

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

**Uso di un micro-liofilizzatore per lo sviluppo di un
processo di liofilizzazione**



Relatore

prof. Davide Fissore

Candidato

Daniela Velez Ramirez

Dicembre 2019

Indice

1. Introduzione.....	1
1.1 <i>Liofilizzazione.....</i>	<i>1</i>
1.1.1 Fase di congelamento	3
1.1.2 Fase di essiccamento primario	6
1.1.3 Processo di essiccamento secondario.....	8
1.2 <i>Tecnologie analitiche di processo (PAT)</i>	<i>8</i>
1.3 <i>Parametri K_v e R_p.....</i>	<i>11</i>
1.4 <i>Problema dello Scale-up del processo</i>	<i>13</i>
1.5 <i>Mini-FD, Micro-FD e REVO</i>	<i>15</i>
1.6 <i>Obiettivi della Tesi</i>	<i>16</i>
2. Materiali e metodi	17
2.1 <i>Materiali utilizzati.....</i>	<i>17</i>
2.2 <i>Apparecchiature utilizzate.....</i>	<i>18</i>
2.2.1 Micro-FD.....	18
2.2.2. REVO	21
2.2.3 LyoPat®	22
2.3 <i>Descrizione delle prove sperimentali.....</i>	<i>25</i>
2.3.1 Studio della omogeneità del lotto in un micro-liofilizzatore.....	26
2.3.2 Uso del MicoFD per il calcolo dei parametri del modello K_v e R_p	28
2.3.3. Scale-up del processo	33
3. Risultati e discussione	35
3.1 <i>Studio della omogeneità del lotto in un micro-liofilizzatore.....</i>	<i>35</i>
3.1.1. Influenza della temperatura del <i>LyoSim</i>	35
3.1.2. Influenza della temperatura dello <i>shelf</i>	39
3.1.3. Influenza della pressione.....	41

3.2	<i>Usa del Micro-FD per il calcolo dei parametri del modello K_v e R_p</i>	42
3.2.1	Effetto della temperatura dell'anello <i>LyoSim</i>	43
3.2.1	Effetto della pressione.....	45
3.2.2	Effetto della temperatura dello <i>shelf</i>	47
3.3	<i>Scale-up del processo</i>	49
3.3.1	Effetto della soluzione: Prove con acqua e soluzione acquosa al 10% in saccarosio ...	49
3.3.2.	Confronto tra il coefficiente di scambio termico dei liofilizzatori Micro-FD e REVO	51
3.3.3.	Confronto della resistenza della torta secca al flusso di vapore dei liofilizzatori Micro-FD e REVO	57
3.3.4.	Confronto dei profili di temperatura dei liofilizzatori Micro-FD e REVO.....	58
3.3.5.	Confronto della pressione dei liofilizzatori Micro-FD e REVO.....	60
4.	Conclusioni	62
5.	Bibliografia	65
6.	Notazioni	69

1. Introduzione

1.1 Liofilizzazione

La liofilizzazione è un processo di grande interesse in diversi settori industriali, tra i quali si distinguono quello farmaceutico e quello alimentare. Le prime applicazioni commerciali sono state nel campo dei prodotti biotecnologici, come antibiotici, plasma sanguigno e numerosi farmaci; in particolare, questa tecnologia è stata fondamentale per lo sviluppo di vaccini e altre sostanze iniettabili, poiché consente di stabilizzare a lungo termine i principi attivi contenuti nei prodotti farmaceutici, oltre a semplificare il trasporto e gestione del materiale utilizzando piccoli flaconi per la sua conservazione (Zeki, 2018).

Nell'industria alimentare l'utilizzo del processo di liofilizzazione è iniziato alla fine degli anni '50: il notevole interesse per questo tipo di processo è dovuto al fatto che la tecnica permette di preservare il gusto, il colore e l'aspetto degli alimenti dopo essere stati disidratati; queste caratteristiche possono essere ottenute grazie alle basse temperature alle quali il processo viene effettuato, minimizzando il danno termico che i nutrienti sensibili al calore possono subire, ottenendo come prodotto finale alimenti di qualità superiore rispetto ai prodotti disidratati con altri metodi (Zeki, 2018). In generale, il processo di liofilizzazione presenta i seguenti vantaggi (Shukla & Road, 2011):

- La possibilità di conservare i prodotti liofilizzati per lunghi periodi a temperatura ambiente poiché il contenuto di acqua è molto basso, inibendo l'azione di microrganismi ed enzimi che potrebbero degradare il materiale.
- La possibilità di ottenere una dispersione omogenea dei componenti nella matrice del prodotto, nel caso di prodotti liofilizzati a partire da soluzioni acquose.
- Facile reidratazione dei prodotti liofilizzati perché durante tutto il processo il materiale acquisisce una certa microporosità quando i cristalli di ghiaccio sono sublimati, caratteristica particolarmente importante nei materiali farmaceutici.
- Possibilità di disidratare materiali sensibili alle alte temperature senza danneggiare struttura e proprietà.

Questa tecnica deve affrontare grandi sfide nel caso di antibiotici e prodotti immunologici poiché le proteine ad alto peso molecolare e i peptidi sono molto fragili e altamente sensibili al contenuto di umidità residua nel prodotto essiccato. Il prodotto finale deve inoltre essere chimicamente stabile e con porosità sufficiente per consentire una rapida ricostituzione, preservando la struttura e la conformazione delle proteine (Shukla & Road, 2011). Tuttavia, a causa delle condizioni operative

in cui è effettuato il processo, la liofilizzazione è un metodo costoso di disidratazione, che è quindi economicamente fattibile solo nel caso di prodotti ad alto valore aggiunto (Ratti, 2001).

Il processo di liofilizzazione è suddiviso in tre operazioni: congelamento, essiccamento primario e essiccamento secondario. Durante la prima fase la temperatura del prodotto viene abbassata, causando la formazione di cristalli di ghiaccio nel campione. In questo materiale congelato una parte del liquido può rimaner legato al prodotto e deve essere desorbito in una fase successiva. Nell'essiccamento primario la pressione della camera diminuisce e il prodotto viene riscaldato per ottenere la sublimazione del ghiaccio, tenendo conto che la temperatura del prodotto sia sempre al di sotto di una temperatura critica, caratteristica del prodotto stesso, cercando di ridurre la durata dell'operazione, in quanto questa è la fase più costosa del processo. Nell'essiccamento secondario si utilizzano temperature comprese tra i 20°C e i 40°C e la pressione della camera viene ulteriormente ridotta per ottenere l'eliminazione dell'acqua che è fortemente legata mediante fenomeni di adsorbimento al prodotto parzialmente secco, garantendo così la conservazione a lungo termine del prodotto finale a temperatura ambiente (Porfire, et al., 2019).

Le diverse fasi del processo possono essere identificate nel diagramma di stato dell'acqua, mostrato in **Figura 1**.

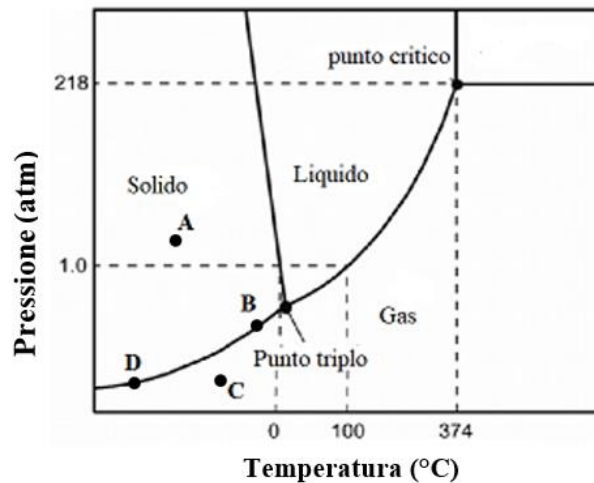


Figura 1. Diagramma di stato dell'acqua (immagine tratta Nireesha, et al., 2013, e riprodotta con modifiche)

Nel processo di liofilizzazione i prodotti sono congelati ben al di sotto del loro punto di transizione eutettica o temperatura vetrosa, punto A; successivamente la temperatura viene elevata al di sotto della temperatura critica, punto B, ed è sottoposto a una pressione ridotta. A questo punto inizia l'essiccamento primario, dove la pompa da vuoto riduce la pressione al punto C, per consentire in questo modo il processo di sublimazione, processo che può avvenire solo se la pressione e la temperatura del vapore sono inferiori a quelle del punto triplo. A una pressione così bassa il vapore acqueo ha un volume specifico molto grande e, quindi, per essere in grado di evacuare il vapore dalla camera, è necessario utilizzare una pompa da vuoto con una capacità di spostamento irreali: per superare questo problema il vapore viene portato alla fase solida sulla superficie di un

condensatore, superficie che deve essere mantenuta a una temperatura estremamente bassa, punto D (Nireesha, et al., 2013).

1.1.1 Fase di congelamento

Lo stadio di congelamento è la fase principale di disidratazione nel processo di liofilizzazione: in questa fase il solvente viene rimosso dalla soluzione sotto forma di ghiaccio, con conseguente aumento della concentrazione del soluto; inoltre, questa fase è di grande importanza per l'attività biologica e la stabilità dei principi attivi farmaceutici (Kasper & Friess, 2011). Durante questo processo viene congelato in genere oltre il 95% del solvente: affinché ciò avvenga, la temperatura del sistema deve essere inferiore alla temperatura del punto eutettico del prodotto o del punto di congelamento effettivo (temperatura più bassa alla quale possono coesistere le fasi solide e liquido del materiale), di solito è compreso tra -40°C e -60°C , dove avviene la formazione dei nuclei di ghiaccio, con conseguente crescita dei cristalli di ghiaccio formati, cosa che comporta la separazione del solvente congelato dalla matrice del soluto; in questa fase nessun vuoto è fatto nella camera (Porfire, et al., 2019).

Uno dei parametri più importanti in questa fase è la velocità di raffreddamento, poiché influenza direttamente la dimensione dei cristalli e, quindi, la distribuzione della dimensione dei pori, determinando in tal modo la morfologia della torta essiccata e, di conseguenza, definisce le proprietà finali del prodotto liofilizzato. Se il solvente viene rapidamente congelato i cristalli di ghiaccio saranno piccoli, ottenendo una struttura microporosa che genererà una maggiore resistenza al flusso di vapore acqueo quando questo sublima, producendo un aumento del tempo di essiccazione. Tuttavia, una piccola struttura cristallina porta alla formazione di prodotti che sono più facili da ricostituire nel processo di reidratazione. D'altra parte, se si ha una velocità di congelamento più lenta, i cristalli di ghiaccio saranno più grandi, producendo una struttura macroporosa, ottenendo una fase di essiccamento primario più breve, e la resistenza della matrice creata sarà molto più bassa di quella del caso precedente, **Figura 2**, (López-malo & Palou, 2008).

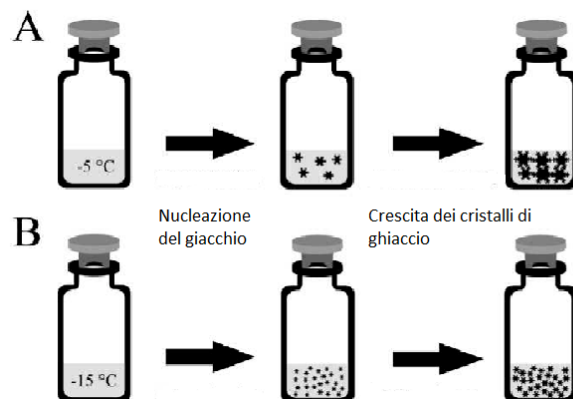


Figura 2. Descrizione della nucleazione del ghiaccio nella fase di congelamento a diverse temperature (*immagine tratta da Geidobler & Winter, 2013 e riprodotta con modifiche*)

La fase di congelamento è un momento critico nel processo di liofilizzazione perché il prodotto può essere danneggiato se viene eseguito erroneamente; ad esempio, nel caso di alimenti o cellule un congelamento inadeguato potrebbe portare alla produzione di grandi cristalli di ghiaccio che potrebbero rompere le pareti cellulari, con conseguente perdita del contenuto. Nel caso di materiali amorfi, non si parla di un punto eutettico, ma di un punto critico in cui il prodotto deve essere mantenuto al di sotto per evitare il collasso del prodotto durante le successive fasi di essiccamento (Shukla & Road, 2011)

Per spiegare ulteriormente questa fase si fa riferimento al processo che accade durante il congelamento dell'acqua pura: la **Figura 3** mostra la relazione tra tempo e temperatura durante il processo

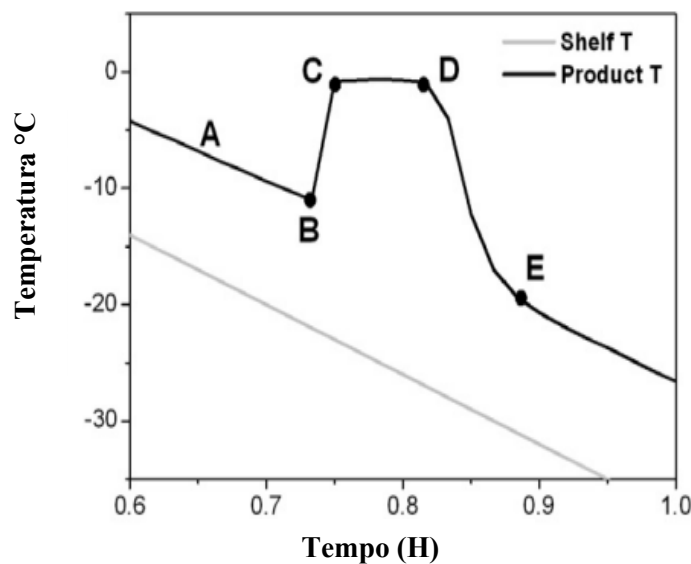


Figura 3. Profilo di temperatura misurato con una termocoppia per un campione di acqua pura durante il congelamento, 1°C / min. (immagine tratta da Kasper & Friess, 2011 e riprodotta con modifiche).

Quando l'acqua si raffredda alla pressione atmosferica non si congela spontaneamente a 0°C: l'esistenza dello stato liquido al di sotto di 0°C (temperatura di equilibrio liquido-solido) è chiamata "sotto-raffreddamento", rappresentato in **Figura 3** con la linea A. Questo processo avviene regolarmente in intervalli di temperatura tra -10 e -15°C. Il livello di sotto-raffreddamento dipende dalle proprietà della soluzione e dalle condizioni di processo, ed è definito come la differenza tra la temperatura di equilibrio e la temperatura effettiva alla quale avviene la formazione dei cristalli di ghiaccio (Liu, 2008). Il sotto-raffreddamento è uno stato metastabile: in questo stato le molecole d'acqua formano legami idrogeno, con disposizioni simili a quelle dei cristalli di ghiaccio; tuttavia, questo processo è energeticamente sfavorevole e, di conseguenza, i legami si rompono rapidamente. La probabilità che i nuclei crescano in numero e dimensioni aumenta al diminuire della temperatura: solo nel momento in cui viene raggiunta la massa critica dei nuclei la cristallizzazione avviene in tutto il sistema, punto B (Kasper & Friess, 2011).

