ripetuto anche per un valore di  $T_{ring}$  pari a  $T_{av}-3^{\circ}\text{C}$ , ed i dati relativi alle perdite di peso sono mostrati nella Tab.4.

**Tab.4** Perdita media e deviazione standard della prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$ .

	Totale	Interna	Esterna
Perdita media (g)	0,74276	0,7794	0,7214
Deviazione standard	8,00%	7,21%	7,20%
Deviazione standard senza TC	4,95%	3,85%	5,43%

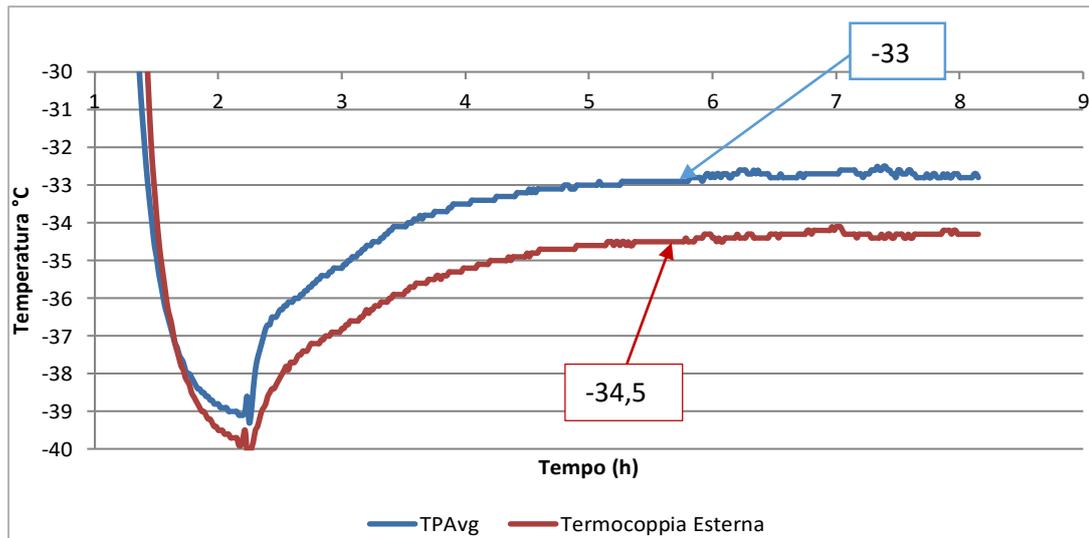
Anche in questo caso la differenza della perdita media di peso tra i flaconi esterni ed interni si mantiene piccola e pari a  $-0.058$  g. Inoltre, come si evince dalla Tab.4 i flaconi esterni della prova in esame perdono un minore quantitativo di ghiaccio se confrontati con la prova analizzata precedentemente. A tal proposito, bisogna tenere a mente che, il set-point inserito per la  $T_{ring}$  non è altro che la temperatura a cui si porta il fluido inviato al *LyoSim*. Nel caso di studio, la temperatura del fluido nell'anello è più bassa e, quindi,

l'anello raffredderà maggiormente i flaconi posizionati lungo il bordo, i quali, come conseguenza, perderanno un'inferiore frazione di acqua attraverso la sublimazione. Tale comportamento si osserva anche nelle temperature in quanto, come mostrato in Fig. 28, la curva della temperatura della termocoppia esterna si trova più in basso rispetto a quelle delle termocoppie poste in centro.



**Fig.28** Profilo di Temperatura delle termocoppie per una prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e  $Track\ Offset$  uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$ .

Le termocoppie interne presentano un profilo di temperatura sovrapposto mentre la temperatura esterna è, appunto, inferiore. Guardando nel dettaglio ciò che accade nella fase di essiccamento primario, è possibile vedere come, in questa prova, la temperatura esterna sia più bassa di circa  $1,5^{\circ}\text{C}$  rispetto alla temperatura media del prodotto,  $TP_{Avg}$  (Fig. 29):



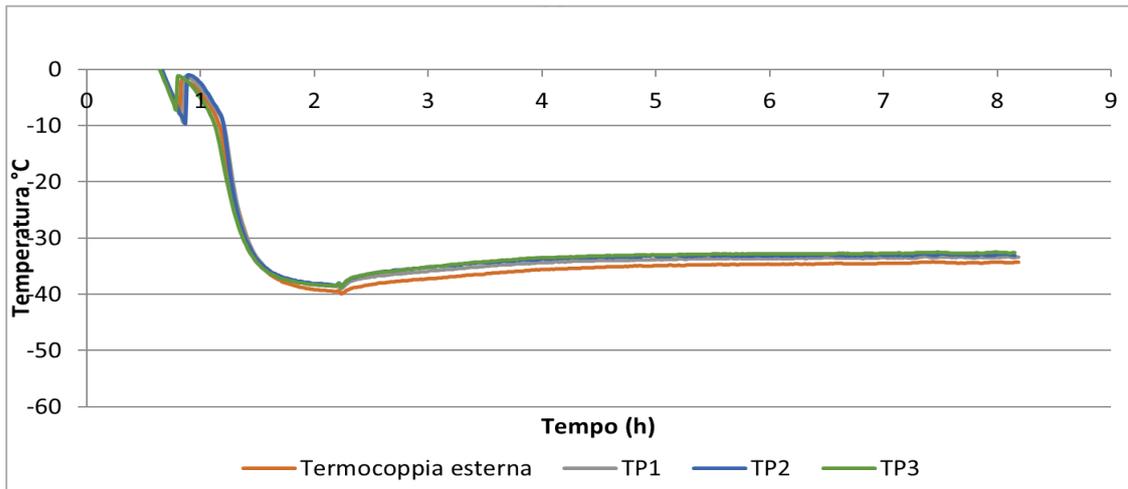
**Fig.29** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per una prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$ .

Per concludere questa analisi si esaminerà l'ultima prova della terna, nella quale si è impostata la  $T_{ring}$  pari a  $T_{av}-5^{\circ}\text{C}$ , (Tab.5):

**Tab.5** Perdita media e deviazione standard della prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

	Totale	Interna	Esterna
Perdita media (g)	0,71077	0,74099	0,69315
Deviazione standard	6,76%	4,34%	6,90%
Deviazione standard senza TC	5,94%	1,81%	6,82%

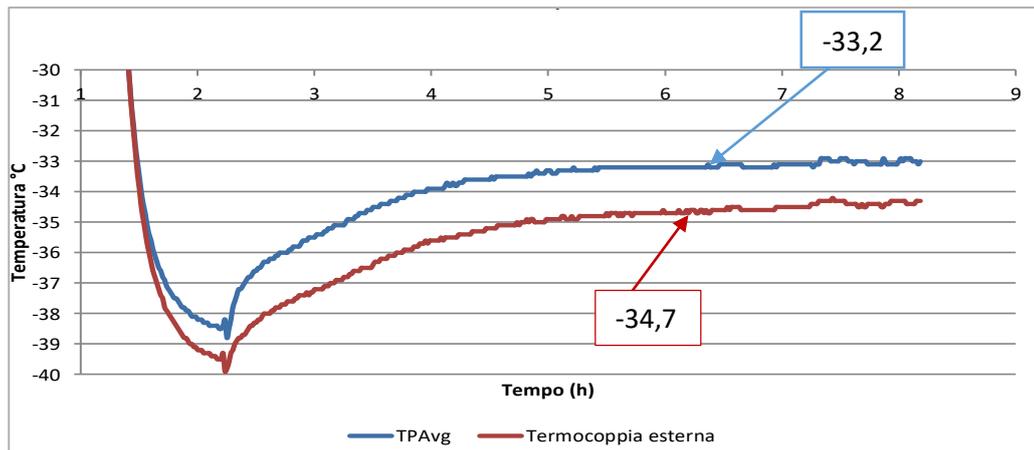
La prova risulta essere caratterizzata da una differenza tra le perdite medie esterne ed interne pari a  $-0.04784$  g, molto simile al caso precedente. La *Track Offset*, in questo caso, corrisponde al valore più basso fra le tre prove e, pertanto, l'anello riscalda ancor meno i flaconi esterni, con una perdita minore di ghiaccio per sublimazione. Le temperature, ancora una volta, confermano questo comportamento come mostrato in Fig. 30.



**Fig.30** Profilo di Temperatura delle termocoppie per la prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

La temperatura rilevata della termocoppia posta nel flacone sul bordo, infatti, è più bassa di quella rilevata delle termocoppie poste all'interno del lotto.

Nella fase dell'essiccamento primario la differenza di temperatura fra la  $TP_{Avg}$  e la temperatura della termocoppia esterna è pari, anche in questo caso, a  $1,5^{\circ}\text{C}$ , come è evidente dalla Fig. 31.



**Fig.31** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

A questi valori di temperatura dello *shelf* e di pressione in camera, impostati per l'essiccamento primario, la prova che risulta essere migliore, in termini di uniformità della temperatura e di  $\Delta m$ , è quella con  $T_{ring}$  pari a  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ .

### 3.1.2 Effetto della pressione $P_c$

Nel paragrafo precedente si sono mostrati i risultati relativi alla terna di prove condotte con una pressione in camera pari a 90 mTorr e una temperatura del ripiano pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ . In questo paragrafo, invece, lo scopo è di valutare cosa accade cambiando la pressione da 90 mTorr a 60 mTorr, mantenendo inalterata la temperatura  $T_{shelf}$ . Di seguito, sono riportati i risultati utilizzando nuovamente una soluzione al 10% in peso di saccarosio, per i due casi estremi di temperatura dell'anello *Lyosim*:

**Tab.6** Perdita media e deviazione standard della prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 60 mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

	Totale	Interna	Esterna
Perdita media (g)	0,739	0,739	0,740
Deviazione standard	4,25%	4,09%	4,5%
Deviazione standard senza TC	4,62%	5,63%	4,52%

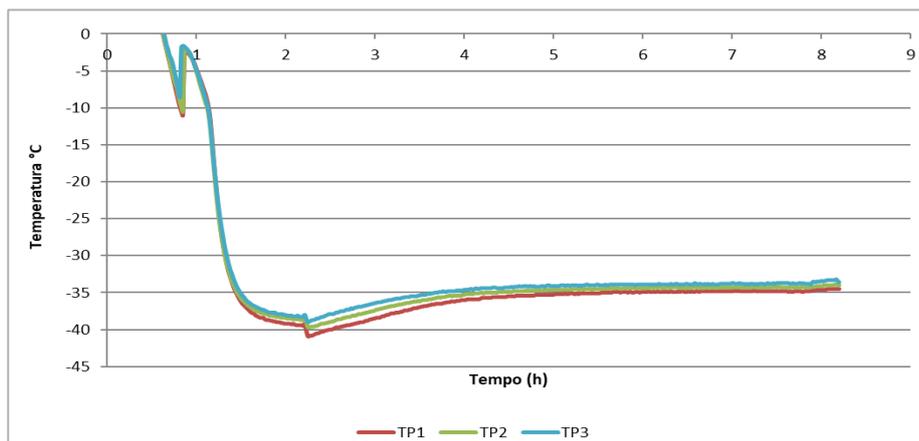
**Tab.7** Perdita media e deviazione standard della prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 60 mTorr e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

	Totale	Interna	Esterna
Perdita media (g)	0,685	0,691	0,682
Deviazione standard	6,28%	8,37%	5,02%
Deviazione standard senza TC	5,70%%	7,43%%	5,02%

Dalle due tabelle Tab.6 e Tab.7 è facile intuire che la prova con temperatura dell'anello pari a  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ , rispetto alla temperatura  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ , risulti essere ancora una volta la migliore garantendo un'ottima uniformità del *batch* in termini di perdita di peso. Infatti la

prova con *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$  presenta una più piccola deviazione standard totale delle perdite di peso medio, considerando sia quella che tiene conto dei flaconi contenenti le termocoppie sia quella che non ne tiene conto.

Anche i profili di temperatura delle tre termocoppie interne sono ben sovrapposti come mostrato in Fig. 35:



**Fig. 32** Profili di temperatura per una prova con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $P_c$  pari a 60 mTorr e *Track Offset* uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

### 3.1.3 Effetto della temperatura $T_{shelf}$

Le altre prove con soluzioni al 10% in peso di saccarosio sono state condotte con una temperatura del ripiano differente e più elevata, pari a  $0^{\circ}\text{C}$ . Si è osservato che, per queste prove, usando una temperatura di *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ , la differenza tra le perdite di peso medie tra i flaconi esterni ed interni è minore; tuttavia, le prove condotte con una temperatura del *LyoSim* pari a  $TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$ , presentano una minore deviazione standard totale della perdita di peso. Questo è vero, per entrambi i valori della pressione in camera.