La temperatura di nucleazione omogenea dell'acqua è di circa -40°C : a questa temperatura il campione di acqua pura avrà almeno un nucleo di acqua attiva formata spontaneamente in grado di iniziare la formazione dei cristalli. Comunque, a causa della presenza di impurità estranee, nella maggior parte dei sistemi si osserva una nucleazione eterogenea: tali impurità possono essere la superficie del recipiente, inquinanti come particolato nell'acqua o anche le molecole proteiche (Nireesha, et al., 2013). La crescita dei cristalli è data dall'aggiunta delle molecole all'interfaccia tra il cristallo e la soluzione: la crescita dei cristalli di ghiaccio è controllata dal rilascio di calore latente e dalla velocità di raffreddamento del sistema. Il tempo di congelamento trascorre dalla nucleazione del ghiaccio (punto C) fino al momento in cui viene eliminato il calore latente (punto D), la temperatura diminuisce quando si completa il congelamento del campione, punto E (Kasper & Friess, 2011).

Il processo di nucleazione è un evento casuale: la nucleazione del ghiaccio, e quindi la distribuzione della dimensione dei cristalli, cambia da una fiala all'altra, risultando in una grande eterogeneità del campione all'interno di un lotto; pertanto, la natura statistica della nucleazione del ghiaccio rappresenta una sfida per il controllo del processo di liofilizzazione, evidenziando l'importanza di eseguire un processo riproducibile. Sono stati sviluppati diversi metodi per controllare e ottimizzare lo stadio di congelamento, per esempio la nucleazione controllata mediante ultrasuoni, l'*ice fog technique*, la tecnica di depressurizzazione e l'elettro-congelamento. La tecnica di depressurizzazione e l'*ice fog technique* sono le più promettenti per quanto riguarda la gestione operativa e l'applicabilità in processi a scala industriale (Petersen, et al., 2006).

- ***Ice fog technique***

Inizialmente i flaconi vengono raffreddati alla temperatura di nucleazione desiderata all'interno del liofilizzatore; successivamente un flusso di azoto freddo viene rilasciato nella camera, dove l'elevata umidità genera una nebbia di ghiaccio. Questa è una sospensione di piccole particelle di ghiaccio che penetra nelle fiale, consentendo l'inizio del processo di nucleazione del ghiaccio sulla superficie della soluzione. Ciononostante, poiché la nebbia non raggiunge le fiale contemporaneamente, si presenta certa eterogeneità nel sistema. Al fine di risolvere questo problema, recentemente è stata implementata una variazione del metodo, in cui la pressione della camera è ridotta per consentire una nucleazione più rapida e uniforme (Rambhatla, et al., 2004).

- ***Tecnica di depressurizzazione***

In questo metodo i prodotti vengono inizialmente raffreddati alla temperatura di congelamento a una pressione superiore a quella atmosferica e, successivamente, il sistema è depressurizzato per indurre il processo di nucleazione. Dopo la formazione dei cristalli di ghiaccio il materiale viene ulteriormente raffreddato fino a raggiungere la temperatura finale della prima fase del processo. Il vantaggio principale di questa tecnica è che i campioni sono messi in contatto solo con il gas inerte usato per la pressurizzazione, e questo gas viene estratto dai flaconi nelle fasi successive del

processo. Questa tecnologia è stata ora integrata in liofilizzatori commerciali con il nome “ControLy: nucleation on demand technology” (Kasper & Friess, 2011).

1.1.2 Fase di essiccamento primario

Nella fase di essiccamento primario, o *primary drying*, il ghiaccio formato durante la fase di congelamento è eliminato mediante la sublimazione (il ghiaccio passa direttamente alla fase vapore). Questo stadio viene effettuato a bassa pressione e temperatura, consentendo di ottenere una struttura altamente porosa. Questa fase viene solitamente eseguita a temperature comprese tra -45°C e -10°C (Fissore, et al., 2018). La diminuzione della pressione accelera la rimozione delle molecole di vapore, permettendo alle molecole di solvente di spostarsi più facilmente dal prodotto alla superficie del condensatore. Il vapore generato viene raccolto per mezzo del condensatore: tale apparecchiatura deve avere una superficie e una capacità di raffreddamento sufficienti per trattenere tutta l'acqua sublimata del sistema, perché nel caso in cui la temperatura del condensatore sia superiore alla temperatura del prodotto, il vapore tornerà ai flaconi, interrompendo il processo di essiccamento (Nireesha, et al., 2013).

La forza motrice della sublimazione è la differenza di pressione correlata alla corrispondente differenza di temperatura tra la superficie del ghiaccio del prodotto e la superficie del condensatore: di conseguenza, maggiori differenze di temperatura tra le due superfici significano maggiori differenze di pressione, aumentando la velocità del processo (Ellab, 2018). La **Figura 4** mostra il comportamento della temperatura del prodotto durante il processo di liofilizzazione: in questa fase la temperatura del materiale è inferiore alla temperatura dello *shelf*, il quale fornisce il calore necessario per causare la sublimazione del ghiaccio formato. La temperatura del prodotto è influenzata dalla conduzione del calore (contatto con lo *shelf*), oltre ad essere influenzato dalla radiazione di calore dalle pareti della camera e, in misura minore, dal calore trasmesso per conduzione attraverso le poche particelle di gas presenti nel sistema. Alla fine della fase, la temperatura del prodotto aumenta asintoticamente verso la temperatura dello *shelf*, identificando così il momento finale della fase di essiccamento primario (López-malo & Palou, 2008). Altri fattori che indicano che il ciclo ha terminato questa fase sono:

1. La temperatura del prodotto è simile alla temperatura dello *shelf*, indicando che non c'è più trasferimento di calore e solo poche molecole del solvente stanno lasciando il prodotto.
2. La temperatura del condensatore ritorna alla sua temperatura iniziale perché questo non riceve più il flusso di vapore, causando così un aumento della sua temperatura.
3. Variazione della composizione del gas nella camera: durante l'essiccamento primario, la composizione del gas è essenzialmente vapore acqueo e quando termina il processo la composizione del gas cambia principalmente da vapore acqueo ad azoto (Patel, et al., 2010).

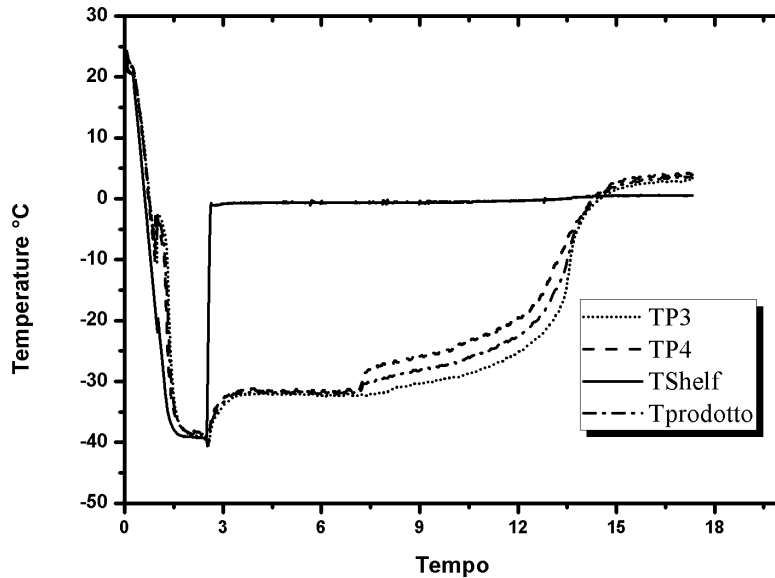


Figura 4. Profili di temperatura durante un generico processo di liofilizzazione.

Durante l'essiccamento primario il materiale viene mantenuto a temperature inferiori a quelle del valore critico del prodotto essiccato, consentendo la conservazione della struttura ottenuta nella fase di congelamento. La temperatura critica è assunta essere la temperatura di transizione vetrosa (T_g) nel caso di prodotti amorfi o la temperatura eutettica (T_e) per prodotti cristallini. In questa fase è essenziale controllare la velocità di sublimazione e il riscaldamento del materiale: se il prodotto è sottoposto ad elevate temperature, potrebbe sciogliersi e collassare, causando il degrado del prodotto e perdite nelle caratteristiche qualitative del materiale, oltre a ostacolare il processo di reidratazione (López-malo & Palou, 2008).

Un altro fattore che dovrebbe essere considerato in questa fase è la posizione della fiala all'interno del liofilizzatore, poiché i flaconi che si trovano alla periferia dello *shelf*, noti come fiale di bordo, ricevono un flusso di calore più elevato rispetto alle fiale che si trovano all'interno del lotto: di conseguenza, le fiale di bordo presentano una temperatura del prodotto molto più elevata rispetto alle fiale situate al centro, e nelle fiale di bordo si può superare la temperatura di collasso del prodotto (Scutellà, et al., 2017). Questo fenomeno è noto con il nome di "effetto di bordo", e rappresenta un grave problema nel controllo del processo.

Infine, è importante ricordare che l'essiccamento primario è il processo che richiede più tempo in tutta la fase di liofilizzazione: pertanto, è un processo che deve essere ottimizzato per rendere il processo economicamente sostenibile, senza influire sulla qualità del prodotto. Questo di solito viene fatto raggiungendo un equilibrio tra l'input di energia del prodotto e la differenza di temperatura tra il condensatore e il materiale (Ellab, 2018).

1.1.3 Processo di essiccamento secondario

Alla fine del *primary drying* il campione può ancora contenere tra il 10% e il 15% del solvente: questo quantitativo di liquido è fortemente legato al prodotto mediante fenomeni di adsorbimento. Per ottenere la sua rimozione la pressione della camera viene ulteriormente ridotta e la temperatura del sistema è aumentata, così da raggiungere finalmente il basso contenuto di umidità richiesto nel prodotto finale (Barresi, et al., 2009).

La temperatura del prodotto non deve essere aumentata rapidamente, in modo da non superare la temperatura di transizione vetrosa. Inoltre, per alcuni tipi di materiali, come le proteine, è necessario conservare una certa quantità di acqua residua per mantenere la struttura secondaria e terziaria: in questo caso, se il solvente viene completamente rimosso, il materiale potrebbe essere denaturato e perdere la sua attività; inoltre, il calore eccessivo potrebbe causare il degrado degli alimenti (López-malo & Palou, 2008).

1.2 Tecnologie analitiche di processo (PAT)

Al fine di ottenere un prodotto con il valore di umidità residuo desiderato e di effettuare un processo economicamente sostenibile è necessario massimizzare la velocità di rimozione del solvente senza superare il punto di collasso del materiale; per fare ciò è essenziale monitorare in linea la temperatura e il contenuto di acqua residua del prodotto, poiché ciò consente di determinare il punto finale della fase di essiccamento primario, in modo che la seguente fase di essiccamento secondario possa iniziare al momento giusto: se l'essiccamento secondario inizia prima del punto finale di sublimazione, la temperatura del prodotto sarà superiore alla temperatura di transizione vetrosa, causando il collasso del prodotto, se invece, l'essiccamento secondario inizia molto tempo dopo del punto finale di sublimazione, il processo non sarà ottimizzato e il costo dell'operazione aumenterà. Allo stesso modo è importante determinare il punto finale del processo di liofilizzazione per ottenere una bassa umidità residua, senza compromettere la stabilità e il principio attivo del prodotto (Barresi & Fissore, 2011).

È possibile monitorare la quantità residua di ghiaccio nel prodotto, la sua temperatura e il flusso di sublimazione attraverso l'impiego di tecnologie analitiche di processo (PAT). Il termine PAT comprende analisi chimiche, fisiche, microbiologiche, effettuate in modo integrato con l'obiettivo di migliorare la comprensione del processo, rispettare i requisiti normativi di qualità e controllare il processo di produzione. Per fare questo è necessario:

- L'identificazione delle variabili critiche di processo relative alla qualità del prodotto.
- La progettazione del sistema di misura che consente il monitoraggio in tempo reale (in linea) delle variabili critiche del processo.
- La progettazione del controllo di processo che vada a manipolare le variabili manipolabili per ottimizzare il sistema.

- L'implementazione di modelli matematici che mettono in relazione le caratteristiche del prodotto e le misurazioni delle variabili critiche del processo (Fissore, 2017).

Esistono diverse tecniche per monitorare il sistema: in alcune si possono monitorare le singole fiale, in altre un gruppo di flaconi o il lotto completo. Per misurare la temperatura del prodotto in contenitori individuali vengono utilizzati sensori di temperatura come termocoppie o rilevatori di resistenza termica (RTD). Le termocoppie sono in genere le più utilizzate nei liofilizzatori su scala di laboratorio, mentre gli RTD sono preferiti nei liofilizzatori di maggiore scala per la loro robustezza e capacità di essere sterilizzati (Fissore, et al., 2018).

Una delle opzioni più raccomandate per misurare la temperatura del prodotto è illustrata nella **Figura 5**, dove varie caratteristiche sono evidenti: innanzitutto, viene utilizzata una termocoppia con un cavo sottile, cosa che minimizza gli effetti della termocoppia sulla dinamica del prodotto; inoltre, viene utilizzato un dispositivo nel collo della fiala che, mediante un tubo guida, consente di posizionare la punta della termocoppia al centro del contenitore toccando la parte inferiore della fiala. Tenendo conto del fatto che esiste un gradiente di temperatura nel materiale congelato durante l'essiccamento primario, la misura della termocoppia dipende dalla sua posizione nella fiala, sia verticalmente che radialmente, dove si identifica che l'area più calda si trova nella parte inferiore del contenitore; pertanto, con questa configurazione è possibile monitorare la regione in cui esiste la maggiore probabilità di superare la temperatura di collasso del prodotto. Il dispositivo che facilita il posizionamento della termocoppia ha aperture nella parte superiore, equivalenti all'area aperta dei tappi utilizzati per chiudere i contenitori che non contengono termocoppie, offrendo così la stessa resistenza al trasferimento di massa in entrambi i dispositivi (Nail, et al., 2017) .



Figura 5. Misura della temperatura del prodotto in singoli flaconcini con una termocoppia e l'uso di un dispositivo per posizionare il sensore al centro del contenitore (figura tratta da Nail, et al., 2017 e riprodotta con modifiche).

Altri sensori disponibili sul mercato che possono essere utilizzati per misurare la temperatura del prodotto sono i sensori a fibra ottica (OFS) e sensori wireless con interrogazione a distanza (TEMPRIS). I sensori a fibra ottica utilizzano una griglia in fibra di Bragg (FBG) come sensore, che riflette una specifica lunghezza d'onda della luce che viene trasmessa in risposta a specifiche

variazioni di temperatura: lo strumento è sterilizzabile a vapore, più sensibile delle termocoppie, con una migliore risoluzione e risposte più veloci. Il dispositivo TEMPRIS riceve il segnale attraverso un campo elettromagnetico, eliminando la necessità di utilizzare cavi, ma ha lo svantaggio di avere una grande dimensione, influenzando il processo di congelamento (Fissore, et al., 2018).