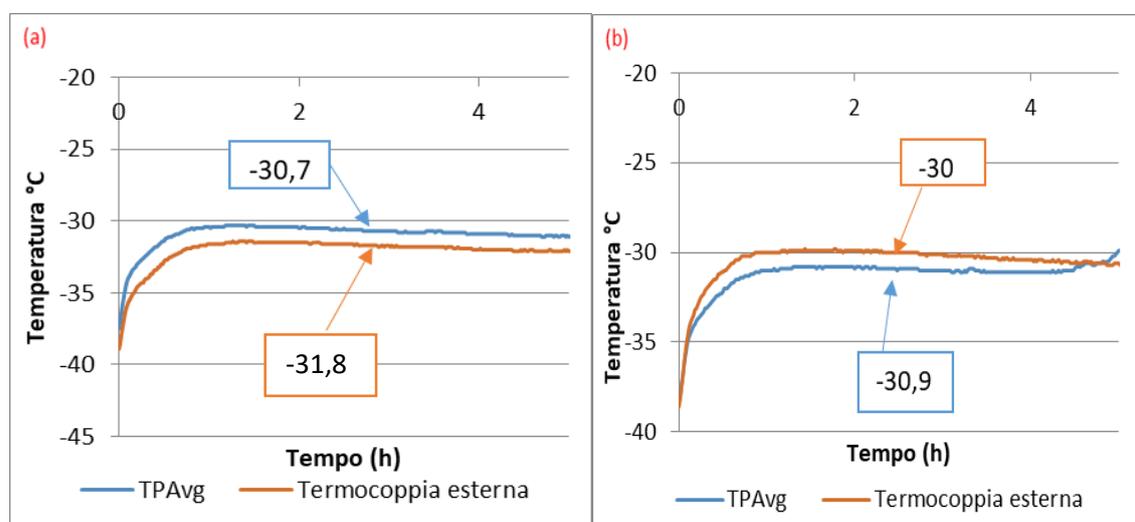
I risultati ottenuti per la pressione  $P_c$  di 90 mTorr e 60 mTorr sono riportati in Tab.8:

**Tab.8** Deviazione standard totale, senza TC, e  $\Delta m$  (g) con una  $P_c$  di 90 mTorr o 60 mTorr, e  $T_{shelf}$  pari a 0°C.

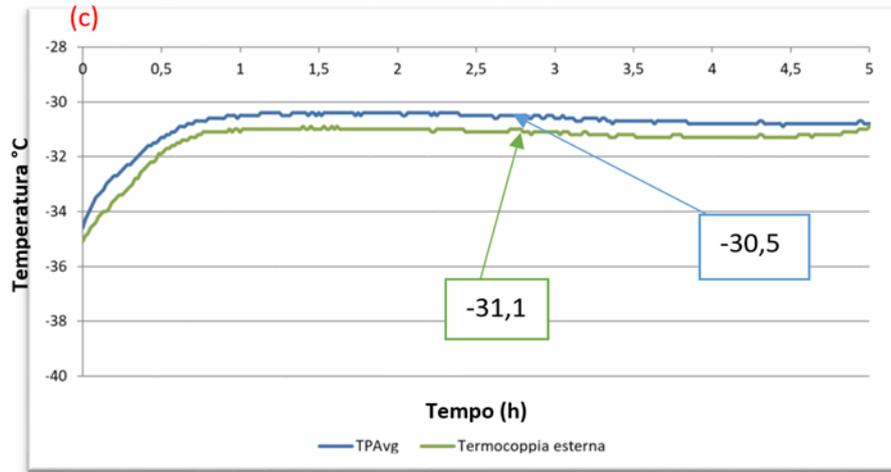
90 mTorr; 0°C	$TP_{Avg}$ -1°C	$TP_{Avg}$ -3°C	$TP_{Avg}$ -5°C
Deviazione STD totale senza TC	5,6%	3,4%	6,6%
$\Delta m$ (g) esterne-interne	-0,01925	-0,03905	-0,06491
60 mTorr; 0°C	$TP_{Avg}$ -1°C	$TP_{Avg}$ -3°C	$TP_{Avg}$ -5°C
Deviazione STD totale senza TC	6,7%	4,2%	5,03%
$\Delta m$ (g) esterne-interne	0,0039	-0,0542	-0,0972

Dai dati ottenuti si comprende che le deviazioni standard totali, a parità di pressione, risultano essere in realtà abbastanza simili fra loro al variare della temperatura dell'anello, anche se poco migliori nel caso di *Track Offset* pari a -3°C.

Di seguito sono mostrati i profili di temperatura nel caso di  $P_c$  pari a 90 mTorr (Fig. 37-38):

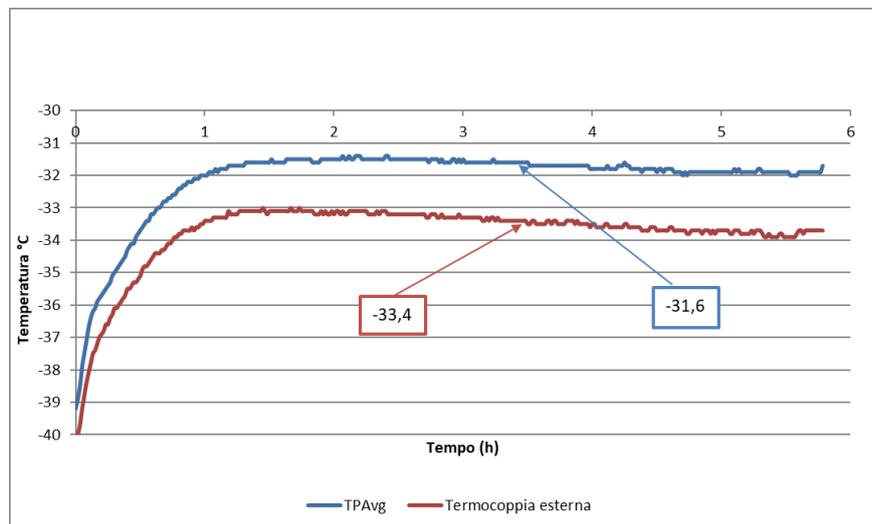


**Fig.33** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova al 10% di saccarosio, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a 0°C, e  $P_c$  pari a 90 mTorr e *Track Offset* uguale a: (a) -1°C; (b) -3°C.

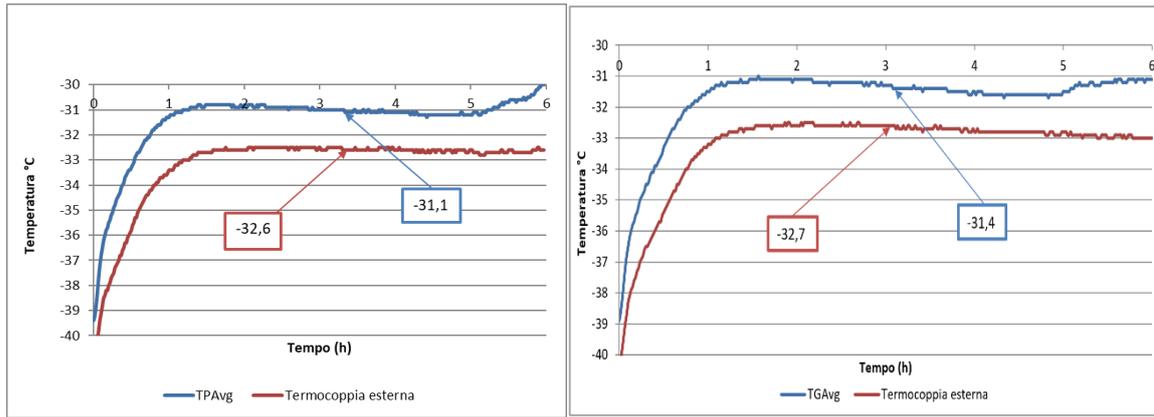


**Fig.34** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e  $Track\ Offset$  uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Guardando i profili di temperatura l'uniformità è ottimale con una temperatura dell'anello pari a  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ , infatti, in quest'ultimo caso il  $\Delta T$  fra le curve, guardando la fase stazionaria dell'essiccamento primario, è pari a  $0,6^{\circ}\text{C}$ . Negli altri due casi invece è pari a  $1,1^{\circ}\text{C}$  considerando un  $Track\ Offset$  pari a  $-1^{\circ}\text{C}$  e pari  $0,9^{\circ}\text{C}$  considerando un  $Track\ Offset$  pari a  $-5^{\circ}\text{C}$ . Il comportamento è analogo anche per una pressione in camera di  $60\text{ mTorr}$ ; di seguito i profili di temperatura:



**Fig.35** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $60\text{ mTorr}$  e  $Track\ Offset$  uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .



**Fig.36** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 60 mTorr e Track Offset uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$  (a sinistra) e  $-5^{\circ}\text{C}$  (a destra).

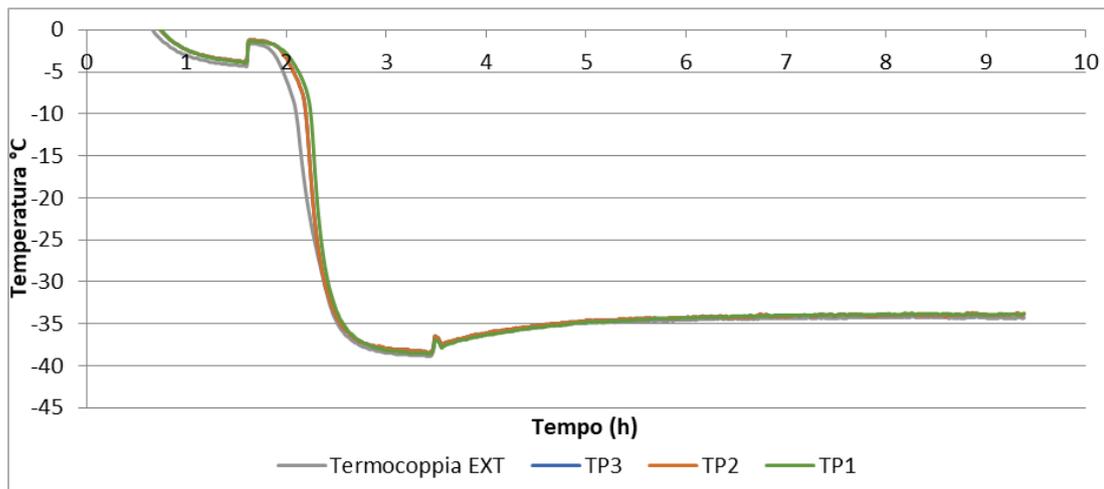
Come mostrato dalle Fig. 35-36, i profili di temperatura presentano un  $\Delta T$  pari a  $1,8^{\circ}\text{C}$  con un Track Offset di  $-1^{\circ}\text{C}$ ,  $1,5^{\circ}\text{C}$  quando la  $T_{ring}$  è  $TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$  e, infine,  $1,3^{\circ}\text{C}$  nel caso  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ . Anche in questo caso, una più evidente vicinanza dei profili si manifesta a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

In conclusione, con una temperatura del ripiano pari a  $0^{\circ}\text{C}$  la deviazione standard totale, senza considerare i flaconi contenenti le termocoppie, è essenzialmente indifferente al variare della Track Offset; guardando però i profili di temperatura, la condizione migliore è quella con Track Offset pari a  $-5^{\circ}\text{C}$ . In relazione a quale uniformità si scelga di prediligere, è possibile lavorare sia a  $-3^{\circ}\text{C}$  che a  $-5^{\circ}\text{C}$ , per entrambi i valori di pressione.