L'uso di dispositivi per la misura della temperatura comporta alcuni problemi nel processo di liofilizzazione, poiché l'inserimento del dispositivo e il suo posizionamento possono compromettere la sterilità del sistema e influire sulla nucleazione del ghiaccio, influenzando la dimensione dei cristalli. A livello di laboratorio è stato dimostrato che gli effetti sulla dinamica del processo non sono significativi (Bosca, et al., 2013). Allo stesso modo è importante evidenziare che la misurazione della temperatura dipende fortemente dal posizionamento del sensore, poiché le misure possono essere influenzate dallo spostamento durante il processo.

Un altro metodo utilizzato per monitorare il processo di liofilizzazione è il test di aumento di pressione (PRT), che può essere utilizzato per stimare il punto finale della fase di essiccamento primario e secondario, e inoltre può fornire una misura diretta della velocità di sublimazione e del contenuto di acqua residua. Il test consiste nell'eseguire un rapido isolamento della camera di essiccamento dal condensatore attraverso la valvola che si trova nel condotto che mette in comunicazione le due zone dell'apparecchiatura. Ciò comporta un cambiamento nel flusso di uscita della camera, cioè, un accumulo di vapore viene prodotto all'interno, con conseguente aumento della pressione. La **Figura 6** mostra l'aumento della pressione del sistema durante l'essiccamento primario quando viene eseguito il PRT: inizialmente si osserva un rapido aumento della pressione, seguito da un aumento più lento, quasi lineare. Maggiore è il valore finale della pressione in risposta al test, e maggiore sarà la temperatura del sistema: è stato suggerito che il punto di cambiamento di pendenza nella curva possa essere considerato un indicatore della pressione di saturazione sulla superficie di sublimazione (Fissore, et al., 2018).

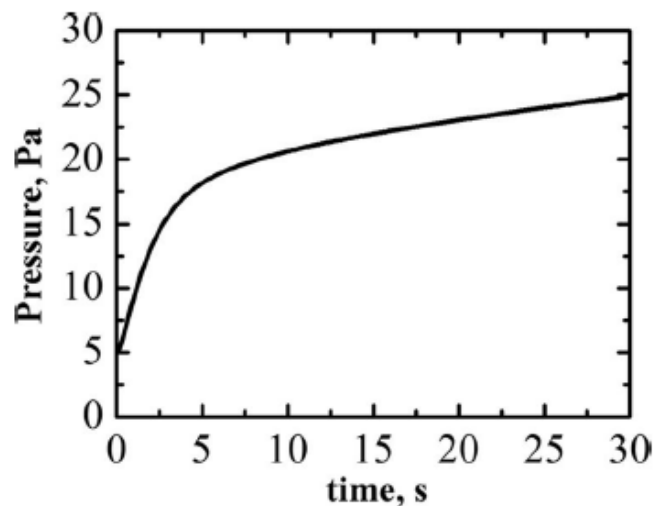


Figura 6. Esempio di curva di aumento della pressione osservata per la liofilizzazione di una soluzione di saccarosio al 5% in peso dopo 3 ore di essiccamento primario a -10°C e 10 Pa.

Per misurare la pressione all'interno della camera ci sono principalmente due tipi di trasduttori di pressione utilizzati nel campo della liofilizzazione: il sensore a conducibilità termica e il manometro capacitivo. Il sensore a conducibilità termica più noto è il misuratore Pirani: questo è un dispositivo simile al ponte di Wheatstone, composto da due filamenti, uno dei quali viene utilizzato come filamento di riferimento, tenuto sotto pressione e composizione costanti, mentre il secondo filamento è il filamento di misurazione, e in questo la temperatura del filamento viene mantenuta a un valore costante. Determinando in ogni istante la quantità di corrente richiesta per farlo, questo valore di corrente è correlato alla pressione del sistema. Una caratteristica importante di questo sensore di conducibilità termica è che la risposta dipende dalla composizione della fase gassosa nella camera, che cambia drasticamente durante l'essiccamento primario (Nail, et al., 2017).

Il manometro capacitivo è un dispositivo composto da due piastre: la distanza tra le piastre e le loro dimensioni determinano la capacità di stoccaggio del condensatore e, pertanto, uno spostamento tra le piastre porta a un cambiamento di capacità, e detto cambiamento di capacità è proporzionale alla pressione del sistema. Il trasduttore di riferimento del sistema è mantenuto a basse pressioni, intorno a 7-10 Torr, il lato opposto è esposto al processo; entrambi i lati sono isolati da un diaframma, e quando la pressione di processo cambia, il diaframma si flette, modificando la geometria e di conseguenza la capacità del sistema. Una delle caratteristiche più importanti di questo dispositivo è che esegue la misurazione della pressione indipendentemente dalla composizione della fase gassosa. Una delle migliori disposizioni che può essere fatta per monitorare la pressione del sistema è l'implementazione di un manometro capacitivo e un misuratore Pirani: questa configurazione consente di eseguire una misurazione comparativa della pressione, poiché il rapporto tra la misurazione fornita da entrambi i dispositivi è vicino all'unità quando il sistema si trova nella fase finale dell'essiccamento primario, perché a quel punto la concentrazione di acqua nella camera di essiccazione diventa molto bassa e la pressione misurata dalla sonda Pirani (che di solito è calibrata in aria) si avvicina a quella del manometro capacitivo (Nail, et al., 2017).

1.3 Parametri K_v e R_p

Per descrivere la dinamica del processo di liofilizzazione sono stati proposti diversi modelli multidimensionali, che risultano essere piuttosto complessi, con una difficile soluzione e non sono adatti per essere implementati in tempo reale. Per questo motivo viene spesso utilizzato un modello monodimensionale, in cui viene descritto il trasferimento di calore e di materia in ogni singola fiala.

Le principali caratteristiche di questo modello sono:

- Il trasferimento di calore è considerato nella sezione congelata del prodotto.
- Il trasferimento di calore per irraggiamento dall'ambiente esterno viene trascurato.

- Sono assunti condizioni pseudo-stazionarie per il bilancio di materia nel prodotto essiccato e di energia nel prodotto congelato (Barresi, et al., 2009) .

Per descrivere il flusso di calore verso il prodotto viene utilizzata l'equazione (1), dove il flusso di calore è proporzionale alla differenza tra la temperatura del ripiano riscaldante e la temperatura nella parte inferiore della fiala, assumendo che la temperatura del prodotto sia uniforme nella direzione radiale. In questo caso il coefficiente di trasferimento di calore K_v viene utilizzato per esprimere la dipendenza del flusso di calore dalla forza motrice, corrispondente alla differenza di temperatura (Pisano, et al., 2011) .

$$J_q = K_v(T_{Shelf} - T_B) \quad (1)$$

Il coefficiente di trasferimento del calore tra la superficie di riscaldamento e il fondo del contenitore è il risultato dalla somma di tre diversi meccanismi di trasferimento del calore che si presentano nel sistema. I contributi dipendono dalle conduttività termiche dei materiali, dalla pressione della camera, e da altre variabili. Il primo meccanismo è il trasferimento di calore per conduzione tra la superficie di riscaldamento e il vetro nei punti di contatto (K_c), il secondo meccanismo è la radiazione proveniente dalle pareti all'interno della camera (K_r) e infine il trasferimento di calore attraverso il gas presente nel sistema come risultato della diffusione browniana e delle collisioni molecolari (K_g), equazione(2) (Pisano, et al., 2011) .

$$K_v = k_c + k_r + k_g \quad (2)$$

Un altro parametro molto importante per descrivere la dinamica del processo è la resistenza del prodotto essiccato al flusso di vapore, usato per esprimere la dipendenza del flusso di solvente (J_w) dalla forza motrice data dalla differenza tra la pressione parziale del solvente nell'interfaccia di sublimazione (P_{wi}) e nella camera di essiccamento (P_{wc}), equazione (3).

$$J_w = \frac{1}{R_p}(P_{W,i} - P_{W,c}) \quad (3)$$

La resistenza al flusso di vapore (R_p) consente di ridurre il numero di parametri del modello utilizzato per rappresentare la dinamica del processo, poiché tiene conto del contributo alla resistenza al flusso dello strato secco e del tappo. La resistenza del flusso di vapore è correlata allo spessore dello strato secco (L_{dried}) mediante l'equazione (4), dove i parametri A_{Rp} e B_{Rp} sono ottenuti sperimentalmente (Giordano, et al., 2011).

$$R_p = R_{p,0} + \frac{A_{Rp} \cdot L_{dried}}{1 + B_{Rp} \cdot L_{dried}} \quad (4)$$

1.4 Problema dello Scale-up del processo

Tra i principali problemi che sorgono nello sviluppo dei processi di liofilizzazione ricordiamo la disponibilità limitata dei principi attivi dei prodotti farmaceutici o biotecnologici e l'elevato costo energetico del processo, poiché la fase di essiccamento primario potrebbe richiedere alcune ore o giorni se non vengono utilizzati i parametri appropriati, quindi ogni lotto di prova rappresenta un grande investimento economico nella prima fase di ricerca, dove vengono eseguiti i primi tentativi allo sviluppo di un ciclo di liofilizzazione efficace ed efficiente. Per superare questa difficoltà, sono stati fatti grandi sforzi nello sviluppo di apparecchiature su piccola scala, che consentono di caratterizzare le prestazioni della formulazione durante le fasi di congelamento, essiccamento primario e secondario in un numero limitato di fiale, consentendo di ottenere cicli scalabili che possano riflettere le stesse condizioni nelle apparecchiature di scala maggiore (Goldman, et al., 2019).

Per eseguire lo scale-up del processo di liofilizzazione è essenziale avere una buona comprensione dei fenomeni di trasferimento di massa e calore che avvengono durante l'essiccamento primario, poiché da questo dipende l'ottenimento di un prodotto di alta qualità e economicamente sostenibile; pertanto, è necessario identificare i fattori che possono portare al cambiamento di questi fenomeni nel sistema e possono generare una variazione della temperatura del prodotto durante il *primary drying*, influenzando il successo del processo. Le principali sfide che possono sorgere nel processo di passaggio da una scala di laboratorio a una scala di produzione sono:

- ***Differenza nella capacità del condensatore:***

È necessario che la capacità di trasferimento di calore e massa del condensatore di ciascun sistema consentano la conversione allo stato solido di tutto il vapore acqueo generato, altrimenti il condensatore verrà sovraccaricato, generando un aumento della pressione nella camera e grandi disuguaglianze nella velocità di sublimazione dei due sistemi. È necessario valutare le prestazioni del condensatore per fare lo scale-up del processo, soprattutto quando vengono utilizzate fasi di essiccamento primario molto aggressive (Rambhatla & Pikal, 2003).

- ***Differenza nei livelli di irraggiamento dovuta alla progettazione di ciascun liofilizzatore:***

Esistono grandi differenze nei livelli di irraggiamento nelle apparecchiature di piccola scala e scala più grande. Il livello di irraggiamento è anche influenzato dallo spazio tra gli *shelf*, dall'emissività della superficie e del materiale della porta del liofilizzatore; nel caso di apparecchiature costruite con porte acriliche, l'effetto delle radiazioni sarà più evidente a causa dell'elevata emissività del materiale (Liu, 2010). Inoltre, è importante ricordare che, diminuendo il numero di fiale utilizzate, aumenta la percentuale di fiale di bordo, le quali sono soggette a un maggiore trasferimento di calore, con conseguente aumento delle temperature del prodotto e tempi di essiccamento primario più brevi (Goldman, et al., 2019).

- ***Differenza nella temperatura di nucleazione del ghiaccio tra il liofilizzatore di scala di laboratorio e quello di scala di produzione:***

Un ciclo di liofilizzazione ottimizzato in laboratorio non può essere trasferito esattamente su una apparecchiatura di scala più ampia a causa della differenza nella qualità dell'aria degli ambienti dove si trovano le apparecchiature, poiché di solito i liofilizzatori su larga scala si trovano in un ambiente sterile, dove il numero di particelle sospese nell'aria è inferiore, fattore che modifica il processo di nucleazione del ghiaccio, il che significa che negli ambienti di produzione le soluzioni congelate possono avere meno siti di nucleazione eterogenei, portando a livelli più alti di sotto-raffreddamento, e di conseguenza viene generato un aumento della resistenza al trasferimento di massa e un incrementando nel tempo del processo di essiccamento primario. Per superare questo problema sono state implementate diverse tecnologie che consentono il controllo della nucleazione, permettendo l'inizio della formazione dei cristalli di ghiaccio alla stessa temperatura, controllando così i tempi di essiccamento primario in entrambi i sistemi (Rambhatla, et al., 2004).

Per realizzare un appropriato scale-up del processo, i parametri selezionati su scala di laboratorio devono tenere conto di quali sono le caratteristiche dei liofilizzatori di scala di produzione. Il design della fiala usata per lo stoccaggio del prodotto (stampato o tubolare) e i tappi devono essere identici in entrambe le apparecchiature, altrimenti verranno generati cambiamenti nel trasferimento di calore, alterando la temperatura del prodotto (Geidobler & Winter, 2013). Al fine di evitare i problemi precedentemente elencati, sono stati proposti alcuni approcci per affrontare le differenze che possono sorgere tra le due apparecchiature: il primo approccio è quello di stabilire uno spazio di progettazione "robusto", cioè vengono determinate una serie di condizioni operative per preservare la qualità del prodotto finale sia su scala di laboratorio che in liofilizzatori di scala industriale; il secondo approccio è l'implementazione di una ricetta che possa essere utilizzata in liofilizzatori di diverse scale di produzione. Sebbene entrambi gli approcci consentano di risolvere le principali sfide del processo, non viene effettuato un vero scale-up del processo, poiché la stessa ricetta viene utilizzata in entrambi i liofilizzatori, il che significa che è una ricetta eccessivamente conservativa, che sicuramente porta a inutili aumenti dei costi di produzione (Fissore & Barresi, 2011).

Un terzo approccio è stato proposto come alternativa per fare lo scale-up, Tsinontides et al., 2004 hanno proposto l'uso di un modello in cui i dati sperimentali sono utilizzati per calcolare i coefficienti di trasferimento di calore usando un processo di liofilizzazione a fiala singola, supponendo che la resistenza dello strato al flusso di vapore non sia influenzata dalla scala dell'apparecchiatura quando viene utilizzata la stessa velocità di raffreddamento nella fase di congelamento; questo modello viene successivamente utilizzato per valutare le prestazioni del ciclo di liofilizzazione in diverse condizioni operative, come la pressione della camera e la temperatura dello *shelf*, nel caso in cui la temperatura del prodotto superi il punto critico di collasso, è necessario eseguire un procedimento *trial and error* per determinare la nuova ricetta (Fissore & Barresi, 2011).

1.5 Mini-FD, Micro-FD e REVO

Per superare i problemi che possono sorgere nello *scale-up* del processo sono stati fatti grandi sforzi nello sviluppo di apparecchiature di piccola scala che consentono di caratterizzare le prestazioni della formulazione durante le fasi di congelamento, essiccamento primario e secondario in pochi flaconi, permettendo di ottenere cicli scalabili che possano riflettere le stesse condizioni nei liofilizzatori di maggiori dimensioni.