### 3.1.4 Effetto della nucleazione controllata

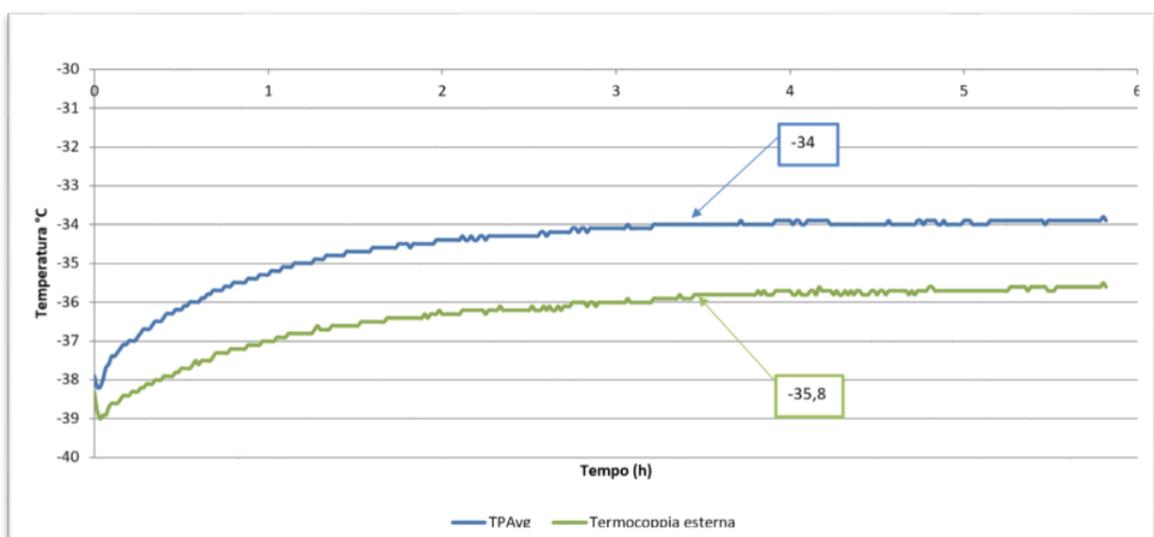
Le prove con una temperatura del ripiano pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , descritte nei paragrafi 3.1 e 3.1.2, sono state ripetute anche nella modalità *Optimize*, cioè in presenza di nucleazione controllata: ciò che si osserva è un miglioramento nell'uniformità degli andamenti di temperatura.

Nel caso, ad esempio, di una prova condotta con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ , gli andamenti di temperatura sono mostrati in Fig. 33:

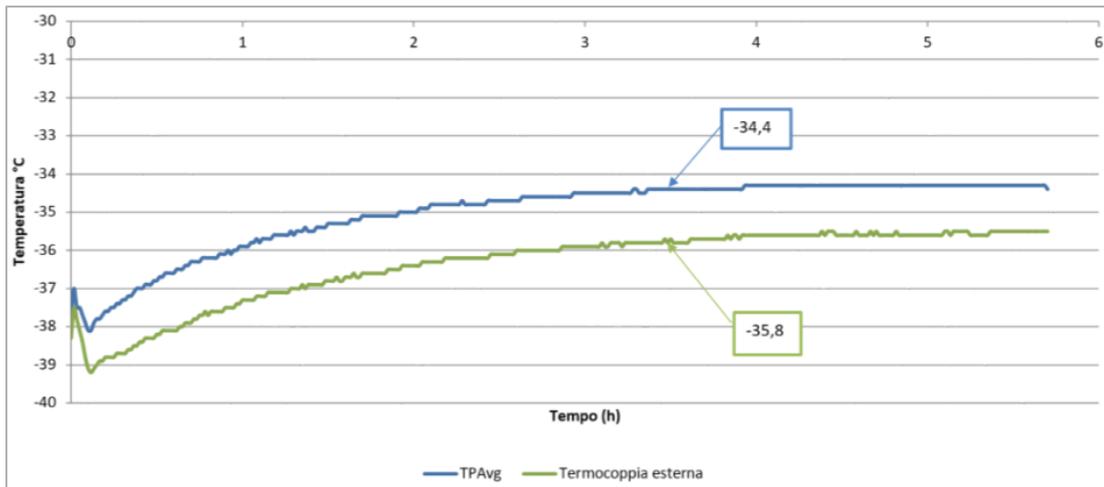


**Fig. 3** Profili di temperatura per una prova, in modalità Optimize con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

Come è evidente dalla Fig. 3, i profili di temperatura sono sovrapposti e la nucleazione avviene nello stesso momento e allo stesso valore di temperatura. Ciò, però, non può essere affermato per le altre due prove della solita terna: durante l'essiccamento primario, infatti, la temperatura media del prodotto  $TP_{Avg}$  (registrata dalle sole fiale contenenti le termocoppie più interne) e della termocoppia esterna, presentano una certa differenza di temperatura, più o meno marcata (Fig. 34 e Fig. 35).



**Fig. 34** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova, in modalità Optimize, con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e Track Offset uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$ .

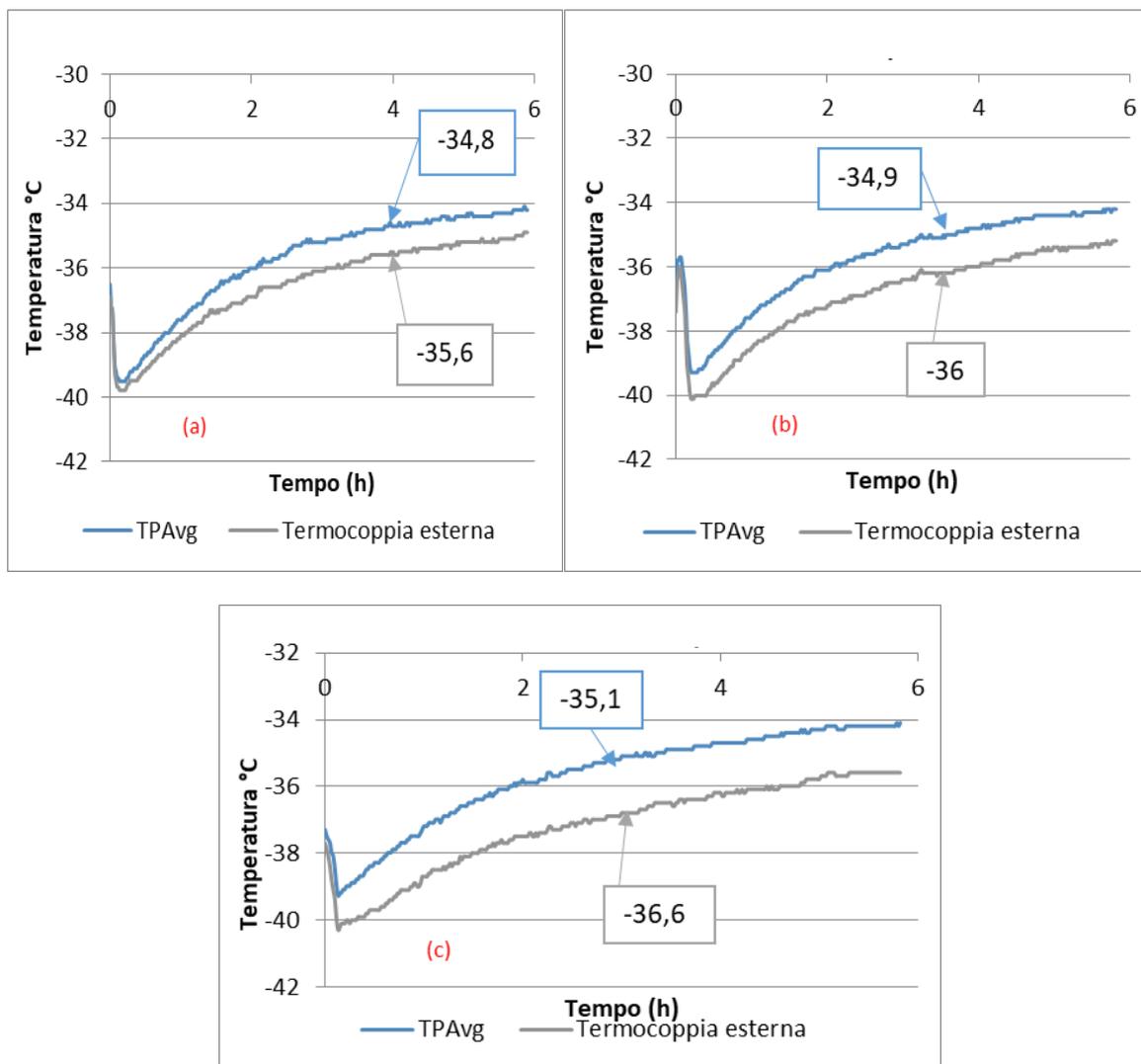


**Fig. 35** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova, in modalità Optimize, con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Tale differenza di temperatura nel caso di *Track Offset* pari a  $-3^{\circ}\text{C}$  è pari a  $1,8^{\circ}\text{C}$ , mentre, nell'altro caso a  $-5^{\circ}\text{C}$  è  $1,4^{\circ}\text{C}$ . Si evidenzia quindi che la nucleazione spontanea è soltanto una delle cause di disomogeneità del lotto; infatti, nonostante in queste prove sia stato inserito il fattore nucleazione controllata, le disomogeneità sulla temperatura permangono e sono causate, probabilmente, dalle condizioni di scambio termico che si realizzano all'interno dell'apparecchiatura.

Per ciò che riguarda la differenza della perdita di peso media tra i flaconi esterni ed interne, essa ha i seguenti valori nelle tre prove: 0,028 g nel caso a  $-1^{\circ}\text{C}$ , 0,032 g a  $-3^{\circ}\text{C}$  e, infine, 0,073 g a  $-5^{\circ}\text{C}$ . Pertanto, anche stavolta, la prova con *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$  si conferma la migliore sia dal punto di vista dell'uniformità della temperatura che della perdita di peso media.

La medesima affermazione la si può fare, cambiando la pressione da 90 a 60 mTorr:



**Fig.36** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova al 10% di saccarosio, in modalità Optimize, con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 60 mTorr e Track Offset uguale a: (a) -1; (b) -3; (c) -5

In Fig. 36 sono rappresentate le misure delle temperature nelle fasi di essiccamento per le tre prove in esame: nel caso di *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$  la differenza di temperatura è circa  $0,8^{\circ}\text{C}$ , mentre, negli altri due casi, è poco maggiore di  $1^{\circ}\text{C}$ . Per ciò che riguarda la deviazione standard totale della perdita di peso (senza considerare i flaconi contenenti le quattro termocoppie), i valori sono 5,3%, 6,5% e 5,9% rispettivamente per le prove a  $-1^{\circ}\text{C}$ ,  $-3^{\circ}\text{C}$  e  $-5^{\circ}\text{C}$ . La deviazione standard totale risulta essere più piccola nel caso di *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ , comportamento in accordo con l'andamento di temperatura nel medesimo caso.

### 3.2 Effetto del soluto: prove con Mannitolo

Le condizioni operative utilizzate per il mannitolo sono diverse da quelle viste per il saccarosio, poiché durante la fase di congelamento, quando la soluzione cristallizza, si può avere rottura dei flaconi. In queste prove, dunque, è stata applicata la tecnica dell'*annealing*, cioè un ciclo di raffreddamento, fino a  $-40^{\circ}\text{C}$ , successivo riscaldamento (fino a  $-15^{\circ}\text{C}$ , con mantenimento per due ore) e, raffreddamento fino a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

Le condizioni operative in camera, durante l'essiccamento primario, sono state consigliate dalla Millrock Technology, e sono state impostate per avere una pressione di 100 mTorr o 200 mTorr e una temperatura del ripiano di  $0^{\circ}\text{C}$  o  $10^{\circ}\text{C}$ .

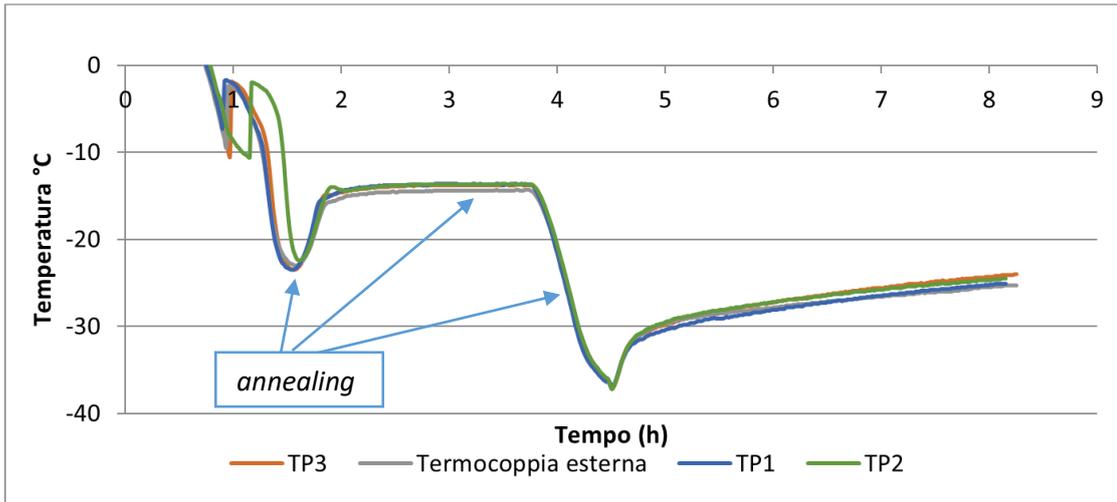
Il mannitolo è noto per poter essere processato a temperature superiori rispetto al saccarosio, in queste condizioni di temperatura, alta pressione e bassa concentrazione di soluto (5%), la sublimazione è quindi ancor più favorita. Ad esempio, per le terne condotte con temperatura del ripiano pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , si ottengono i seguenti risultati (Tab.9), per i due diversi valori di pressione:

**Tab.9** Deviazione standard totale senza TC per prove al 5% in peso di mannitolo, in modalità Analyze, con una  $P_c$  di 100 mTorr o 200 mTorr,  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$  e temperatura del Lyosim uguale a  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ ,  $TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$ ,  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ .

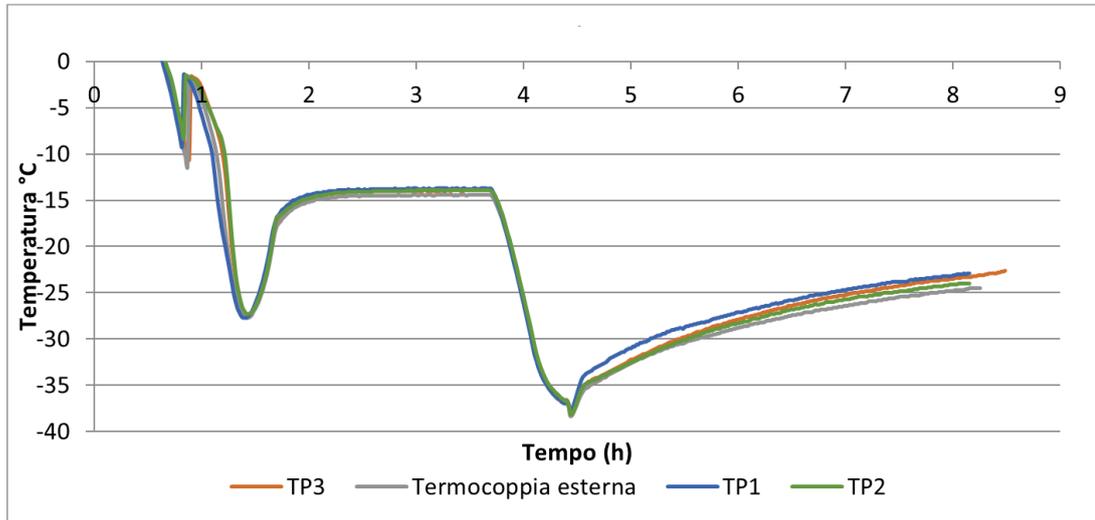
100 mTorr; $0^{\circ}\text{C}$	$TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$	$TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$	$TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$
Deviazione STD totale senza TC	3,86%	3,58%	4,3%
200 mTorr; $0^{\circ}\text{C}$	$TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$	$TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$	$TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$
Deviazione STD totale senza TC	7,2%	4%	7,2%

Guardando la tabella possono essere tratte le prime conclusioni: le deviazioni standard, a parità di pressione in camera, sono molto simili fra loro al variare della temperatura dell'anello.

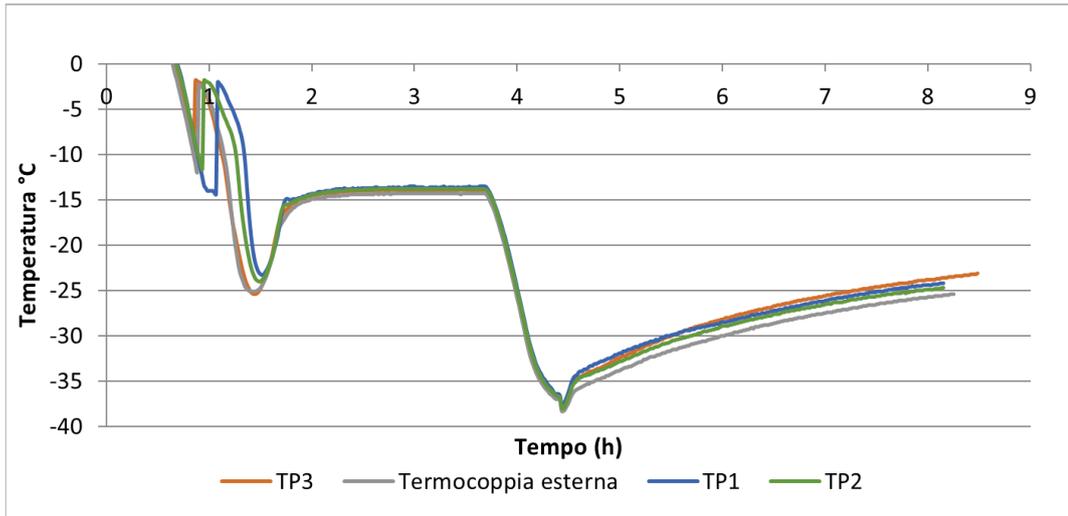
I profili di temperatura per una  $P_c$  di 100 mTorr sono illustrati in Fig. 37-38-39:



**Fig. 37** Profili di temperatura per una prova al 5% di mannitolo, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 100 mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .



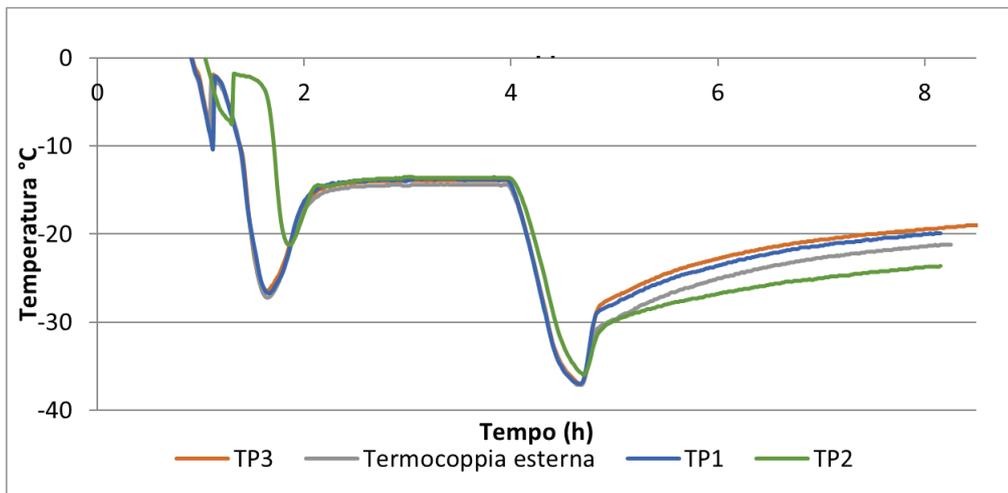
**Fig. 38** Profili di temperatura per una prova al 5% di mannitolo, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 100 mTorr e Track Offset uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$ .



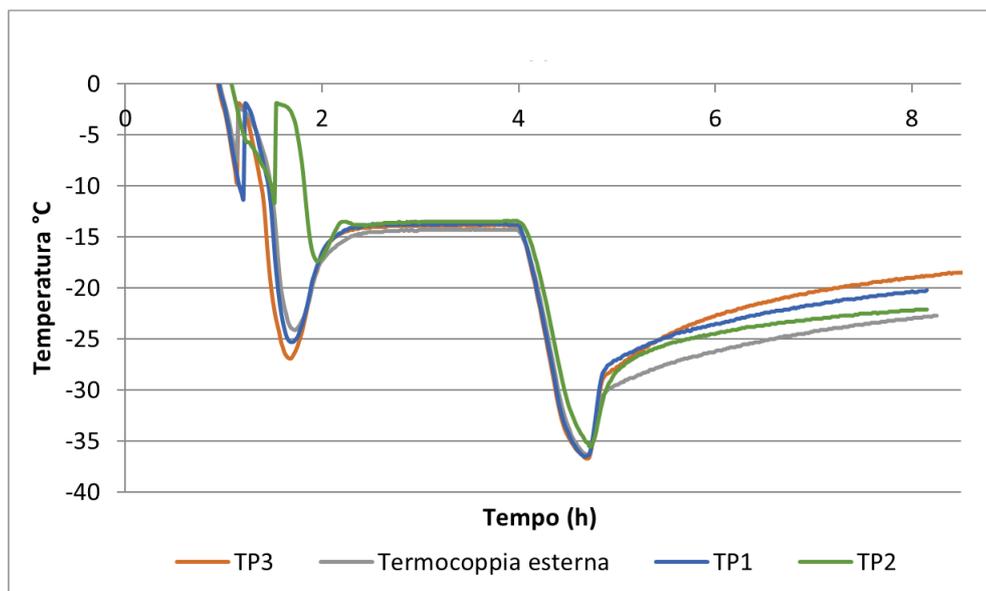
**Fig. 39** Profili di temperatura per una prova al 5% di mannitolo, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 100 mTorr e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

In tutti e tre i profili di temperatura è evidente la fase dell'*annealing*, segnalata in Fig. 37. Questi profili, mostrano una buona uniformità della temperatura in tutti e tre i casi, in particolare nel caso di *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

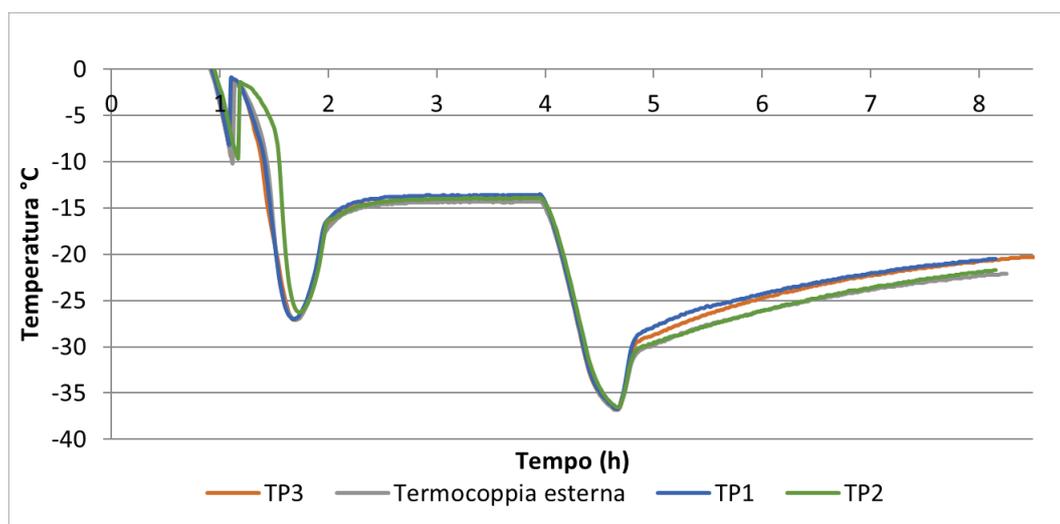
I profili, invece, per una  $P_c$  di 200 mTorr sono illustrati di seguito (Fig. 40-41-42):



**Fig.40** Profili di temperatura per una prova al 5% di mannitolo, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 200 mTorr e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .



**Fig.41** Profili di temperatura per una prova al 5% di mannitolo, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 200 mTorr e Track Offset uguale a  $-3^{\circ}\text{C}$ .



**Fig. 42** Profili di temperatura per una prova al 5% di mannitolo, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 200 mTorr e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Dalla Tab.9 si può dedurre che, la deviazione standard più piccola è quella con *Track Offset* pari a  $-3^{\circ}\text{C}$  ma, i profili di temperatura relativi a questa prova, non sono particolarmente uniformi. Negli altri due casi la deviazione standard totale della perdita di peso, considerata eliminando dal calcolo le perdite di peso relative ai quattro flaconi contenenti termocoppie, è molto simile e leggermente più elevata rispetto al valore di *Track Offset* pari a  $-3^{\circ}\text{C}$  e guardando i profili di temperatura, quello con una temperatura dell'anello pari a  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$

risulta essere il migliore. Pertanto, l'ultimo caso è quello più idoneo, per avere una maggiore uniformità in entrambi i parametri di interesse.

Per quanto riguarda la temperatura del ripiano pari a 10°C, in queste prove si realizza una deviazione standard totale delle perdite di peso molto simile al variare del *Track Offset*, mentre, i profili di temperatura migliori si ottengono con una temperatura dell'anello pari a  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ . Quanto affermato è verificato per entrambi i valori di pressione in camera.

### 3.3 Analisi dei dati

Nei paragrafi precedenti sono stati descritti i diversi effetti che influenzano il processo di liofilizzazione all'interno del *MicroFD*. Al variare dei valori di temperatura del ripiano e della pressione in camera è possibile valutare il flusso sublimativo. Analizzando le prove sperimentali è possibile distinguere valori bassi del flusso sublimativo, pari a 0,3 kg/h·m<sup>2</sup>, valori intermedi e pari a 0,55-0,65 kg/h·m<sup>2</sup> e, infine, valori più elevati e superiori a 0,7 kg/h·m<sup>2</sup>.

Le condizioni in cui si realizza un basso valore del flusso sublimativo sono, ad esempio, una pressione in camera pari a 60 mTorr e temperatura del ripiano pari a -20°C, oppure, 90 mTorr e -20°C, processando saccarosio. Infatti, in tali condizioni operative, con soluzioni al 10% in peso di saccarosio, il flusso sublimativo è attorno a 0,3 kg/h·m<sup>2</sup>. Bassi valori del flusso sublimativo richiedono, generalmente, delle temperature dell'anello più alte e, quindi, un *Track Offset* minore e pari a -1°C. Raffreddamenti eccessivi dell'anello non portano buoni risultati in termini di uniformità del *batch*, poiché le condizioni di lavoro adottate sono più sfavorevoli per la sublimazione rispetto ad altre. A questo proposito, è evidente l'importante funzione dell'anello: esso, infatti, simula un'ulteriore fila di flaconi, agendo come un *heat sink*. Pertanto, come mostrato nei paragrafi precedenti, nelle condizioni di lavoro sopra citate, la temperatura dell'anello che realizza una migliore uniformità del *batch* è effettivamente  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ .

Considerando i valori del flusso sublimativo intermedi, questi si realizzano per soluzioni al 10% in peso di saccarosio quando la temperatura del ripiano è pari a 0°C e la pressione in camera è 60 o 90 mTorr, oppure per soluzioni al 5% in peso di mannitolo quando la temperatura è 0°C e la pressione 100 mTorr. In queste prove la deviazione standard totale della perdita di peso, senza considerare i flaconi contenenti le termocoppie, è abbastanza

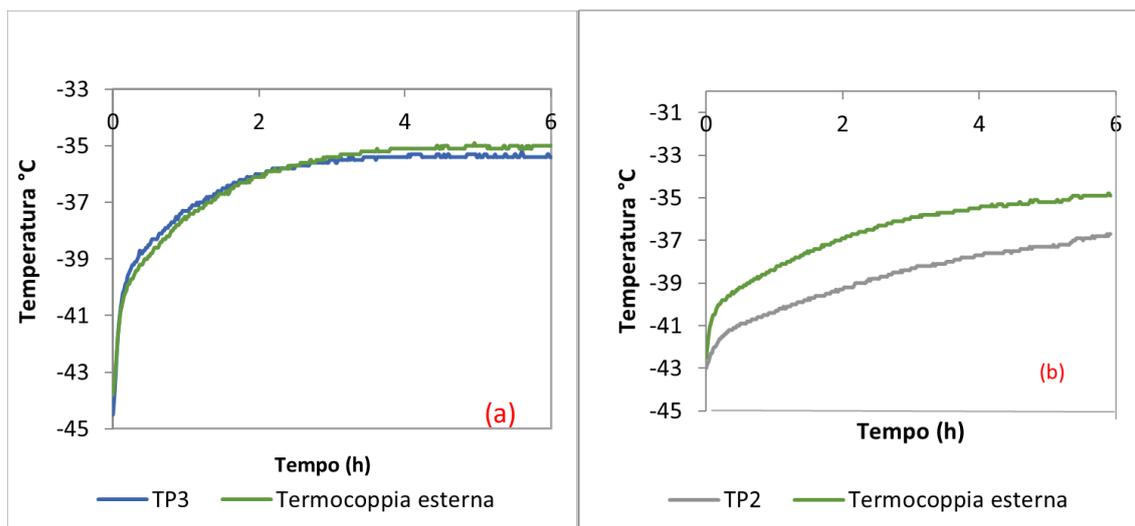
indifferente al variare della temperatura dell'anello. Tuttavia i profili di temperatura non mostrano il medesimo comportamento: per soluzioni contenenti saccarosio, infatti, la temperatura più idonea da scegliere per l'anello è pari a  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ , mentre per il mannitolo è pari a  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ . Pertanto, per valori del flusso sublimativo intermedi non è stato possibile identificare delle condizioni univoche per ottenere uniformità del lotto.

Infine, i valori più elevati del flusso si realizzano per soluzioni al 5% in peso di mannitolo e nelle condizioni di temperatura e pressione pari rispettivamente a  $0^{\circ}\text{C}$  e 200 mTorr. In questo caso, si è osservato come l'anello debba essere maggiormente raffreddato per ottenere una buona uniformità delle perdite di peso e delle temperature; pertanto, la temperatura più idonea dell'anello è  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ . Nelle condizioni di temperatura e pressione scelti per condurre l'essiccamento primario, la sublimazione è maggiormente favorita poiché la temperatura del ripiano e la pressione in camera sono più elevati, pertanto l'anello dovrà essere più freddo per garantire omogeneità in entrambi i campi tenendo conto che anche i flaconi più esterni ricevono più calore dal basso.

Infine, nelle condizioni operative pari a  $10^{\circ}\text{C}$  e 100 o 200 mTorr, processando mannitolo, si realizzano flussi molto elevati, superiori addirittura a  $0,9\text{ kg/h}\cdot\text{m}^2$  e anche in questi casi, come visto nel precedente paragrafo, le deviazioni standard delle perdite di peso sono indifferenti, ma la temperatura dell'anello che realizza una buona uniformità delle temperature è  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ .

Quanto detto finora viene confermato andando a considerare i risultati ottenuti processando soluzioni al 5% in peso di saccarosio, e presentati in un precedente lavoro di Tesi.

Un esempio al 5% è il caso di una terna di prove condotte a 60 mTorr e  $-20^{\circ}\text{C}$ : in questo caso si ha un flusso sublimativo circa pari a  $0,3\text{ kg/m}^2\cdot\text{h}$  la deviazione standard totale della perdita di peso, privata dei flaconi contenenti le termocoppie, è piccola e pari a 5,8% nel caso a  $-1^{\circ}\text{C}$ ; nel caso a  $-5^{\circ}\text{C}$ , invece, è pari a 9,8%. Anche i profili di temperature, registrati dalle termocoppie, danno un'ulteriore conferma di questo comportamento, come mostrato nelle Fig. 43 (a) e (b):



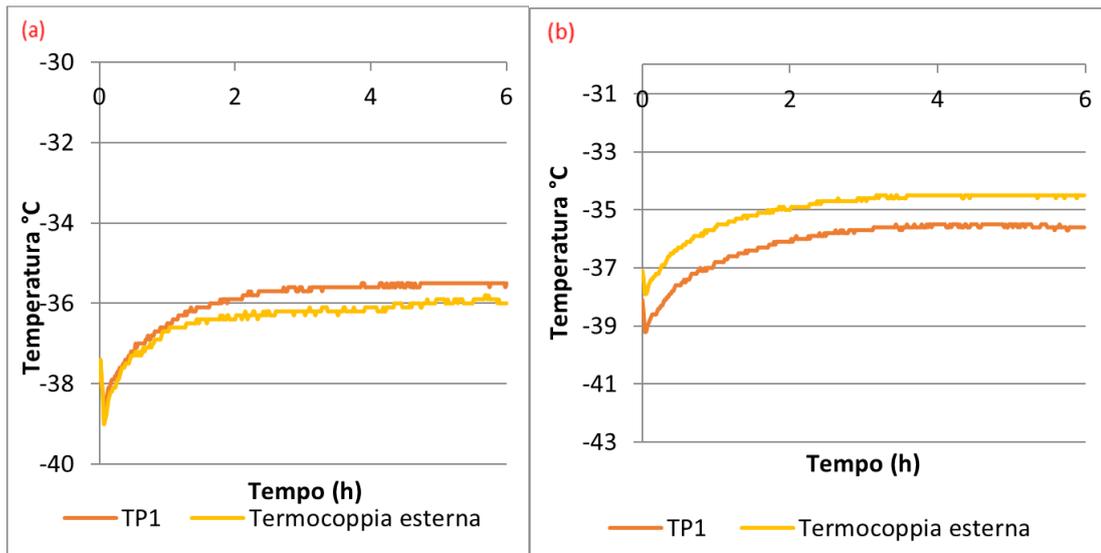
**Fig. 43** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova al 5% di saccarosio, in modalità *Analyze*, con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 60 mTorr e *Track Offset* uguale a: (a)  $-1^{\circ}\text{C}$ ; (b)  $-5^{\circ}\text{C}$ .

I profili di temperatura, misurati da una termocoppia in un flacone esterno e da una termocoppia in un flacone interno, sono praticamente sovrapposti nel caso di *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ , mentre nel caso a  $-5^{\circ}\text{C}$  vi è un  $\Delta T$  (di circa  $3^{\circ}\text{C}$ ) fra le due curve.

Un altro esempio con soluzione al 5% in peso di saccarosio, 90 mTorr e  $-20^{\circ}\text{C}$ . Anche in questo caso si ha un flusso sublimativo medio pari a  $0,3 \text{ kg/m}^2\cdot\text{h}$  e la temperatura più idonea dell'anello è pari a  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ , come dimostrano la Tab.10 e le Fig. 44.

**Tab.10** Deviazione standard totale senza le termocoppie per una prova al 5% di saccarosio, in modalità *Optimize*, con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e *Track Offset* uguale a  $-1^{\circ}$ ,  $-3^{\circ}$  o  $-5^{\circ}\text{C}$ .

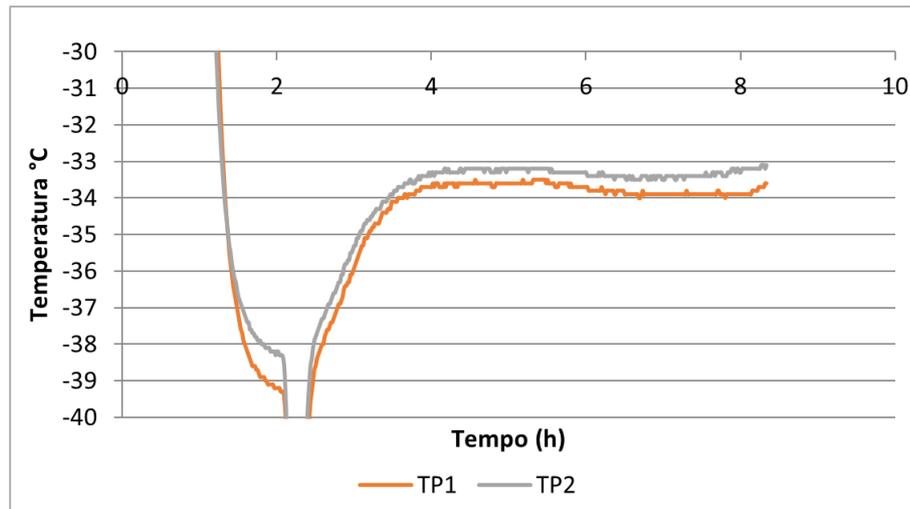
Deviazione standard totale senza le termocoppie	
$TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$	3,40%
$TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$	10,61%
$TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$	5,87%



**Fig.44** Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova al 5% di saccarosio, in modalità Optimize, con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a 90 mTorr e Track Offset uguale a: (a)  $-1^{\circ}\text{C}$ ; (b)  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Con Track Offset pari a  $-1^{\circ}\text{C}$  la differenza di temperatura tra le due curve è di  $0,4^{\circ}\text{C}$ , mentre con Track Offset pari a  $-5^{\circ}\text{C}$  tale differenza è di  $1,1^{\circ}\text{C}$ . I trend attesi e verificati nelle soluzioni al 10% in peso vengono nuovamente verificati e, quindi, danno un'ulteriore conferma di quanto ipotizzato.