Tra le apparecchiature di liofilizzazione su piccola scala che sono state progettate per questo scopo ci sono il mini liofilizzatore (Mini-FD) sviluppato dalla Sp Scientific e il micro-FD sviluppato dalla Millrock Technology: Entrambe le tecnologie hanno integrato diverse tecniche che consentono di risolvere il problema dell'irraggiamento atipico presente all'interno della camera; di conseguenza, entrambe le apparecchiature sono in grado di fornire cicli scalabili (Gieseler & Gieseler, 2019).

Il mini liofilizzatore chiamato mini-FD ha un'area dello *shelf* disponibile che consente di alloggiare fino a 7 fiale 20R (20 cm³), una fiala al centro e sei fiale di bordi: questa apparecchiatura è in grado di imitare il profilo di temperatura del prodotto ottenuto in liofilizzatori su scala di produzione. Ciò è possibile perché il mini-FD ha quattro pareti interne a temperatura controllata e uno *shelf* inferiore e superiore che hanno anche essi un controllo della temperatura: questo sistema consente di risolvere il problema principale del trasferimento anomalo di calore quando viene utilizzato un numero limitato di fiale, offrendo la possibilità di riprodurre le caratteristiche del processo di essiccamento su scala più grande. Il liofilizzatore ha anche misuratori di flusso di massa TDLAS, misuratore di pressione Pirani e manometro capacitivo, dispositivi che consentono la misurazione della resistenza del flusso di vapore, variabile che può essere influenzata quando viene effettuato un aumento della scala del processo, poiché si presenta una variazione della temperatura di nucleazione del ghiaccio quando si lavora con grandi volumi di produzione. Obeidat et al. nel 2017 hanno condotto studi preliminari con questa apparecchiatura dove hanno dimostrato che, avendo temperature di parete regolabili, i coefficienti di trasferimento del calore e i profili di temperatura del prodotto ottenuti nel mini-FD possono essere approssimati con grande precisione a quelli ottenuti in liofilizzatori su larga scala (*LyoStar II*).

L'altro tipo di liofilizzatore che è stato sviluppato su piccola scala è il Micro-FD, che è stato progettato dalla Millrock Technology, apparecchiatura che è stata utilizzata in questo lavoro di Tesi: questo apparecchio supera il problema dell'irraggiamento atipico che si verifica quando viene utilizzato un piccolo numero di flaconi, e fornisce un controllo ottimale sulle fasi di congelamento ed essiccamento, al fine di ottenere la stessa storia termica tra il processo su scala di laboratorio e liofilizzatore commerciale. Questo liofilizzatore ha la capacità di stoccare 7 fiale 20R (20 cm³) o 19 fiale 6R (6 cm³), e nell'apparecchiatura è incorporato un anello di alluminio che fornisce un controllo ottimale della temperatura dei flaconi al bordo del lotto, essendo una linea di trasferimento di calore indipendente dallo *shelf*, chiamato *LyoSIM*. L'anello viene messo in contatto con le fiale esterne e in questo modo *LyoSIM* offre la possibilità di simulare la presenza di fiale centrali o fiale di bordo, ottenendo una serie di coefficienti di trasferimento di calore (K_v) per il

lotto in esame. Poiché *LyoSIM* è controllato solo dalla temperatura media del prodotto in tempo reale, il Micro-FD può essere utilizzato nella prima fase dello sviluppo del ciclo di liofilizzazione, consentendo di ridurre la quantità da utilizzare del costoso principio attivo della formulazione oggetto di studio. (Goldman, et al., 2019).

Il Micro-FD ha anche la tecnologia Accuflux, un sensore di flusso di calore situato direttamente sulla superficie dello *shelf*: questo monitora il flusso di calore durante tutto il processo di congelamento e essiccamento primario e secondario, determinando i valori dei parametri critici del processo, come il coefficiente di trasferimento del calore (K_v) e consente di valutare l'effetto che l'uso di diversi livelli di vuoto e temperatura dello *shelf* ha sul flusso di calore durante la fase di essiccamento primario (Thompson, et al., 2017) .

Per fare lo scale-up del processo in questo lavoro di Tesi è stato utilizzato il liofilizzatore REVO, sviluppato dalla Millrock Technology: questo è un liofilizzatore di ricerca e sviluppo di maggiori dimensioni ed ha 5 *shelf*, con un'area di 10 ft² e una velocità di condensazione massima di 20 litri in 24 ore, progettato per soddisfare le esigenze della produzione su piccola scala. Il sistema incorpora il misuratore di pressione Pirani e il manometro capacitivo per determinare la fine della fase di essiccamento primario. Il liofilizzatore utilizza una serie di controlli PLC e un PC per programmare e raccogliere una serie di dati. Il software consente di eseguire un processo di liofilizzazione in modalità automatica (Thompson, 2014).

1.6 Obiettivi della Tesi

Lo studio sviluppato in questa Tesi è stato condotto utilizzando il liofilizzatore micro-FD e il liofilizzatore REVO. Nella prima fase della Tesi il funzionamento del liofilizzatore micro-FD è stato caratterizzato con l'uso dei flaconi 20R, dove l'omogeneità del lotto è stata valutata durante la fase di essiccamento primario. I test sono stati eseguiti in diverse condizioni di temperatura dello *shelf*, pressione della camera e temperatura dell'anello *LyoSim*, e sono stati analizzati i profili di temperatura di ciascuna termocoppia situata nelle fiale esterne e interne, il flusso di sublimazione e la deviazione standard della perdita di peso di ciascun flacone, informazioni importanti per determinare se tutti i flaconi si comportano allo stesso modo e stabilire quanto differiscono dal comportamento medio. In ogni test è stata modificata una condizione di processo alla volta.

L'interesse nell'uso del micro-FD risiede nella possibilità di replicare i cicli di liofilizzazione eseguiti in questa apparecchiatura in liofilizzatori su scala industriale e valutare quanto siano simili i risultati ottenuti in entrambi i sistemi, con l'obiettivo di fare lo scale-up del processo. In questo caso particolare, i risultati ottenuti nei liofilizzatori micro-FD e REVO vengono confrontati attraverso l'implementazione di un modello matematico unidimensionale per la descrizione dei fenomeni di trasferimento massa e trasferimento di calore che avvengono durante il processo, il modello matematico utilizzato si basa sulla definizione di due parametri, il coefficiente di trasferimento del calore K_v e la resistenza della matrice solida al flusso di vapore R_p .

2. Materiali e metodi

In questo capitolo verranno analizzati i materiali, le apparecchiature e la metodologia utilizzata per condurre gli esperimenti alla base del lavoro di questa Tesi, descrivendo le condizioni operative e gli strumenti di misurazione adoperati in ciascuna prova sperimentale, nonché le principali caratteristiche dei liofilizzatori Micro-FD e REVO impiegati, i loro componenti e il sistema di controllo di ciascuna apparecchiatura. Verrà inoltre descritto il modello matematico monodimensionale usato per descrivere il comportamento del sistema e i parametri impiegati nel modello, come il coefficiente di trasferimento del calore K_v e la resistenza della matrice solida al flusso di vapore R_p .

2.1 Materiali utilizzati

Gli esperimenti condotti in questo studio sono stati fatti con una soluzione acquosa di saccarosio con una concentrazione del 10% in peso. Il saccarosio ($C_{12}H_{22}O_{11}$) usato è stato prodotto dalla Sigma-Aldrich con una purezza superiore al 99,5%, e questa sostanza è stata scelta perché è uno dei *bulking agents* più utilizzati attualmente, con l'obiettivo di mantenere una struttura stabile del prodotto essiccato anche se la soluzione è molto diluita, come nel caso delle proteine e dei principi attivi dei farmaci. Inoltre, eccipienti come il saccarosio consentono la formazione di una struttura vetrosa che permette di preservare la struttura terziaria delle proteine durante l'allontanamento del solvente (Rey & May, 2010).

I flaconi utilizzati in tutti i test effettuati nei liofilizzatori Micro-FD e REVO sono stati di tipo 20R *tubing*. Le dimensioni dei contenitori sono mostrate nella **Figura 7**. I test svolti nel Micro-FD sono stati condotti con un totale di 7 flaconi, di cui uno centrale e 6 esterni, nel caso del REVO sono stati utilizzati un totale di 84 flaconi. La configurazione di ciascun batch verrà illustrata in seguito.

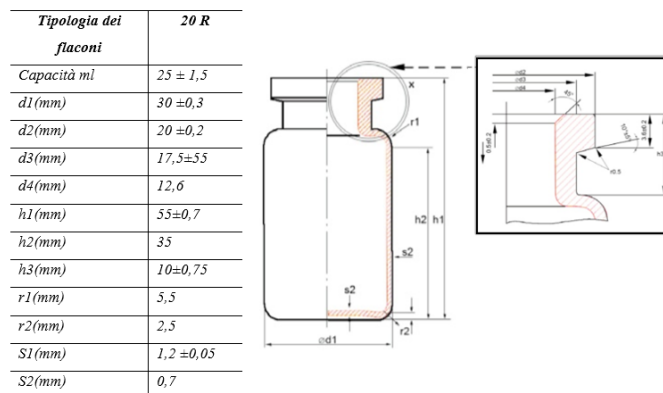


Figura 7. Caratteristiche dei flaconi 20R (figura tratta da Shandong HonHai Industrial Co. Ltd, 2019 e riprodotta con modifiche)

I flaconi usati durante il processo di liofilizzazione sono stati parzialmente chiusi con un tappo (*o stopper*) “two-legs”, dispositivo che ha aperture laterali che permettono la fuoriuscita del solvente sublimato durante la fase di essiccamento primario, **Figura 8** (Mcandrew, et al., 2019).



Figura 8. Configurazione dei tappi “two-legs”(figura tratta da Mcandrew, et al., 2019 e riprodotta con modifiche)

2.2 Apparecchiature utilizzate

Di seguito vengono presentate le caratteristiche e i componenti dei due tipi di liofilizzatori utilizzati in questa Tesi:

2.2.1 *Micro-FD*

Questo liofilizzatore di scala di laboratorio ha un assemblaggio compatto che consente di condurre il processo in modo efficiente in uno spazio ridotto, con dimensioni di 30 "x 20" x 67", **Figura 9,a**. Le parti principali per il corretto funzionamento dell'apparecchiatura sono le seguenti.

- **La camera di liofilizzazione:**

Si tratta di uno spazio cilindrico che si trova nella parte superiore dell'apparecchiatura al cui interno si distinguono vari componenti essenziali per effettuare il processo di liofilizzazione, come ad esempio l'anello *Lyosim*, il sensore *Accuflux* e lo *shelf* riscaldante, per questo motivo la camera è una delle parti più importanti del sistema, **Figura 9,b**. Ogni volta che viene avviato un test la camera viene chiusa ermeticamente attraverso un coperchio che presenta una guarnizione in silicone per impedire l'ingresso dell'aria; inoltre, il coperchio ha l'importante caratteristica di essere termocontrollato, offrendo la possibilità di simulare la presenza di uno *shelf* superiore, come quelli presenti nei liofilizzatori di più grande scala di produzione, simulando così le condizioni dei liofilizzatori industriali e facilitando il processo dello scale-up .

Il sistema *Accuflux* è un sensore ultrasottile che misura il flusso di calore dal ripiano riscaldante ai flaconi.



Figura 9.(a) MicroFD®, (b) Immagine della camera in cui è possibile vedere gli elementi principali come il sensore Accuflux e l'anello *LyoSim*

- ***Shelf***

Lo *shelf* è responsabile del congelamento del prodotto all'interno dell'unità e costituisce la fonte di calore per effettuare le fasi di essiccazione del processo: attraverso questo dispositivo circola un fluido termico che offre la capacità di effettuare il processo di liofilizzazione. Il Micro-FD utilizza *Slytherm* come fluido termico poiché è un polimero siliconico altamente stabile e resistente, permettendo un intervallo operativo da -60°C a 60°C , è caratterizzato da una bassa viscosità, sostanzialmente inodore e con una tossicità molto bassa (Dow Chemical Company, 2011). Lo *shelf* si trova nella parte inferiore della camera, è di forma circolare con una dimensione di 6" di diametro. I flaconi che contengono il prodotto sono posizionati sullo *shelf*: il numero di contenitori che possono essere posizionati all'interno della camera varia in base alla dimensione e dell'anello *Lyosim*, essendo possibile utilizzare configurazioni di 7, 19 o 37 flaconi, disposizioni che assicurano che tutti i contenitori siano in contatto tra di loro e con l'anello **Figura 10**.

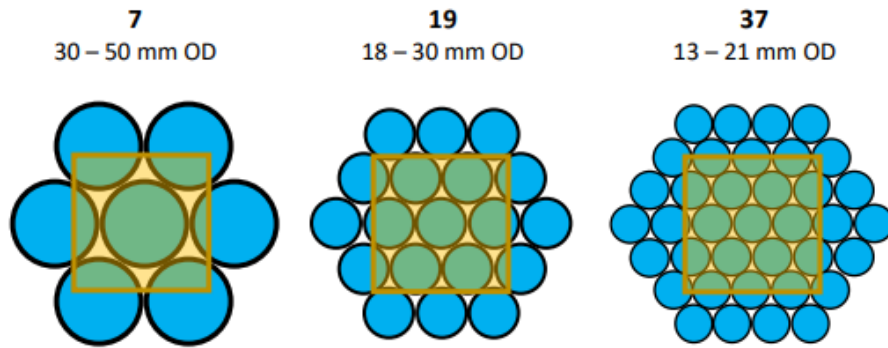


Figura 10. Possibili configurazioni dei flaconi all'interno della camera del MicroFD, il riquadro giallo rappresenta il sensore del flusso di calore *Accuflux* (figura tratta da Millrock Technology, 2019 e riprodotta con modifiche)

• *Lyosim*

Questo componente si trova all'interno della camera di essiccazione, ed è composto da sei blocchi di acciaio che, unendosi, formano un anello attorno ai flaconi, dove i flaconi esterni sono a diretto contatto con l'anello. **Figura 11.** Il vantaggio principale del dispositivo è che ha un sistema di controllo di temperatura che simula la presenza di un'altra fila esterna di flaconi, poiché la temperatura dell'anello può essere fissata a partire dalla temperatura media del prodotto, garantendo così che tutti i flaconi del sistema siano nelle stesse condizioni operative.

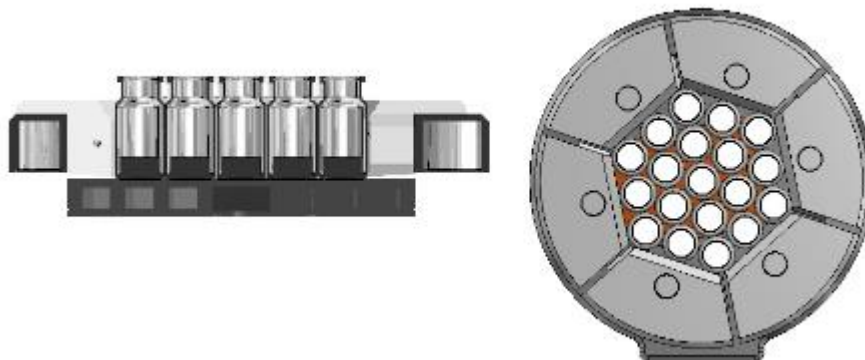


Figura 11. Immagine dove viene visualizzata la configurazione dei blocchi di acciaio che compongono l'anello *LyoSim* (figura tratta da Millrock Technology 2017a, e riprodotta con modifiche)

• Condensatore e pompa da vuoto

Il condensatore riceve il vapore prodotto durante il processo di sublimazione per effettuare la completa condensazione. Questa apparecchiatura è costituita da una serpentina di raffreddamento, attraverso la quale passa un fluido di raffreddamento che consente di raggiungere condizioni di lavoro fino a -70°C , ottenendo una velocità di condensazione fino a 0,5 L/24 ore.

Tra i componenti più importanti del Micro-FD c'è la pompa da vuoto, poiché consente di raggiungere pressioni molto inferiori a quelle atmosferiche, condizione fondamentale per condurre il processo di sublimazione. In questo caso particolare, lo stadio di essiccazione primario è stato

condotto a pressioni comprese tra 60 e 90 mTorr, dove la temperatura di sublimazione del ghiaccio puro è rispettivamente di circa -44°C e -40°C .

Il monitoraggio della pressione nel MicroFD è realizzato per mezzo del manometro capacitivo Baratron (MKS, Andover, MA, USA) e della sonda Pirani (Inficon, Bad Ragaz, Svizzera): è importante sottolineare che il manometro Baratron misura pressioni comprese tra 0-2000 mTorr e, pertanto, questo sensore leggerà i dati solo quando il sistema è in condizioni di vuoto; d'altra parte, il sensore Pirani è calibrato in aria e misura le pressioni tra 0-760,000 mTorr. La temperatura in questo liofilizzatore può essere monitorata con un massimo di 8 termocoppie, posizionate in diversi flaconi del lotto.

2.2.2. REVO

Questa apparecchiatura sviluppata dalla Millrock Technology è un liofilizzatore su scala pilota, utilizzato nelle prime fasi dello sviluppo di un ciclo di liofilizzazione, ed è di maggiore dimensione rispetto al Micro-FD, con dimensioni di 35" x 46" x 75", **Figura 12,a**. L'apparecchiatura si caratterizza per avere una camera di liofilizzazione in cui sono distribuiti 5 *shelf*, ciascuno con una superficie di circa 0.2 m^2 , essendo possibile posizionare su ciascuna superficie circa 200 flaconi di tipo 20R. Questa apparecchiatura ha un intervallo di temperature operative compreso tra -70°C e 65°C , poiché il liofilizzatore ha un sistema di raffreddamento che consente di raggiungere temperature molto basse, **Figura 12,b**.

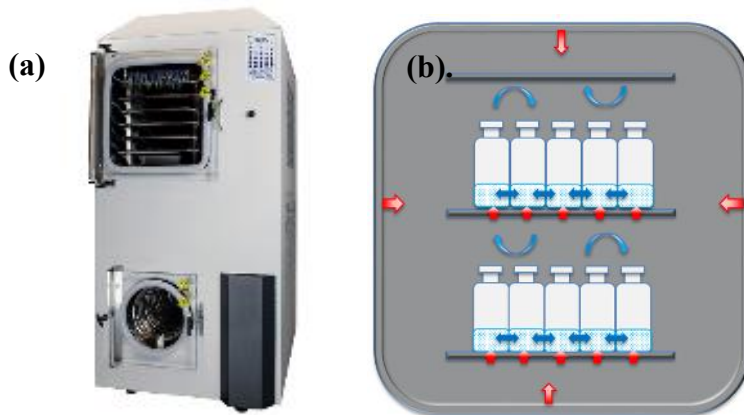


Figura 12.(a) REVO®, (b) Rappresentazione grafica della camera di liofilizzazione. (figura tratta da Millrock Technology, 2017b e riprodotta con modifiche)

Il REVO ha un condensatore esterno costituito da una serpentina di raffreddamento che può funzionare a circa -80°C , con una capacità di estrazione massima di 30L. Il monitoraggio della pressione viene eseguito con il manometro capacitivo Baratron 626A (MKS, Andover, MA, EE. UU.) e con il misuratore di tipo capacitivo Pirani di tipo PSG-101-2 (Inficon, Bad Ragaz, Svizzera). La temperatura in questo liofilizzatore può essere monitorata con un massimo di 10 termocoppie, posizionabili in diversi flaconi del batch.

Infine, per il corretto funzionamento del liofilizzatore è necessario che l'apparecchiatura sia collegata alla rete dell'aria compressa, per consentire il sistema di attuazione delle valvole dell'apparecchiatura, alla rete elettrica, all'azoto, per garantire il valore di pressione adeguato, e all'acqua.

2.2.3 LyoPat®

LyoPat è la tecnologia analitica di processo utilizzata sia nel liofilizzatore Micro-FD che nel REVO per controllare e monitorare il sistema, consentendo all'operatore di controllare tutti i parametri critici; inoltre, questo software consente di gestire ed ottimizzare le varie fasi del processo di liofilizzazione attraverso l'uso di tecnologie integrate, come il congelamento con nucleazione controllata.

Il software in entrambe le apparecchiature ha un'interfaccia grafica di facile utilizzo, che consente un rapido accesso alle informazioni più importanti del sistema, come la pressione della camera di liofilizzazione, la temperatura dello *shelf*, la temperatura del prodotto, etc, **Figura 13**. I componenti principali dell'interfaccia sono descritti di seguito.



Figura 13. Immagine dell'interfaccia del software

- **Sezione 1:** Mostra le informazioni principali del sistema. Nella prima parte è possibile osservare i dati relativi al ciclo in corso, come il tempo trascorso in ciascuna fase del sistema, nonché la data e l'ora; nel riquadro seguente compaiono i valori di temperatura

dello *shelf*, del condensatore e la temperatura media del prodotto in tempo reale. Infine, vengono fornite informazioni riguardanti la pressione del sistema, tramite la lettura dei manometri Pirani e Baratron, oltre ad essere fornita la temperatura dell'anello *LyoSim*.

- Sezione 2:** è disponibile una varietà di informazioni riguardanti, ad esempio, la posizione del coperchio superiore del liofilizzatore, il coefficiente di trasferimento di calore K_v , il numero di termocoppie usate per la prova e il flusso di calore. Per il posizionamento del coperchio del liofilizzatore ci sono tre possibili configurazioni disponibili nel software (Home, 4", 3"): queste opzioni sono abilitate solo se la pressione del sistema è di circa 500.000 mTorr. Per quanto riguarda le informazioni sulla temperatura, le misurazioni effettuate da ciascuna termocoppia sono riportate in gradi Celsius; in aggiunta, accanto alle misure sono ubicate le opzioni “*Enabled*” o “*Disabled*”, che consentono rispettivamente di abilitare o disabilitare l'uso della termocoppia; infine, nella sezione “*Group to avg*”, c'è una casella quadrata accanto a ciascun sensore, offrendo all'operatore la possibilità di selezionare le misurazioni che verranno prese in considerazione per calcolare la temperatura media del prodotto da usarsi per il calcolo della temperatura del *LyoSim*.
- Sezione 3:** Questa parte dell'interfaccia mostra le informazioni in tempo reale relative al flusso di massa, al coefficiente K_v e alla resistenza della matrice al flusso di vapore R_p . Oltre a ciò, è possibile osservare in tempo reale l'andamento delle varie fasi del processo, come il congelamento, l'essiccamento primario e l'essiccamento secondario.

The screenshot displays the 'Analyze Mode' interface with the following sections:

- Recipe Information:**
 - Recipe Name: [Empty]
 - Product Name: ANT20P38CENTRALET11106
 - Product #: [Empty]
 - Description: Saccarosio 10% 20R5ml
 - Auto Backfill: On 400 mT
 - Auto Stopping: On
- BATCH INFO:**
 - Loading: Off Ready? Go
 - Shelf °C: 0.0
 - LyoSim °C: 0.0
 - Concentration %w/w: 10.0
 - Number Of Vials: 7
 - Critical Temp (Tc) °C: 0.0
 - Vial OD: cm 3.00
 - Vial ID: cm 2.80
 - Water per vial: g 5.0
 - Vial Mass: g 16.18
- FREEZING:**
 - Step: 2 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10)
 - Shelf Temp °C: [-20, -20, -40, -40, 0, 0, 0, 0, 0, 0]
 - Time min: [0, 5, 60, 60, 0, 0, 0, 0, 0, 0]
 - LyoSim Track From: [Dropdown] 9 Track Offset: -1.0 °C
 - FINAL FREEZE: Shelf Temp °C [-40.0], Hold Time min [5], Primary Vac Start mT [500]
- PRIMARY DRYING:**
 - Shelf Temp °C: [-20, -20, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0]
 - Time min: [0, 360, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0]
 - Pressure mT: [38, 38, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0]
 - LyoSim Track From: TP3 [Dropdown] 3 Track Offset: -1.0 °C
 - Auto EOPD: ENABLED [0] mT
 - Activate on Step#: [0]

Figura 14. Immagine della finestra *Analyze* dove viene inserita la ricetta utilizzata nelle prove sperimentali

- **Sezione 4:** In questa sezione sono riportati i collegamenti che indirizzano alle diverse modalità operative disponibili nel software. In questo studio, è stata utilizzata solo la modalità *analyze*, mostrata nella **Figura 14**.

- **Analyze mode:**

La modalità *Analyze* consente di configurare manualmente la ricetta desiderata per essere eseguita dal liofilizzatore, mentre il sistema *LyoPAT* monitora tutti i parametri critici del processo, come la temperatura media del prodotto, la temperatura dello *shelf*, la pressione del sistema e la temperatura dell'anello *LyoSim*. La modalità *Analyze* è stata scelta per condurre tutti i test sperimentali di questo studio; la ricetta utilizzata in ciascun ciclo di liofilizzazione è mostrata nella **Figura 14**. La finestra dell'interfaccia è suddivisa nelle seguenti sezioni:

- **Batch info:** In questo luogo è possibile inserire le informazioni sulle caratteristiche del lotto di prova, come ad esempio la concentrazione della soluzione, il numero di flaconi utilizzati, le loro dimensioni, il peso e la quantità di soluzione presente in ciascuno dei contenitori, oltre a specificare la temperatura critica del prodotto, poiché questa non può essere superata in nessuna fase del test.
- **Freezing:** Questa sezione corrisponde alla fase di congelamento. Il software permette di definire fino a 10 step in questo stadio, ma per le prove sperimentali sono stati utilizzati solo 4 di questi. Innanzitutto, è necessario che la temperatura di ciascuno dei flaconi sia la stessa per ottenere l'uniformità del sistema; per questo, il primo step è stabilito in modo tale che nel minor tempo possibile (tempo = 0) la temperatura dello *shelf* sia pari a 20°C e, successivamente, questa condizione è stata mantenuta per 5 minuti. Nel terzo step di questa fase la temperatura dello *shelf* viene abbassata con una rampa di 1°C/min per 60 minuti fino a raggiungere -40°C: durante questo periodo avviene la formazione dei nuclei dei cristalli di ghiaccio. Nell'ultimo step del processo di congelamento, il sistema è stato mantenuto a -40°C per un'ora per garantire il congelamento completo del campione.
- **Primary drying:** In questa sezione viene descritta la fase dell'essiccamento primario. Qui l'interfaccia ha a disposizione più strumenti rispetto alla sezione precedente: ad esempio c'è la possibilità di controllare la pressione della camera; inoltre, il software permette di programmare un numero maggiore di step: in totale ci sono 16 step disponibili anche se, nel presente lavoro, ne sono stati utilizzati solo 2. Il primo step consiste nel raggiungere la temperatura e la pressione desiderate nel tempo più breve possibile (tempo = 0), successivamente queste condizioni sono state mantenute per 360 minuti quando i test avevano l'obiettivo di determinare il coefficiente K_v o è stato inserito un valore di 9999 minuti quando i test avevano l'intenzione di determinare il coefficiente R_p del sistema, interrompendo la prova in corrispondenza della fine della fase, determinata in base al rapporto tra le misurazioni dei sensori Pirani e Baratron. Ciò è possibile grazie al fatto che la sonda Pirani durante la fase di essiccamento primario fa una lettura della pressione di circa il 60% maggiore di quella registrata dal manometro capacitivo, dato che la conducibilità termica del vapore è 1,6 volte superiore a quella registrata in azoto (Nail, et al., 2017). Il criterio utilizzato per determinare il tempo finale della prova è stato l'identificazione

del punto di *onset*, corrispondente alla variazione della pendenza della curva che mette in relazione la pressione registrata dai dispositivi Pirani e Baratron, come è stato proposto da Patel, et al., 2010, **Figura 15**.

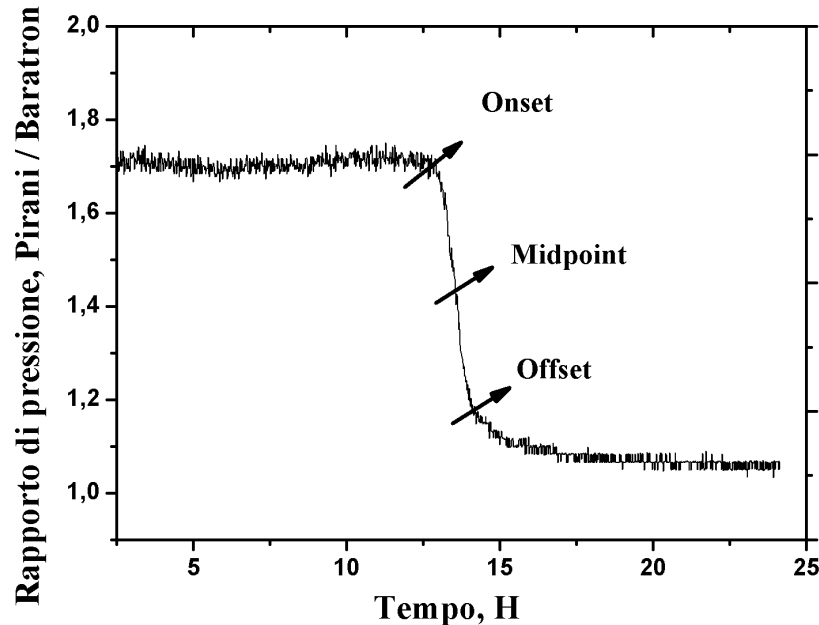


Figura 15. Esempio di rapporto tra la misura della pressione fatta dai due sensori, in funzione del tempo.

Infine, nella parte inferiore di questa sezione presenta l'opzione chiamata *Track offset*: questa parte si riferisce alla temperatura dell'anello *LyoSim*, definita rispetto alla temperatura media del prodotto. Per questi test sperimentali sono state valutate le opzioni di -1°C , -3°C e -5°C .

L'apparecchiatura ha opzioni aggiuntive, come la possibilità di eseguire la fase di essiccamento secondario, per ottenere il completo desorbimento dell'acqua legata al prodotto, però questa opzione non è stata utilizzata in questo studio.