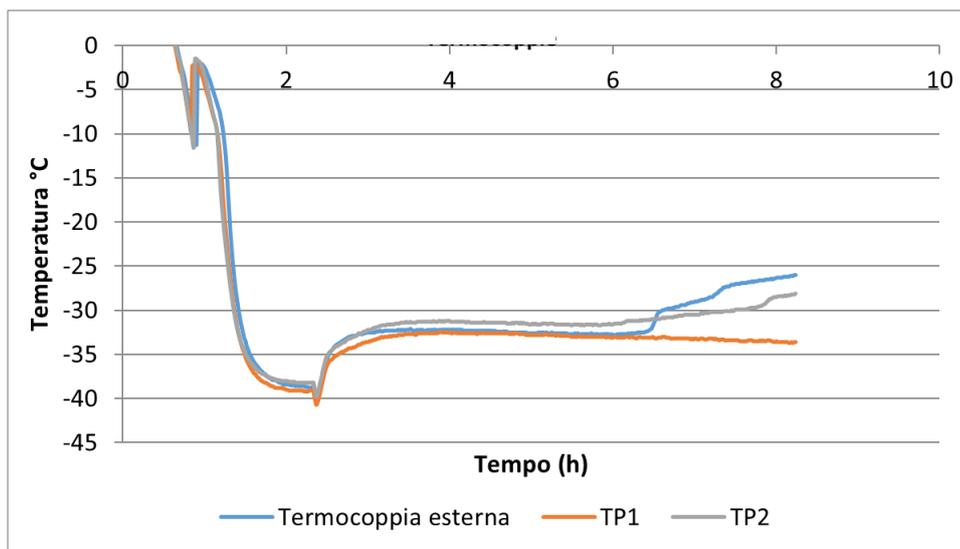
Valori intermedi del flusso di sublimazione si ripresentano ad esempio in prove condotte con temperatura del ripiano pari a  $0^{\circ}\text{C}$  e pressione in camera pari a 60 mTorr, nelle quali si è ottenuta una deviazione standard totale (senza considerare i flaconi con le termocoppie) praticamente indifferente al variare della temperatura dell'anello. Infatti, per Track Offset pari a  $-1^{\circ}\text{C}$  la deviazione standard è 4,7%, mentre negli altri due casi è 4,62% (per  $-3^{\circ}\text{C}$ ) e 3,4% (per  $-5^{\circ}\text{C}$ ). I profili di temperatura, invece, sono migliori nel caso a  $-5^{\circ}\text{C}$ , con una differenza di temperatura pari a  $0,4^{\circ}\text{C}$  come mostrato in Fig. 45:



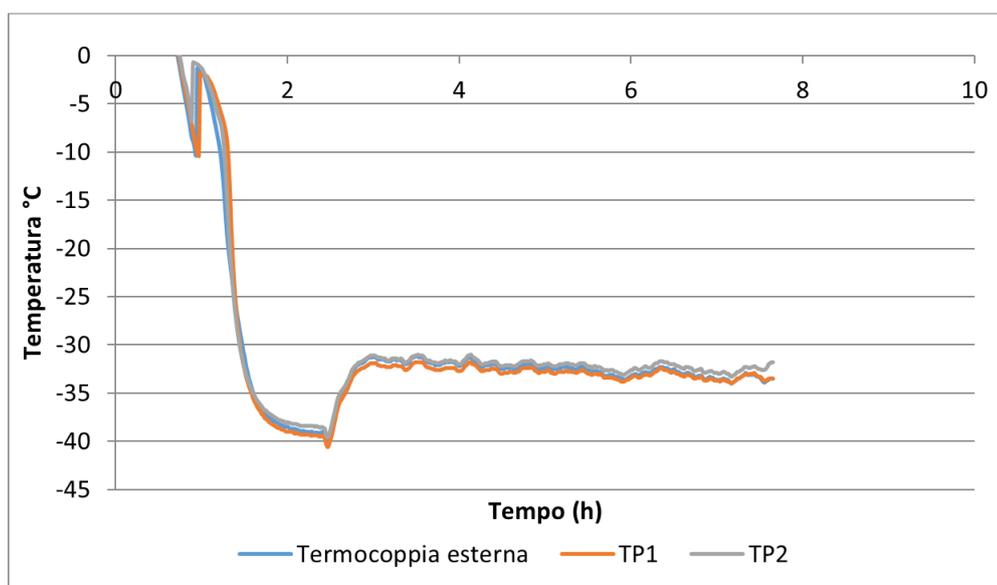
**Fig. 45** Profili di temperatura per una prova al 5% di saccarosio, in modalità *Analyze*, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $60\text{ mTorr}$  e *Track Offset* uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Infine, valori più elevati del flusso si presentano nel caso di temperatura del ripiano pari a  $0^{\circ}\text{C}$  e pressione in camera di  $90\text{ mTorr}$ . In queste prove si osserva il medesimo comportamento delle soluzioni al 10% in saccarosio con elevato flusso sublimativo; infatti, la temperatura dell'anello da scegliere, per avere uniformità è pari a  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$ . La deviazione standard della perdita di peso totale (senza termocoppie) a questa temperatura dell'anello è pari a 3,5%, contro il 4,3% nella prova con  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ . Anche i valori di  $\Delta m$  confermano quanto detto, con risultato pari a  $-0,0165\text{ g}$  nel primo caso, cioè a  $-5^{\circ}\text{C}$  e  $0,109\text{ g}$  nel secondo caso, cioè a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

I profili di temperatura sono mostrati in Fig. 46-47:



**Fig.46** Profili di temperatura per una prova al 5% di saccarosio, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e Track Offset uguale a  $-1^{\circ}\text{C}$ .



**Fig. 47** Profili di temperatura per una prova al 5% di saccarosio, in modalità Analyze, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^{\circ}\text{C}$ , e  $P_c$  pari a  $90\text{ mTorr}$  e Track Offset uguale a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Anche in questo caso è evidente che con Track Offset pari a  $-5^{\circ}\text{C}$ , si ottengono le condizioni di uniformità.

### 3.4 Valutazione del flusso di calore proveniente dallo *shelf*

In questo paragrafo verrà valutata la percentuale di calore proveniente dal ripiano riscaldante  $Q_{shelf}$  rispetto al calore totale, cioè  $\%Q_{shelf}$ , utilizzando l'equazione (4), vista nel secondo capitolo. Il quantitativo di calore proveniente dal ripiano, aumenta all'aumentare della temperatura dello *shelf*; pertanto, per valori del flusso di sublimazione più elevati ci si aspetta dei valori altrettanto elevati della  $\%Q_{shelf}$ .

Per valori bassi del flusso di sublimazione, i dati sono riportati in Tab.11:

**Tab.11** Percentuale di  $Q_{shelf}$  per prove al 10% in peso di saccarosio per prove sperimentali in diverse condizioni operative.

$\%Q_{shelf}$					
-20°C e 90 mTorr			-20°C e 60 mTorr		
$TP_{Avg-1^\circ C}$	$TP_{Avg-3^\circ C}$	$TP_{Avg-5^\circ C}$	$TP_{Avg-1^\circ C}$	$TP_{Avg-3^\circ C}$	$TP_{Avg-5^\circ C}$
52,7%	52,7%	56,4%	36,3%	56,7%	47,4%

Dalla Tab. è possibile vedere come a differenti pressioni, ma pari temperatura del ripiano, i valori della  $\%Q_{shelf}$  non cambiano eccessivamente, fatta eccezione per il caso con  $TP_{Avg-1^\circ C}$  e pressione di 60 mTorr. È un valore anomalo confrontato con gli altri, ma probabilmente causato da errori sperimentali, in quanto i valori di  $\%Q_{shelf}$  sono dipendenti anche dal corretto funzionamento delle termocoppie.

Nel caso di valori intermedi per i flussi di sublimazione si ottengono, invece, i seguenti risultati in Tab.12:

**Tab.12** Percentuale di  $Q_{shelf}$  per prove al 10% in peso di saccarosio per prove sperimentali in diverse condizioni operative.

$\%Q_{shelf}$					
0°C e 90 mTorr			0°C e 60 mTorr		
$TP_{Avg-1^\circ C}$	$TP_{Avg-3^\circ C}$	$TP_{Avg-5^\circ C}$	$TP_{Avg-1^\circ C}$	$TP_{Avg-3^\circ C}$	$TP_{Avg-5^\circ C}$
52%	57%	65,5%	46%	59%	47%

I valori sono mediamente più elevati poiché la temperatura del ripiano è maggiore, rispetto al caso precedente.

Infine, i valori di  $\%Q_{shelf}$  ottenuti con il mannitolo sono mostrati in Tab.13:

**Tab.13** Percentuale di  $Q_{shelf}$  per prove al 10% in peso di saccarosio per prove sperimentali in diverse condizioni operative.

% $Q_{shelf}$					
0°C e 100 mTorr			0°C e 200 mTorr		
$TP_{Avg-1^{\circ}C}$	$TP_{Avg-3^{\circ}C}$	$TP_{Avg-5^{\circ}C}$	$TP_{Avg-1^{\circ}C}$	$TP_{Avg-3^{\circ}C}$	$TP_{Avg-5^{\circ}C}$
62,4%	52%	47,6%	64,7%	56,4%	74%

Nel paragrafo precedente si è mostrato come le condizioni di 0°C e 100 mTorr, dessero luogo a un flusso sublimativo intermedio e, questo, si rispecchia anche nelle percentuali di calore proveniente dal ripiano. I valori, infatti, sono molto simili al caso precedente. Infine, i valori relativi alle condizioni a 200 mTorr, essendo svolti a 0°C, non dovrebbero essere troppo differenti dai risultati finora visti alla medesima temperatura del ripiano, nonostante il flusso sublimativo mostri valori ben più elevati. Tuttavia questo è vero solo nel caso di una temperatura dell'anello pari a  $TP_{Avg-3^{\circ}C}$ .

### 3.5 Parametri caratteristici di processo: $K_v$ e $R_p$

Il coefficiente effettivo di scambio termico è influenzato da tre fattori: la tipologia del flacone, la pressione in camera e infine, dalle condizioni di riscaldamento. A parità di questi tre fattori, il coefficiente di scambio deve mantenersi costante. In Tab.14 sono riportati i valori di  $K_v$  per le prove con soluzioni acquose al 10% in peso di saccarosio, nelle diverse condizioni operative.

**Tab.14** Risultati per il  $K_v$  gravimetrico, in diverse condizioni operative, per soluzioni al 10% di saccarosio.

$K_v$ gravimetrico ( $W/m^2 \cdot K$ )	-1 (10%)	-3 (10%)	-5 (10%)
-20°C 90mtorr	21,02	21,3	20,7
0°C 90mTorr	20,08	19,08	19
-20°C 60mTorr	17,3	17,3	17,2
0°C 60mTorr	17,6	16,05	16

Dalla Tab.14 è possibile affermare che il comportamento atteso è mediamente rispettato considerando che i dati ottenuti sono affetti da un certo errore dovuto all'incertezza di calcolo dell'integrale con cui vengono calcolati i  $K_v$  gravimetrici. Nonostante ciò, a pari valori di pressione, i valori di  $K_v$  sono molto simili fra loro.

La pressione in camera, inoltre, influenza i valori di  $K_v$  traducendosi in valori più bassi a pressioni più basse, indicano un peggioramento nello scambio termico tra il prodotto e lo *shelf*.

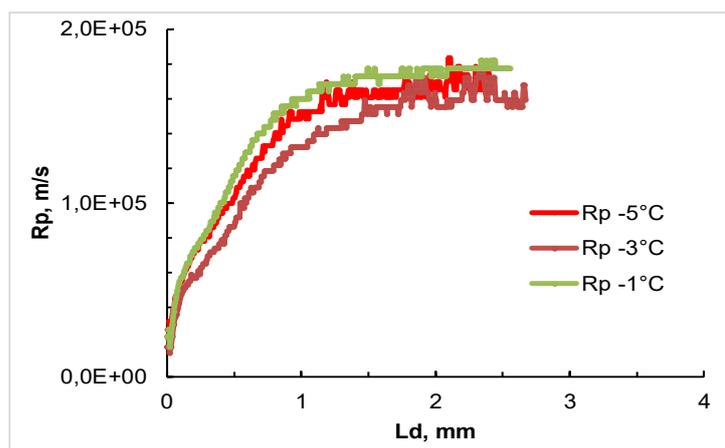
Anche per le prove condotte in presenza di mannitolo sono stati calcolati i  $K_v$  gravimetrici. In Tab.15 sono riportati i risultati.

**Tab.15** Risultati per il  $K_v$  gravimetrico, in due diverse condizioni operative, per soluzioni al 5% di mannitolo.

$K_v$ gravimetrico (W/m <sup>2</sup> *K)	-1 (5%)	-3 (5%)	-5 (5%)
0°C 100 mTorr	20,3	20,9	20,9
0°C 200 mTorr	30,2	30,2	27,7

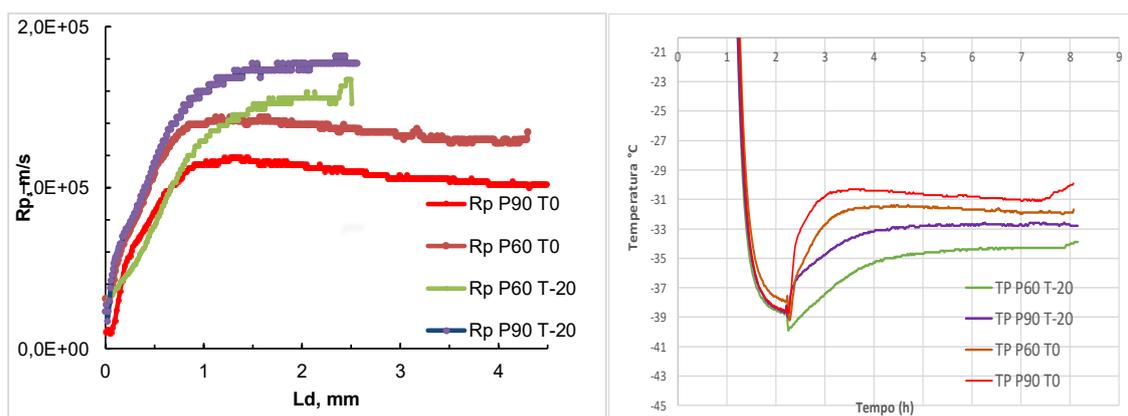
Anche in questo caso, a pari pressioni,  $K_v$  non varia apprezzabilmente e come è giusto aspettarsi, nella prova sperimentale condotta a 0°C e 200 mTorr si ottengono i risultati più elevati.