2.3 Descrizione delle prove sperimentali

Di seguito saranno descritti i test sperimentali effettuati durante questo studio: nella prima parte è stata effettuata la valutazione dell'omogeneità del lotto ottenuto nel Micro-FD; successivamente, sono stati determinati i coefficienti K_v e R_p in questa apparecchiatura. Successivamente, i test eseguiti sono stati replicati nel REVO: in questa fase sono stati confrontati i risultati ottenuti in entrambi i liofilizzatori. In ciascuna delle sezioni sono state specificate le condizioni operative, la metodologia sperimentale utilizzata e i calcoli effettuati.

2.3.1 Studio della omogeneità del lotto in un micro-liofilizzatore

Nella prima parte dello studio è stata condotta una serie di test per stabilire se tutti i flaconi si comportavano allo stesso modo e stabilire quanto differivano dal comportamento medio a diverse condizioni di pressione e temperatura. A tal fine è stata eseguita una serie di esperimenti a diverse condizioni di temperatura dello *shelf*, pressione della camera e temperatura dell'anello *LyoSim*. Il sistema consisteva in 7 flaconi di tipo 20R, dove erano posizionati in totale 4 termocoppie, **Figura 16**. Questi dispositivi hanno fornito il profilo di temperatura media del prodotto contenuto sia nei flaconi a contatto con l'anello *LyoSim* sia il profilo di temperatura del contenitore situato al centro del lotto. La posizione delle termocoppie è stata la stessa durante tutti i test condotti in questa fase sperimentale.

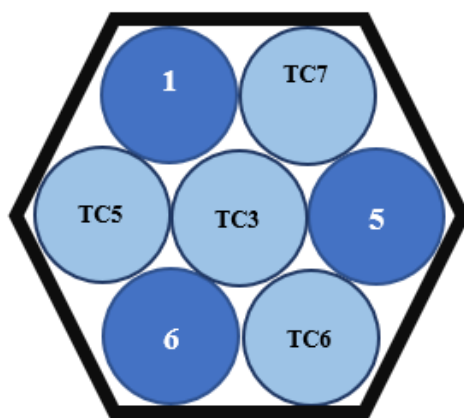


Figura 16. Posizione dei flaconi all'interno della camera di liofilizzazione con le rispettive posizioni della termocoppia, rappresentate nel diagramma con le lettere TC

I test eseguiti per valutare l'omogeneità del lotto sono riportati nella **Figura 17**: per ogni condizione di temperatura del ripiano e pressione della camera sono state considerate 3 variazioni della temperatura dell'anello *LyoSim*, ovvero si è fissata la temperatura dell'anello in base alla temperatura media del prodotto in modo che la temperatura di questo dispositivo fosse diminuita di 1°C, 3°C o 5°C rispetto alle condizioni del prodotto in esame. La temperatura è stata determinata dal valore riportato dalla termocoppia centrale (TC3).

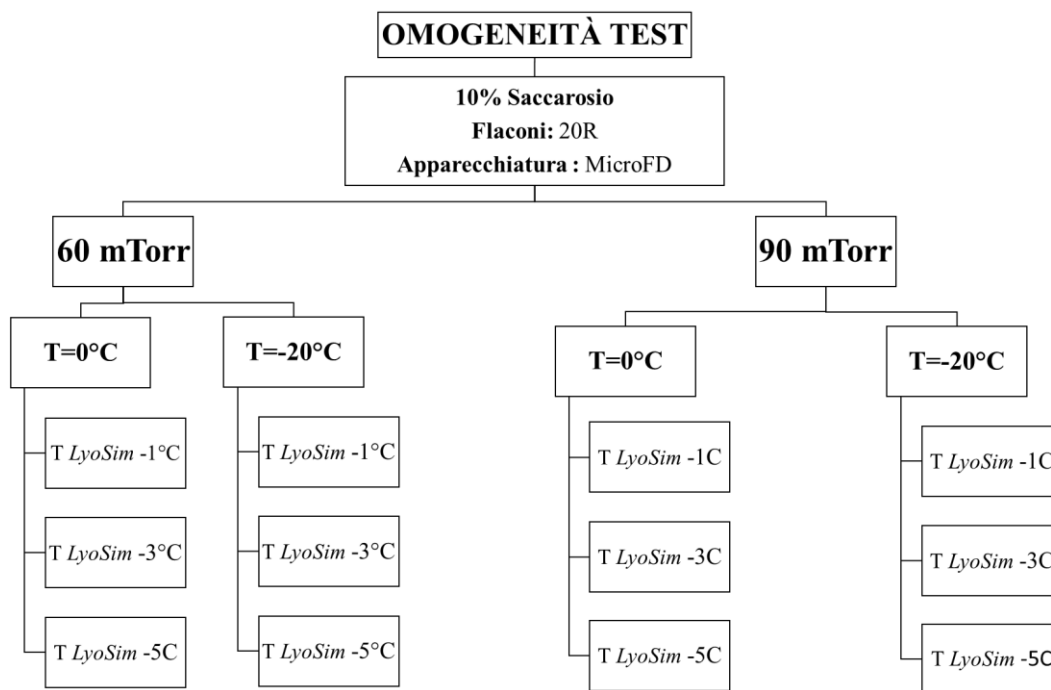


Figura 17. Test sperimentali eseguiti nella prima parte dello studio.

• **Procedura effettuata:**

Ciascuno dei test condotti in laboratorio è stato effettuato implementando la metodologia che verrà descritta di seguito:

1. In un beaker da 250 ml vengono aggiunte le quantità necessarie di acqua e saccarosio per preparare una soluzione con una concentrazione al 10% in peso.
2. Con una micropipetta, 5 ml di soluzione vengono depositati in ciascuno dei 7 flaconi del lotto.
3. I flaconi con la soluzione vengono pesati per mezzo di una bilancia digitale (Mettler Toledo, modello MS204S/01).
4. I contenitori in cui la temperatura non è monitorata vengono parzialmente chiusi utilizzando i tappi “two-legs”, mentre nei restanti flaconi vengono posizionate le termocoppie. Particolare attenzione viene posta nel posizionare ciascuno dei sensori nella parte centrale del fondo dei contenitori per registrare correttamente la temperatura.
5. I flaconi vengono posizionati all'interno della camera di liofilizzazione.
6. Il coperchio del liofilizzatore è chiuso ermeticamente.

7. Viene inserita la ricetta illustrata nella **Figura 14**, dove sono specificate le condizioni in cui vengono eseguite le fasi di congelamento e di essiccamento primario, In questo tipo di test la durata del *primary drying* è stata sempre di 360 minuti, le condizioni di temperatura del *shelf*, pressione della camera e temperatura del *LyoSim* sono stati specificate nella Figura 17.
8. Inizia il processo di liofilizzazione. Durante il test le condizioni operative sono costantemente monitorate.
9. Fine del test con conseguente rilascio del vuoto.
10. Rimozione dei flaconi del liofilizzatore, rimozione dei tappi e delle termocoppie. Il peso finale dei flaconi viene registrato per conoscere la quantità di massa persa durante il ciclo.

Per determinare l'omogeneità del lotto e l'effetto delle principali condizioni operative del sistema sono stati analizzati i profili di temperatura ottenuti con le termocoppie, i valori di perdita di massa registrati nei flaconi esterni e interni, e la deviazione standard tra i valori di perdita di massa riportati. Inoltre, questo gruppo di risultati è stato utilizzato per scegliere le migliori condizioni di lavoro dell'anello *LyoSim*, determinando la temperatura più appropriata per simulare la presenza di una fila aggiuntiva di flaconi che consenta di ottenere un sistema omogeneo.

2.3.2 *Uso del MicoFD per il calcolo dei parametri del modello K_v e R_p*

Per descrivere il trasferimento di calore e di massa che ha luogo in ciascuno dei flaconi durante il processo di liofilizzazione viene utilizzato il modello monodimensionale dettagliato nella sezione 1.3. Per l'utilizzo di questo modello è necessario conoscere il valore del coefficiente di trasferimento del calore (K_v) e la resistenza della torta essiccata al flusso di vapore (R_p). Il valore di questi parametri è stato determinato mediante una serie di test sperimentali condotti a diverse condizioni operative di temperatura dello *shelf*, pressione della camera e temperatura dell'anello *LyoSim*, **Figura 18** e **Figura 19**. Nelle prove il peso di ogni flacone è stato registrato prima e dopo il processo, sono state utilizzate anche termocoppie per monitorare la temperatura del prodotto. La posizione dei contenitori e delle termocoppie sono identici a quelli illustrati nella sezione 2.3.1.

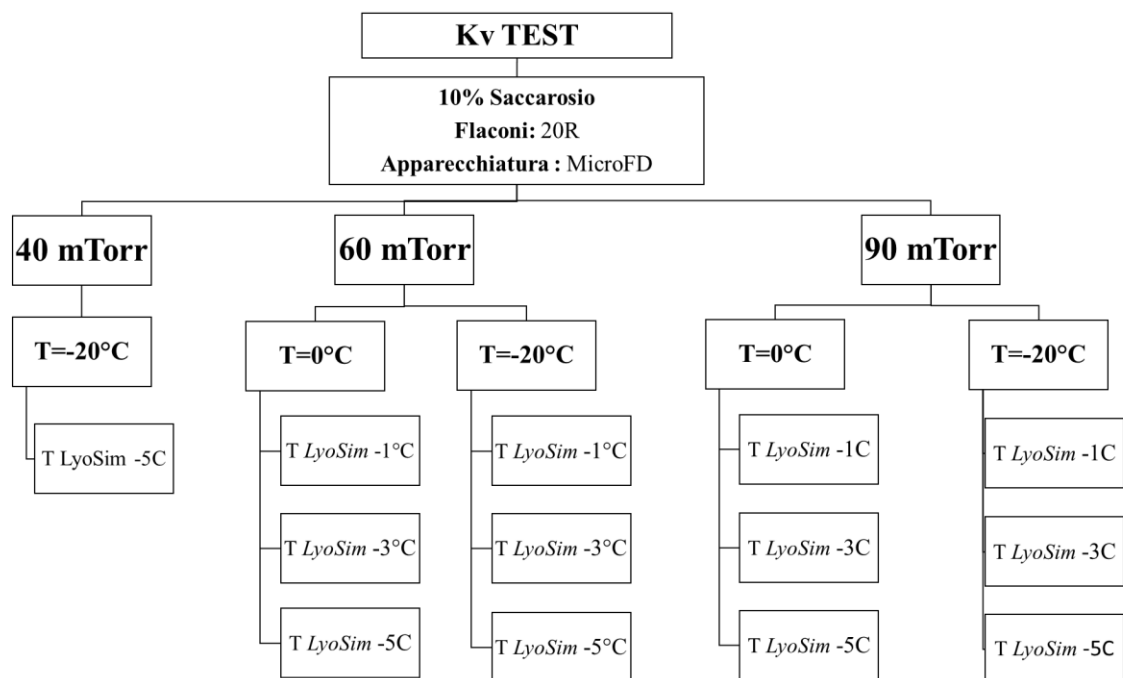


Figura 18. Prove sperimentali condotte per il calcolo del parametro K_v nel Micro-FD

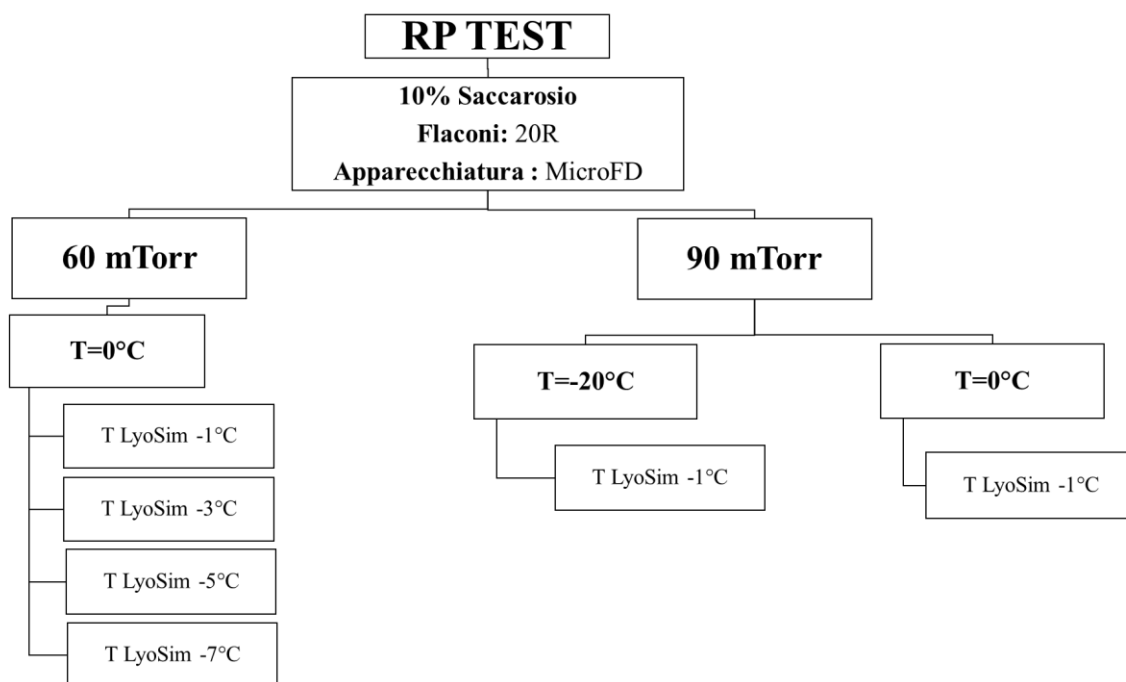


Figura 19. Prove sperimentali condotte per il calcolo del parametro R_p nel Micro-FD

- **Procedura effettuata:**

Tutti i test eseguiti per valutare il parametro K_v sono stati condotti implementando la stessa procedura sperimentale descritta nella sezione 2.3.1. Nel caso del parametro R_p , i test condotti

hanno avuto una variazione della procedura sperimentale al passo 7: questa modifica verrà spiegata di seguito.

La configurazione e le condizioni operative utilizzate sono dettagliate nella **Figura 14** e nella **Figura 19**. L'aspetto che differisce in questo tipo di test è la durata del *primary drying*, poiché in questo caso viene impostato un tempo pari a 9999 minuti, e la fine della prova è stata determinata in base al valore del rapporto tra le misure ottenute col manometro capacitivo (Baratron) e con la sonda Pirani.

- **Elaborazione dei dati**

Il processo di liofilizzazione può essere descritto in modo semplice mediante un modello monodimensionale, dove il gradiente radiale di composizione, così come quello di temperatura, è assunto essere abbastanza piccolo da essere trascurato. Il modello assume quindi l'esistenza di un'interfaccia piatta mobile che separa il prodotto congelato dal prodotto secco, e questa interfaccia subisce uno spostamento quando il materiale viene essiccato, **Figura 20**, (Giordano, et al., 2011).