Noti i valori del coefficiente  $K_v$ , è possibile ricavare le curve del coefficiente  $R_p$  vs  $L_{dried}$  per diverse condizioni operative come, ad esempio,  $T_{shelf}$  pari a -20°C e  $P_c$  pari a 90 mTorr e con i tre diversi valori di *Track Offset* (Fig. 49):



**Fig.49** Confronto dei coefficienti di resistenza  $R_p$  in funzione dello strato essiccato  $L_{dried}$ , nelle prove con  $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$  e  $P_c = 90 \text{ mTorr}$ , e  $T_{ring}$  variabile.

Le tre curve risultano quasi sovrapposte, ad indicare che la temperatura dell'anello laterale non influenza particolarmente il coefficiente di resistenza  $R_p$ , come è giusto aspettarsi dato che in tutte e tre le prove il prodotto si mantiene al di sotto della sua temperatura di collasso  $T_c$ , pari a  $-32^\circ\text{C}$  nel caso del saccarosio, come è possibile verificare guardando la temperatura media del prodotto nei grafici riportati precedentemente. Si mostra di seguito un confronto di due condizioni operative, invece, fra loro completamente differenti mantenendo costante la temperatura dell'anello  $TP_{Avg} = -1^\circ\text{C}$  (Fig. 50):



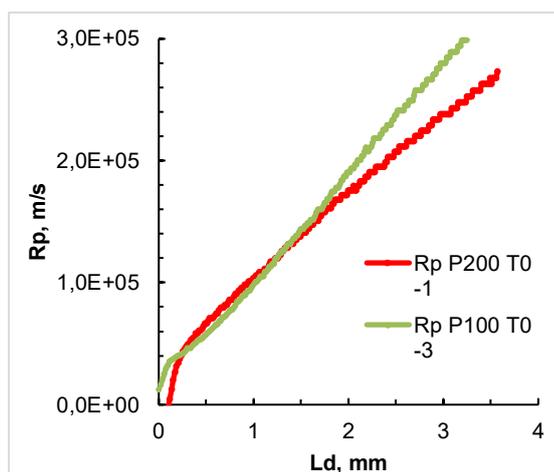
**Fig.50** A sinistra, confronto dei coefficienti di resistenza  $R_p$  in funzione dello strato essiccato  $L_{dried}$ , nelle prove con differenti condizioni di temperatura del ripiano e pressione in camera variabili, e  $T_{ring}$  pari a  $TP_{Avg} = -1^\circ\text{C}$ ; a destra, relativi profili di temperatura del prodotto al variare delle condizioni operative.

Attraverso le curve di  $R_p$  vs  $L_{dried}$ , che mostrano un andamento molto simile fra loro, è possibile valutare l'effetto della temperatura dello *shelf* e della  $P_c$  su  $R_p$ . L'effetto di una

più elevata temperatura del ripiano è quello di abbassare la curva  $R_p$  vs  $L_{dried}$ , come nel caso in cui essa è uguale a  $0^\circ\text{C}$ . In queste condizioni di temperatura del ripiano, le temperature del prodotto sono più alte e superiori o prossime alla temperatura di collasso del saccarosio, come mostrano le curve relative alla temperatura del prodotto mostrate in Fig.50. L'effetto conseguente è una diminuzione della resistenza al trasporto del vapore all'interno del prodotto ed un aumento dello spessore di strato essiccato durante la sublimazione. Infatti, mentre nelle prove sperimentali con  $T_{shelf}$  pari a  $-20^\circ\text{C}$  sublimano poco più di 2 mm di ghiaccio al termine delle 6 ore di essiccamento primario, con  $T_{shelf}$  pari a  $0^\circ\text{C}$  si arriva persino a 4 mm (o a 4,5 mm). Il prodotto ha quindi perso soltanto il 20-25% del ghiaccio inizialmente presente, nel primo caso, mentre ha perso quasi il 50% del ghiaccio nel secondo caso. L'abbassamento della resistenza del prodotto può essere spiegato considerando che l'aumento di temperatura del prodotto, dovuto all'aumento della  $T_{shelf}$ , ha provocato micro-collapsi nella struttura del saccarosio e questo ha causato la riduzione del coefficiente  $R_p$ ; inoltre,  $R_p$  dipende fortemente dalle condizioni di congelamento. Durante questa fase, infatti, si formano i pori attraverso i quali il ghiaccio sublimato passerà sotto forma di vapore: dato che le condizioni di congelamento per queste prove sono le medesime, gli andamenti sono simili fra loro come atteso.

Per quanto concerne, invece, l'effetto di un aumento della pressione, questa accelera la fase di sublimazione grazie al maggior coefficiente di scambio termico. Guardando, infatti, le curve a pari temperatura del ripiano ma con diversa pressione è evidente come i valori di  $R_p$ , a pressioni più elevate, risultano più bassi rispetto a quelli con pressione minore. Questo comportamento è confermato da un innalzamento delle temperature del prodotto, a pressioni maggiori. L'effetto congiunto di pressione e temperatura più elevate comporta un aumento dello spessore dello strato secco essiccato nei test condotti ad una  $T_{shelf}$  pari a  $0^\circ\text{C}$  e una  $P_c$  pari a 90 mTorr, condizione maggiormente favorevole alla sublimazione, infatti, presenta un  $L_{dried}$  più elevato e pari a circa 4,5 mm.

Gli andamenti di  $R_p$  vs  $L_{dried}$  per soluzioni contenenti mannitolo sono mostrati di seguito (Fig. 51):



**Fig.51** Confronto dei coefficienti di resistenza  $R_p$  vs  $L_{dried}$ , per soluzioni al 5% in peso di mannitolo in diverse condizioni operative.

L'andamento delle curve è molto differente rispetto a quello visto per il saccarosio, a sottolineare le differenti condizioni in cui è avvenuto il congelamento per le soluzioni di mannitolo e le differenti caratteristiche del soluto in esame.

Anche in questo caso, all'aumentare della pressione, i coefficienti di resistenza si abbassano con conseguente aumento dello strato secco; inoltre, le due curve, come nel caso precedente, sono quasi del tutto sovrapposte.

Una volta noti gli  $R_p$ , è possibile sfruttarli per essere utilizzati in altri liofilizzatori.



## 4. Conclusioni

Il presente lavoro di Tesi si incentra sull'utilizzo di un micro-liofilizzatore, come il *MicroFD*, che si prospetta essere un innovativo sostituto dei liofilizzatori industriali durante la fase di *process design* in quanto, mediante il suo utilizzo, è possibile prevenire l'enorme consumo di prodotto e di risorse ma, allo stesso tempo, permette di simulare quanto accade in liofilizzatori più grandi. Un altro vantaggio è rappresentato dalla possibilità di svolgere prove di liofilizzazione più rapide, al contrario dei liofilizzatori industriali che, invece, necessitano talvolta di diverse ore o addirittura diversi giorni per portare a termine un ciclo di liofilizzazione. È quindi evidente l'enorme interesse tecnologico ed economico riposto in apparecchiature di questo tipo, essendo la liofilizzazione un processo molto importante sia a livello farmaceutico, dove spesso si fa uso di risorse particolarmente costose di cui è necessario prevenirne lo spreco, sia in ambito alimentare per aumentare la conservabilità di un prodotto.

La liofilizzazione, infatti, è un processo di disidratazione con il fine di aumentare la stabilità e permettere la conservazione a lungo termine di un prodotto; infatti, attraverso la rimozione dell'acqua è possibile ridurre la cinetica delle reazioni di degradazione. Per ottenere ciò, la liofilizzazione si compone di diversi *step*: il primo di questi è il congelamento, durante il quale la soluzione è portata al di sotto della temperatura di congelamento dell'acqua, fino anche a  $-40^{\circ}\text{C}$ . Questo congelamento spinto comporta il fenomeno di nucleazione e crescita dei cristalli di ghiaccio. Il secondo *step* è l'essiccamento primario, nel quale si opera un abbassamento di pressione e, contemporaneamente, un riscaldamento della soluzione precedentemente congelata a temperature più elevate per favorire l'allontanamento dell'acqua attraverso la sublimazione del ghiaccio. Infine l'ultimo *step*, definito essiccamento secondario, è quello durante il quale, con un ulteriore innalzamento della temperatura si elimina la frazione di umidità residua rimasta legata al prodotto. All'interno di un liofilizzatore i flaconi, contenenti la soluzione da processare, sviluppano una differente storia termica in relazione alla loro posizione dentro il *batch* infatti, quelli posti direttamente a contatto con le pareti ricevono un quantitativo di calore addizionale, oltre quello proveniente dal ripiano, dovuto all'irraggiamento delle pareti della

camera o proveniente da altre fonti. Questo effetto è chiamato “effetto di bordo” e costituisce la principale causa di disomogeneità del lotto sia in termini di perdita di peso, ovvero di grammi di acqua allontanati in seguito alla sublimazione del ghiaccio, sia in termini di temperatura. Il fattore temperatura non è da sottovalutare poiché un elevato innalzamento della stessa all’interno dei flaconi esterni, dovuto al sopra citato “effetto di bordo”, potrebbe causare una denaturazione del prodotto se venisse superata la temperatura critica. La temperatura critica si identifica nella temperatura di eutettico nel caso di un solido cristallino, come il mannitolo, o nella temperatura di transizione vetrosa nel caso di un solido amorfo, come il saccarosio.

Nel presente lavoro di Tesi si è fatto uso del *MicroFD*, la cui principale innovazione è l’introduzione di un anello riscaldato, chiamato *LyoSim*, che permette di ridurre l’effetto di bordo simulando un’altra fila di flaconi attorno ai flaconi più esterni. È stata portata avanti una campagna di 30 prove sperimentali nelle quali sono state utilizzate delle soluzioni acquose al 10% di saccarosio o al 5% di mannitolo, con l’intento di valutare l’omogeneità del *batch* sia dal punto di vista delle perdite di peso medie, sia dal punto di vista dell’uniformità negli andamenti delle temperature. Ciascuna prova in cui è stato utilizzato il saccarosio è stata condotta impostando, durante la fase di essiccamento primario, una temperatura del ripiano pari a  $-20^{\circ}\text{C}$  o  $0^{\circ}\text{C}$  e una pressione in camera pari a 60 mTorr o 90 mTorr; per il mannitolo invece, sono state scelte temperature del ripiano pari a  $0^{\circ}\text{C}$  o  $10^{\circ}\text{C}$  e una pressione della camera pari a 100 mTorr o 200 mTorr. Inoltre, durante la fase del congelamento di soluzioni contenenti il mannitolo, è stata applicata la tecnica dell’*annealing*, per permettere la dissoluzione dei cristalli più piccoli e favorire l’accrescimento dei cristalli più grandi in modo da ottenere una configurazione cristallina più uniforme.

Al variare delle condizioni operative sopra descritte si è valutato il flusso sublimativo e si è osservato come prove con diversi valori del flusso richiedano differenti temperature dell’anello per ottenere uniformità del *batch*. Infatti, a pari condizioni di temperatura del ripiano e pressione in camera, è stata variata la temperatura del *LyoSim* affinché avesse  $1^{\circ}\text{C}$ ,  $3^{\circ}\text{C}$  o  $5^{\circ}\text{C}$  in meno rispetto alla temperatura media del prodotto, valutata considerando le temperature registrate dalle sole termocoppie interne posizionate in flaconi interni.

Per bassi valori del flusso sublimativo, approssimabili a  $0,3 \text{ kg/h}\cdot\text{m}^2$ , è necessario adottare una temperatura dell’anello pari a  $TP_{\text{Avg}}-1^{\circ}\text{C}$ , per avere una maggiore uniformità in termini di perdita di peso media e di profili di temperatura. Questi valori del flusso

sublimativo si realizzano per prove nelle quali è stata processata una soluzione al 10% in peso di saccarosio e condotte con condizioni operative più *soft* in cui la temperatura del ripiano è  $-20^{\circ}\text{C}$  e la pressione in camera è 60 mTorr o 90 mTorr. In queste condizioni, la percentuale di calore fornita dal ripiano è inferiore e la funzione dell'anello come *heat sink* è molto importante per permettere ai flaconi esterni di comportarsi come quelli più interni. Per tale ragione è bene non raffreddare eccessivamente il *Lyosim*, impostando un *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ .

Per quanto riguarda le prove che presentano flussi sublimativi intermedi, con valore compreso tra  $0,5$  e  $0,65 \text{ kg/h}\cdot\text{m}^2$ , non è stato possibile identificare una precisa temperatura dell'anello ottimale in quanto, una temperatura del *LyoSim* pari a  $TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$  garantisce una migliore uniformità in termini di perdite di peso mentre, una  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$  garantisce una maggiore uniformità negli andamenti di temperatura tra i flaconi interni ed esterni. Questo è vero per le prove condotte con soluzioni al 10% di saccarosio in condizioni di temperatura del ripiano pari a  $0^{\circ}\text{C}$  e pressione in camera pari a 60 mTorr o 90 mTorr. Anche per soluzioni al 5% in peso di mannitolo con pari temperatura dello *shelf* e pressione in camera pari a 100 mTorr si osserva un valore intermedio del flusso sublimativo; in questo caso la temperatura dell'anello ottimale per ottenere uniformità negli andamenti di temperatura è  $TP_{Avg}-1^{\circ}\text{C}$ , mentre per l'omogeneità della perdita di peso torna ad essere  $TP_{Avg}-3^{\circ}\text{C}$ . In questi casi è più difficile definire quali siano le opportune condizioni operative, pertanto, la scelta risiede unicamente in cosa si preferisce prediligere tra l'una o l'altra omogeneità. Tuttavia, è meglio preferire una uniformità negli andamenti di temperatura per garantire una medesima temperatura sia nei flaconi posti all'interno sia nei flaconi posti al bordo, in modo tale da evitare il raggiungimento di elevate temperature nei flaconi più esterni, prossime a quelle di collasso, con conseguente denaturazione del prodotto.

Un flusso sublimativo più elevato, con valori superiori a  $0,7 \text{ kg/h}\cdot\text{m}^2$ , si è osservato invece per prove in cui si è fatto uso di soluzioni al 5% in peso di mannitolo e condotte in condizioni operative più favorevoli alla sublimazione come, ad esempio, una temperatura dello *shelf* di  $0^{\circ}\text{C}$  e una pressione in camera pari a 200 mTorr, oppure temperature di  $10^{\circ}\text{C}$  e pressioni di 100 mTorr o 200 mTorr. In questi casi la temperatura dell'anello più idonea è  $TP_{Avg}-5^{\circ}\text{C}$  poiché, in seguito ad un quantitativo maggiore di calore proveniente dal ripiano, è necessario raffreddare maggiormente l'anello per garantire uniformità tra i flaconi esterni ed interni.

Il flusso sublimativo è stato valutato anche per prove al 5% in peso di saccarosio, svolte in un precedente lavoro di Tesi, per verificare i comportamenti descritti sopra. Anche per queste soluzioni bassi valori del flusso richiedono una temperatura di *Track Offset* pari a  $-1^{\circ}\text{C}$ , per valori intermedi non è stato possibile identificare una condizione univoca di uniformità, mentre elevati valori del flusso richiedono una temperatura di *Track Offset* pari a  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Infine, sono stati valutati i parametri caratterizzanti il processo, ovvero il coefficiente di scambio termico e il coefficiente di resistenza al trasporto di materia, rispettivamente  $K_v$  e  $R_p$ ; si è visto come i valori di  $K_v$  nei flaconi più interni siano molto simili fra loro, a pari valori di pressione, e come invece assumano valori più bassi per pressioni minori, indicando un peggioramento delle condizioni di scambio fra lo *shelf* e il prodotto.

Grazie al calcolo di  $K_v$  è stato possibile ricavare le curve  $R_p$  vs  $L_{dried}$  dalle quali si è osservato che, a pari condizioni di congelamento, i profili di  $R_p$  sono quasi del tutto sovrapposti. Condizioni più elevate di temperatura dello *shelf* e di pressione in camera causano, tuttavia, un micro-collasso nella struttura del *cake* con un conseguente abbassamento delle curve verso valori più bassi. Il calcolo del parametro  $R_p$  è di fondamentale importanza poiché, tale coefficiente, è utilizzabile nella fase di *scale-up* di un liofilizzatore.

In conclusione, l'utilizzo del *MicroFD* possiede numerosi vantaggi per affermarsi come apparecchiatura da laboratorio e non solo, con il fine di simulare in piccolo quanto avviene in un liofilizzatore industriale, prevenendo così i consumi di risorse e di prodotto. Tuttavia, vi sono ancora altri parametri da analizzare per ottenere uno studio sperimentale completo come, ad esempio, valutare l'effetto di un diverso volume di riempimento o di un anello *LyoSim* differente, e verificare così le condizioni di omogeneità nel *batch*.

## Bibliografia

- Andrieu, J., Antonyuk, S., Barresi, A. A., Bonazzi, C., Courtois, F., Dumoulin, E., Walzel, P. (2011). Modern Drying Technology, *Product Quality and Formulation* **3**, 91-154. Wiley-Vhc.publisher , Weinheim, Germany
- Auffret, T. (2010). The Physics of Freezing or Why Water never Rreezes at its Freezing Point. Tratto il giorno 1 Settembre 2018, da taPrime: <http://www.taprime.co.uk/assets/file/Physics%20of%20freezing.pdf>
- Bosca, S. Barresi, A., & Fissore, D. (2013). Use of a Soft sensor for the Fast Estimation of Dried Cake Resistance during Freeze-drying Cycle. *International Journal of Pharmaceutics* **451** (1-2), 23-33. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.04.046
- Bosca, S., & Fissore, D. (2011). Design and Validation of an Innovative Soft-sensor for Pharmaceuticals Freeze-drying Monitoring. *Chemical Engineering Science*, **66**(21), 5127-5136. doi:10.1016/j.ces.2011.07.008
- Chakravarty, P., Lee, R., DeMarco, F. & E., R. (2012). Ice Fog as a Means to Induce Uniform Ice Nucleation During Lyophilization . *BioPharm International*, **25**(1).
- Fissore, D. (2013). Freeze Drying of Pharmaceuticals. *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology, Fourth Edition*, 1723-1737. (Edited by James Swarbrick) Taylor & Francis publishers, New York. doi:<http://dx.doi.org/10.1081/E-EPT4-120050278>
- Fissore, D. (2017). Model-based PAT for Quality Management in Pharmaceuticals Freeze-drying: State of the Art. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **5**(5). doi:10.3389/fbioe.2017.00005
- Fissore, D. Pisano, R., & Barresi, A. (2017). On the use of temperature measurement to monitor a freeze-drying process for pharmaceuticals. *IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC)*, Torino
- Fissore, D., Pisano, R., & Barresi, A. (2018). Process Analytical Technology for Monitoring Pharmaceutical Freeze-drying—A comprehensive review. *Drying Technology* **36**, 113-140. doi:<https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1440590>
- Giordano, A., Barresi, A., & Fissore, D. (2011). On the Use of Mathematical Models to Build the Design Space for the Primary Drying Phase of a Pharmaceutical Lyophilization Process. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **100**(1), 311-324. doi:10.1002/jps.22264
- Malik, N., Gouseti, O., & Bakalis, S. (2017). Effect of Freezing with Temperature Fluctuations on Microstructure and Dissolution Behavior of Freeze-dried High Solid System. *Energy Procedia* , **123**, 2-9. doi:10.1016/j.egypro.2017.07.277.
- Nireesha G.R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjana Babu, M., & Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/Freeze Drying - An Review. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*, 87-98.

- Obeidat, W. M., Sahni, E., Kessler, W., & Pikal, M. (2017). Development of a Mini-Freeze Dryer for Material-Sparing Laboratory Processing with Representative Product Temperature History . *AAPS PharmSciTech* **19**(2), 599-609.
- Patapoff, T. W., & Overcashier, D. E. (2002). The Importance of Freezing on Lyophilization Cycle Development. *BioPharm*.
- Patel, S. M., Doen, T., & Pikal, M. J. (2010). Determination of End Point of Primary Drying in Freeze\_Drying Process Control. *AAPS PharmSciTech* **11**(1), 73-84. doi:10.1208/s12249-009-9362-7
- Pisano, R., Fissore, D., & Barresi, A. (2011). Heat Transfer in Freeze-Drying Apparatus. *In Developments in Heat Transfer*, (Edited by Dr. Marco Aurélio dos Santos Bernardes), InTechOpen publisher, Londra, 91-114. Tratto da: <http://www.intechopen.com/books/developments-in-heat-transfer/heat-transfer-infreeze-drying-apparatus>
- Scutellà, B., Plana-Fattori, A., Passot, S., Bourlès, E., Fonseca, F., Flick, D., & Trélea, I. (2017). 3D Mathematical Modelling to Understand Atypical Heat Transfer Observed in Vial Freeze-drying. *Applied Thermal Engineering* **126**, 226-236.
- Siew, A. (2013). Controlling Ice Nucleation During the Freezing Step of Lyophilization. *Pharmaceutical Technology*, **37**(5), 36-40.
- Tang, X., Pikal, M. J. (2004). Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. *Pharmaceutical Research*, **21**(2), 191-200.
- Thomas, P. (2011). Controlled Ice Nucleation Moves into Manufacturing: Interview with Michael Pikal. Tratto da [www.pharmamanufacturing.com/articles/2011/020/](http://www.pharmamanufacturing.com/articles/2011/020/)
- Thompson, T. N. (2013). LyoPAT™: Real-Time Monitoring and Control of the Freezing and Primary Drying stages During Freeze-drying for Improved Product Quality and Reduced Cycle Times. Tratto il giorno Ottobre 1, 2018 da American Pharmaceutical Review: <https://www.americanpharmaceuticalreview.com>
- Thompson, T., Wang, Q., & Reiter, C. (2017). Developing Transferable Freeze Drying Protocols using Accuflux and a MicroFD. Millrock Technology, Inc, San Diego
- Wexler, E., & Brower, J. (2015). New Developments in Controlled Nucleation: VERISEQ Nucleation Technology. Tratto il giorno 1 Ottobre 2018 da: <http://www.pharmtech.com/new-developments-controlled-nucleation-veriseq-nucleation-technology>

## Notazioni

$a_{K_v}$	Parametro usato per il calcolo di $K_v$ , $W m^{-2} K^{-1}$
$A_{R_p}$	Parametro usato per il calcolo di $R_p$ , $s^{-1}$
$A_v$	Area interna del flacone, $m^2$
$b_{K_v}$	Parametro usato per il calcolo di $K_v$ , $W m^{-2} K^{-1} Pa^{-1}$
$B_{R_p}$	Parametro usato per il calcolo di $R_p$ , $m^{-1}$
$c_{K_v}$	Parametro usato per il calcolo di $K_v$ , $Pa^{-1}$
$\Delta H_s$	Calore di sublimazione dell'acqua, $J kg^{-1}$
$J_{q,shelf}$	Flusso di calore, $W m^{-2}$
$J_w$	Flusso di materia, $kg m^{-2} s^{-1}$
$K_{v,shelf}$	Coefficiente di scambio di calore rilevato dal <i>MicroFD</i> , $W m^{-2} K^{-1}$
$K_{v,totale}$	Coefficiente totale di trasporto di calore fra ripiano e prodotto, $W m^{-2} K^{-1}$
$L_{dried}$	Spessore dello strato sublimante, m
$\Delta m$	Massa sublimata, kg
$P_c$	Pressione in camera, Pa
$P_{w,c}$	Tensione di vapore dell'acqua nella camera, Pa
$P_{w,i}$	Tensione di vapore dell'acqua all'interfaccia di sublimazione, Pa
$R_p$	Coefficiente di resistenza al trasporto di materia, $m s^{-1}$
$R_{p,0}$	Parametro usato per il calcolo di $R_p$ , $m s^{-1}$
$\Delta t$	Intervallo di tempo intercorso tra l'inizio dell'essiccamento ed il termine della prova, h
$T_b$	Temperatura del prodotto sul fondo del flacone, $^{\circ}C$
$TP_{Avg}$	Temperatura media del prodotto in camera, $^{\circ}C$

$T_c$	Temperatura di collasso del prodotto, °C
$T_{ring}$	Temperatura dell'anello <i>LyoSim</i> , °C
$T_{shelf}$	Temperatura del ripiano termo-controllato, °C

### *Grecismi*

$\varepsilon$	Percentuale d'acqua in soluzione, -
$\lambda_{frozen}$	Conducibilità termica del ghiaccio, W m <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>
$\rho_{frozen}$	Densità del ghiaccio, kg m <sup>-3</sup>