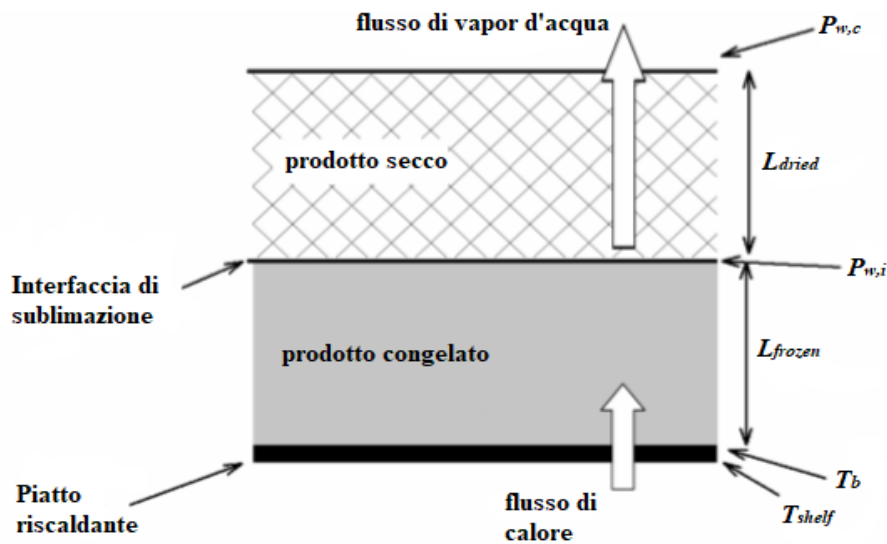


Figura 20. Immagine del processo di sublimazione durante l'essiccamento primario, in cui sono rappresentate le principali considerazioni e variabili utilizzate nel modello matematico (immagine tratta da Giordano, et al., 2011, e riprodotta con modifiche)

Il modello monodimensionale si basa sulla soluzione simultanea di un sistema di equazioni differenziali costituito dai bilanci di materia per il prodotto essiccato e di energia per il prodotto congelato. La descrizione del modello inizia con la definizione del bilancio di massa per il prodotto essiccato, equazione (5), (Fissore, et al., 2017).

$$\frac{dL_{dried}}{dt} = -\frac{1}{\rho_{frozen} \varepsilon} J_w \quad (5)$$

Il flusso di materia sublimata, J_w , è calcolato attraverso il bilancio di energia nell'interfaccia di sublimazione, dove vengono assunte condizioni di funzionamento pseudo-stazionarie, e J_q è il flusso di calore del prodotto e ΔH_s è il calore di sublimazione del ghiaccio, equazione (13).

$$J_w = \frac{J_q}{\Delta H_s} \quad (6)$$

– **Coefficiente di scambio termico K_v**

Il sensore *AccuFlux*, situato sullo *shelf* del Micro-FD, misura il flusso di calore. Tale misura viene usata nell'equazione (7) per il calcolo del parametro K_v . Tuttavia, è importante notare che il coefficiente calcolato con questo metodo considera solo il trasferimento di calore tra lo *shelf* e il prodotto, senza considerare lo scambio termico dovuto alla radiazione proveniente dalle pareti della camera e lo scambio per convezione dovuto al gas presente all'interno del liofilizzatore, come indicato nella sezione 1.3.

$$K_v = \frac{J_q}{(T_{shelf} - T_b)} \quad (7)$$

Per stabilire qual è la frazione di calore che viene effettivamente scambiata per conduzione tra lo *shelf* e il prodotto si fa uso dell'equazione (13), dove è calcolata la percentuale di calore proveniente dal ripiano (% Qshelf) mediante flusso termico (J_q shelf) e la quantità di calore richiesta per sublimare la massa Δm , rappresentata nel denominatore come $\Delta H_s * \Delta m$. L'equazione (13) mostra come si è calcolato il flusso termico dal ripiano riscaldante utilizzando i dati forniti dal sensore *Accuflux* in ciascuno dei test eseguiti nel Micro-FD.

$$\%Q_{shelf} = \frac{J_{q,shelf}}{\Delta H_s \cdot \Delta m} \quad (8)$$

$$J_{q,shelf} = \int_0^{\Delta t} (Q_{accuflux}) dt \quad (9)$$

Per mezzo dell'equazione (13) è determinato il coefficiente globale di scambio termico: in questo caso il valore del parametro trovato nell'equazione (7) viene diviso per la rispettiva percentuale di calore proveniente dallo *shelf*, equazione (8).

$$K_{v, total} = \frac{K_{v,shelf}}{\%Q_{shelf}} \quad (10)$$

D'altra parte, il coefficiente di trasferimento di calore K_v , anche può essere calcolato usando l'equazione (11): questa è una relazione ottenuta dal bilancio di calore per il prodotto congelato che collega il K_v con la temperatura del materiale, l'area della sezione trasversale del flacone A_v , la perdita di massa Δm , il calore della sublimazione ΔH_s e la temperatura del ripiano riscaldante. La

perdita di massa viene valutata registrando il peso dei flaconi prima e dopo ogni prova (Fissore, et al., 2017)

$$K_v \text{ gravimetrico} = \frac{\Delta m \cdot \Delta H_s}{A_v \cdot \int_0^{\Delta t} (T_{shelf} - T_b) dt} \quad (11)$$

È importante sottolineare che il coefficiente K_v è funzione delle condizioni operative in cui viene eseguito il processo di liofilizzazione, secondo l'equazione (12), dove il coefficiente di scambio termico è definito in base alla temperatura e alla pressione della camera; i coefficienti C_1 , C_2 , C_3 sono determinati effettuando misure del coefficiente K_v ad almeno tre valori differenti di pressione P_c (Pisano, et al., 2011).

$$K_v = C_1 + \frac{C_2 \cdot P_c}{1 + C_3 \cdot P_c} \quad \left\{ \begin{array}{l} C_1 = K_c + 4k\overline{T^3}(e_s + e_s) \\ C_2 = \frac{a_c}{2 - a_c} \sqrt{\frac{273,2}{T}} \Lambda_0 \\ C_3 = \ell \left(\frac{\Lambda_0}{\lambda_0} \frac{a_c}{2 - a_c} \sqrt{\frac{273,2}{T}} \right) \end{array} \right. \quad (12)$$

- Resistenza al flusso di vapore R_p

Conoscendo il valore del coefficiente di scambio K_v è possibile eseguire una serie di calcoli che consentono di trovare il valore del parametro R_p e la sua dipendenza dallo spessore del prodotto secco L_{dried} . Per fare ciò, viene utilizzata l'equazione (13) che mette in relazione la resistenza al flusso di vapore con la pressione parziale del vapore d'acqua nella camera ($P_{w,c}$), la tensione del vapore acqueo all'interfaccia di sublimazione ($P_{w,i}$) e il flusso di sublimazione J_w . In questo caso, $P_{w,c}$ può essere approssimato alla pressione della camera di liofilizzazione P_c poiché l'atmosfera della camera è composta principalmente da vapore acqueo. Sebbene questa pressione sia definita dall'operatore nella parte iniziale della prova, è necessario verificare che la pressione della camera sia sempre inferiore alla tensione di vapore, per garantire che la sublimazione abbia luogo (Fissore, et al., 2017).

$$R_p = \frac{P_{w,i} - P_{w,c}}{J_w} \quad (13)$$

Per conoscere il valore di J_w è necessario innanzitutto stimare il valore del flusso di calore J_q , calcolato mediante l'equazione (6), utilizzando il valore del coefficiente K_v , la temperatura dello *Shelf* e quella del prodotto. Una volta calcolato questo valore, il bilancio di energia nell'interfaccia di sublimazione viene utilizzato per calcolare J_w , equazione (7).

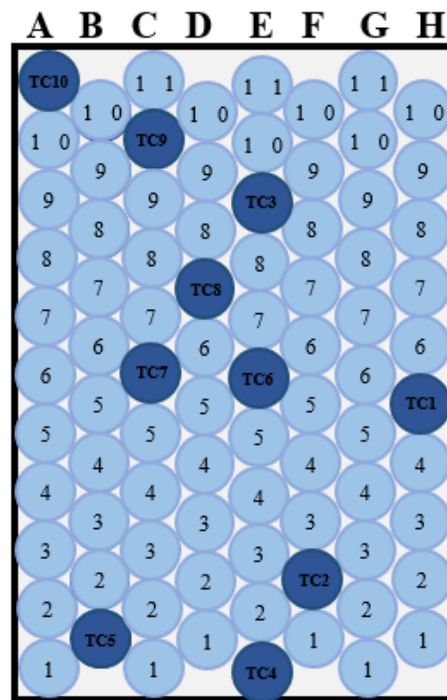
Per collegare la resistenza della torta al flusso di vapore alle proprietà del prodotto, in particolare l'area superficiale specifica, viene presentata l'equazione 14, dove il coefficiente R_p è definito in

funzione della porosità della torta (ϵ), la tortuosità (τ), la temperatura della camera e del peso molecolare dell'acqua (M), assumendo che la torta creata durante la fase di essiccamento sia una collezione di tubi capillari di raggio r .

$$R_p = \sqrt{\frac{\pi RT}{2M} * \frac{3}{4} * \frac{\tau^2}{\epsilon} * \left(\frac{1}{r}\right)} \quad (14)$$

2.3.3. Scale-up del processo

L'ultima parte dello studio si è concentrata sull'uso di un secondo liofilizzatore di scala più ampia di produzione, in cui sono stati analizzati i fenomeni di trasferimento di massa e calore che si svolgono in un lotto costituito da un numero maggiore di flaconi. In questo caso è stato utilizzato il liofilizzatore REVO sviluppato dalla Millrock Technology, al fine di realizzare un gruppo di test che hanno permesso di identificare i valori dei parametri K_v e R_p . I test effettuati prevedevano l'impiego di 84 flaconi, 33 esterni e 51 centrali; il monitoraggio della temperatura è stato effettuato con 10 termocoppie (TC), di cui 6 collocate in flaconi centrali e 4 in flaconi di bordo, **Figura 21**.



Porta REVO

Figura 21. Posizione dei flaconi all'interno della camera di liofilizzazione REVO con le rispettive posizioni delle termocoppie, rappresentate nel diagramma con le lettere TC

Le condizioni operative delle prove sperimentali svolte nel liofilizzatore REVO sono state esattamente uguali a quelle impiegate nel Micro-FD, specificate nella sezione 2.2.4, poiché in questo modo è stato possibile confrontare i risultati ottenuti in entrambe le apparecchiature, al fine

di stabilire se i cicli di liofilizzazione realizzati nel Micro-FD possono essere replicati in un liofilizzatore più grande **Figura 22**.

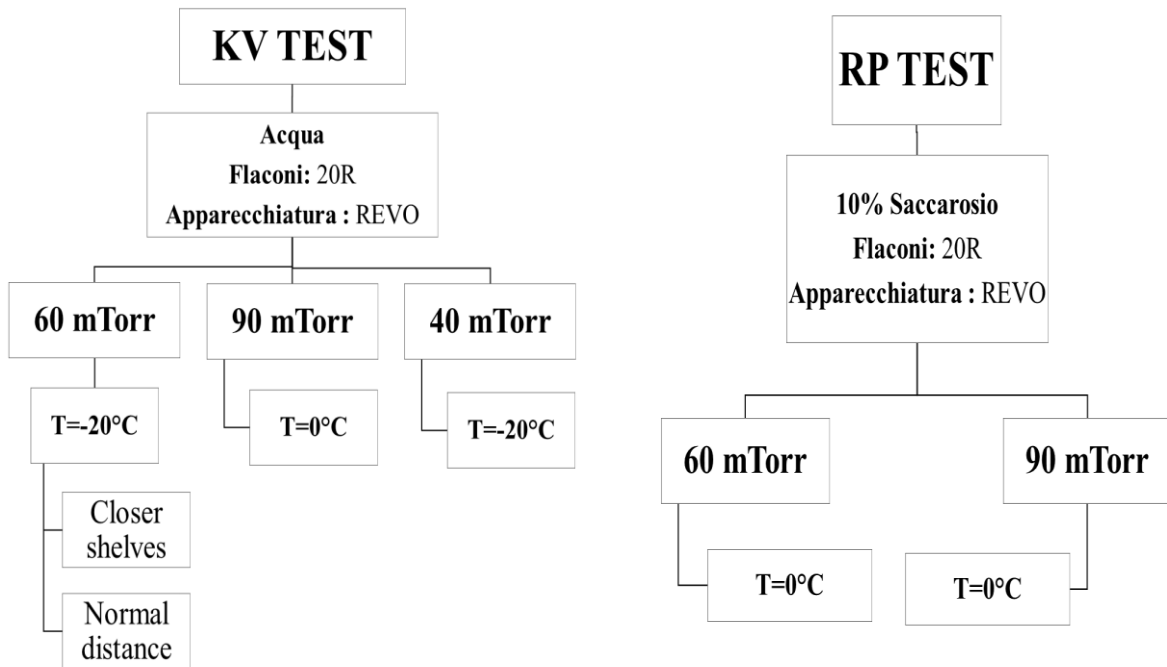


Figura 22. Prove sperimentali condotte per il calcolo dei parametri K_v e R_p nel REVO

La metodologia implementata in ciascun esperimento è stata la stessa di quella descritta nella sezione 2.3.1, utilizzando però acqua, invece del saccarosio, nelle prove finalizzate alla determinazione del coefficiente di scambio termico. In questa serie di test la temperatura media del prodotto contenuto nei flaconi esterni è stata calcolata dalle misurazioni ottenute con le termocoppie 1, 4, 5 e 10, e le restanti termocoppie sono state utilizzate per misurare la temperatura media dei flaconi situati al centro del lotto. Le equazioni utilizzate per calcolare i valori dei parametri K_v e R_p sono quelle descritte nella sezione 2.3.2. Infine, è importante menzionare che per determinare se i risultati ottenuti nel Micro-FD sono stati simili a quelli riportati nel REVO, sono stati confrontati i valori dei coefficienti di trasferimento di calore K_v e della resistenza del prodotto essiccato al flusso di vapore R_p , la durata del processo di liofilizzazione e i profili di temperatura media del prodotto ottenuti nelle prove con 7 e 84 flaconi.

3. Risultati e discussione

In questo capitolo saranno esposti i risultati ottenuti in ciascuno dei test sperimentali condotti nel liofilizzatore Micro-FD e nel liofilizzatore REVO; l'analisi sarà focalizzata sulla fase di essiccamento primario, dove saranno valutati i profili di temperatura e la perdita di massa dei flaconi nel tempo e per valutare l'omogeneità del lotto in funzione delle condizioni operative. Successivamente, verrà valutata l'influenza della temperatura dello *shelf*, della pressione della camera e della temperatura dell'anello *LyoSim* sui parametri K_v e R_p ; infine, verranno confrontati i valori dei parametri K_v e R_p e i profili di temperatura del prodotto, a parità di condizioni operative, nei due liofilizzatori, così da valutare quali valori della temperatura del *LyoSim* consentono di riprodurre nel Micro-FD le condizioni che si hanno nel liofilizzatore di scala maggiore (REVO).

3.1 Studio della omogeneità del lotto in un micro-liofilizzatore

3.1.1. Influenza della temperatura del *LyoSim*

Il punto di partenza dello studio condotto nel Micro-FD è stata la valutazione dell'influenza che la temperatura dell'anello *LyoSim* ha sulla temperatura del prodotto e sull'uniformità del lotto. Per fare ciò sono stati analizzati i risultati ottenuti in una serie di prove eseguite a diverse condizioni operative, in cui sono state mantenute le stesse condizioni di temperatura del ripiano (-20°C) e pressione della camera (60 mTorr), modificando soltanto la temperatura dell'anello in ciascuna prova (1°C , 3°C , 5°C inferiore alla temperatura media del prodotto misurata con le termocoppie a disposizione).

La **Figura 23** mostra gli andamenti della temperatura media del prodotto nei test eseguiti in diverse condizioni dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C): in primo luogo è possibile osservare che la temperatura nei tre casi presenta comportamenti simili durante tutto il test, raggiungendo una temperatura costante dopo 4 ore dall'avvio della prova; è anche evidente che le curve sono abbastanza vicine tra di loro: la discrepanza più marcata si trova nelle curve con *Track Offset* pari a -1°C e -5°C , mentre le curve con *Track Offset* pari a -3°C e -5°C sono completamente sovrapposte.

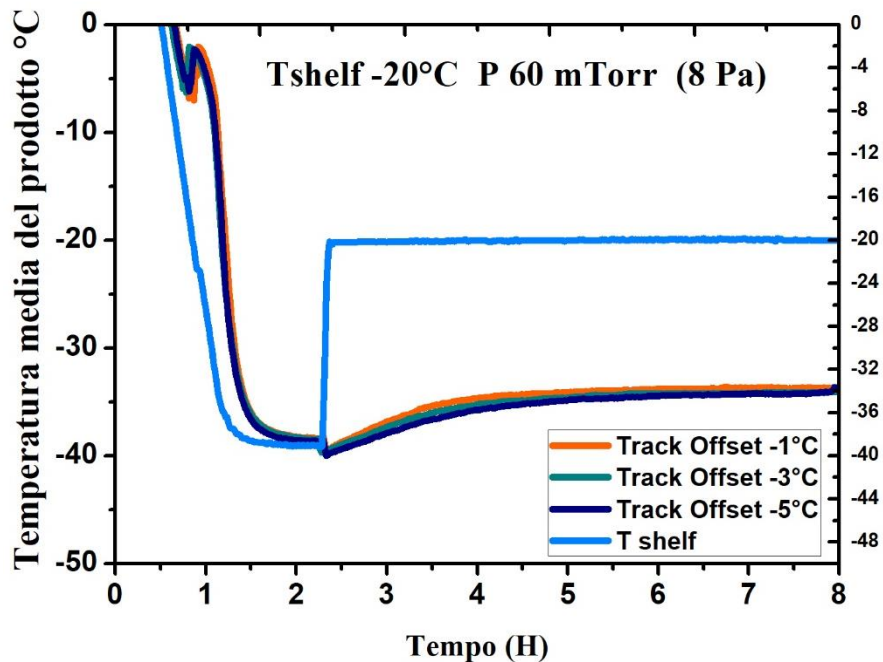


Figura 23. Andamento della temperatura media del prodotto in funzione della temperatura dell'anello *LyoSim* nella prova condotta con temperatura dello *shelf* = -20°C e pressione della camera = 60 mTorr.

Per comprendere meglio l'influenza che questo dispositivo ha sul sistema, viene analizzata la **Figura 46**, che mostra i profili di temperatura delle termocoppie posizionate nei flaconi esterni e centrali in ciascuno degli esperimenti durante la fase di essiccamento primario. I grafici mostrano che nelle tre condizioni valutate le differenze tra i valori di temperatura misurati da ciascuna delle termocoppie sono piuttosto piccole, inferiori a 1°C, indicando in questo modo che il lotto composto da 7 flaconi ha un comportamento uniforme in queste condizioni operative. È importante notare che quando la temperatura dell'anello diminuisce, le temperature nei flaconi esterni sono sempre più simili a quelle del flacone interno, raggiungendo una maggiore uniformità con la temperatura di *Offset* pari a -5°C, **Figura 46, C**.

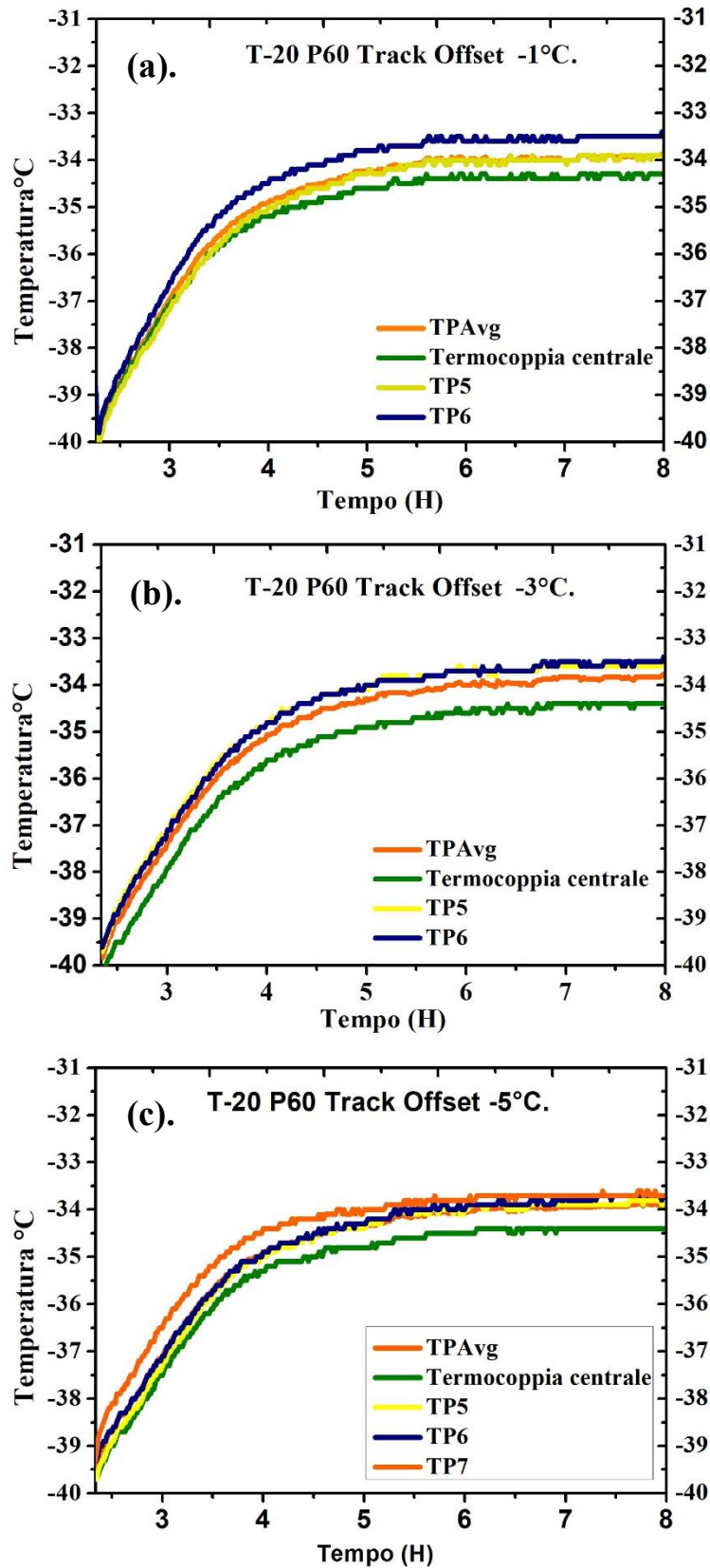


Figura 24 Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova con T_{shelf} pari a -20°C , e P_c pari a 60 mTorr e **(a.)** Track Offset uguale a -1°C , **(b.)** Track Offset uguale a -3°C , **(c.)** Track Offset uguale a -5°C .

Per studiare in modo più dettagliato l'effetto che la temperatura dell'anello ha sul processo di liofilizzazione, sono stati analizzati i dati della perdita di peso registrata in ciascuno dei test. Le informazioni sono presentate nella **Tabella 1**.

Tabella 1. Perdita di massa registrata in ciascuno dei test eseguiti con T_{shlef} pari a -20°C , pressione della camera pari a 60 mTorr al variare della temperatura dell'anello *LyoSim*.

Temperatura anello	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm interno, g	Differenza tra esterno ed interno, g
$T_{avg} -1$	1,4225	1,4204	1,4354	-0,0150
$T_{avg} -3$	1,3550	1,3310	1,457	-0,1259
$T_{avg} -5$	1,2626	1,3491	1,4208	-0,0718

Quando si confronta la perdita di peso media totale in ciascuno dei lotti diventa chiaro che l'anello ha una relazione diretta con la quantità di massa sublimata nel sistema, poiché quando la temperatura dell'anello diminuisce, decresce anche la frazione di acqua sublimata nel sistema. Questo fenomeno può essere spiegato considerando il funzionamento dell'anello, poiché agisce come una fonte termica che raffredda i flaconi posizionati alle estremità del lotto. Per capire quanto sia omogeneo il lotto è stata valutata la differenza nella perdita di massa tra i flaconi esterni e interni: i risultati ottenuti mostrano che la differenza nella frazione di acqua sublimata nei flaconi è relativamente bassa, poiché nel caso di prove con *Track Offset* di -1°C e -5°C tale differenza è di soli 0,015 grammi e 0,07 grammi rispettivamente. Infine, la **Figura 25** mostra la deviazione standard della perdita di massa di ciascuno dei lotti di prova: il grafico mostra che tutti i valori sono inferiori al 10%, verificando ancora una volta che il sistema, essendo formato da un piccolo numero di flaconi, presenta un comportamento uniforme, risultato ottenuto soprattutto con il *Track Offset* di -5°C , con deviazione standard solo del 5,37%.

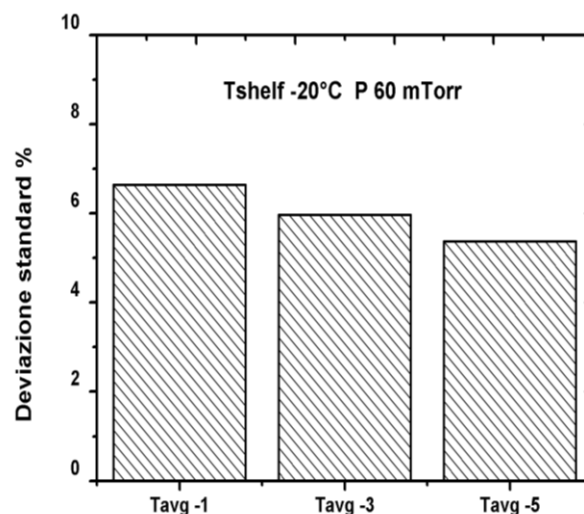


Figura 25. Deviazione standard della perdita di peso media totale registrata in ciascuna delle prove eseguite con T_{shlef} pari a -20°C , pressione della camera pari a 60 mTorr quando si varia la temperatura dell'anello *LyoSim*

3.1.2. Influenza della temperatura dello shelf

Una volta valutato l'effetto della temperatura dell'anello sul sistema e le condizioni operative che consentono di ottenere la maggiore omogeneità del lotto, si prosegue la fase successiva dello studio, dove si valuta in che modo la temperatura dello *shelf* influisce sul comportamento del processo. In questo caso, saranno analizzati due test eseguiti alle stesse condizioni di pressione della camera (60 mTorr) e temperatura dell'anello (-5°C rispetto alla temperatura media del prodotto) utilizzando come temperatura di *shelf* -20°C e 0°C . La **Figura 26** confronta il profilo di temperatura media del prodotto e il flusso termico ottenuto utilizzando le condizioni operative sopra menzionate.

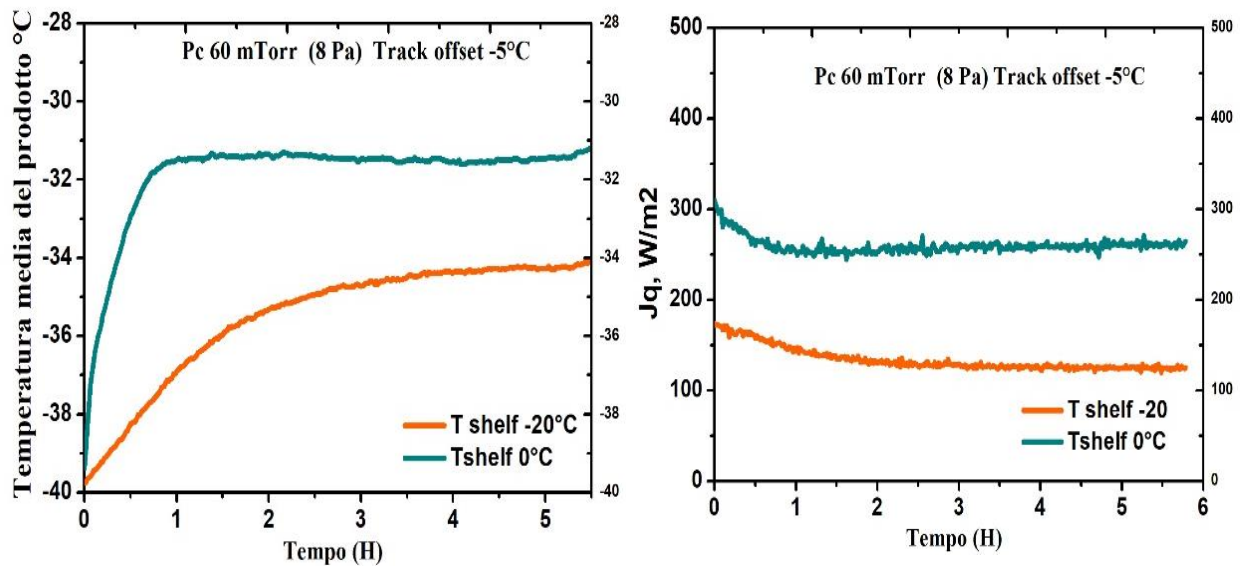


Figura 26. Confronto del profilo di temperatura media del prodotto e del flusso termico alla temperatura dello *shelf* di -20°C e 0°C alla stessa condizione di pressione (60 mTorr) e temperatura dell'anello (*Track Offset* -5°C) durante la fase di essiccamento primario.

Il comportamento delle curve riflette evidentemente che, quando si passa da una T_{shelf} di -20°C a 0°C la temperatura media del prodotto subisce un innalzamento; risultato intuitivo poiché aumentando la temperatura operativa del ripiano incrementa il flusso di calore trasmesso al prodotto, e di conseguenza aumenta la temperatura registrata da ciascuna delle termocoppie. Inoltre, è possibile osservare che quando la T_{shelf} diminuisce, anche la pendenza iniziale della curva di temperatura del prodotto subisce un abbassamento: questo fatto influisce sulla velocità con cui il sistema raggiunge lo stato stazionario, poiché quando la T_{shelf} è pari a -20°C la T_{avg} raggiunge un valore costante quasi alla fine del test, mentre che nel caso di una temperatura del ripiano pari a 0°C la temperatura del prodotto è circa costante dopo la prima ora della fase.

Un'altra variabile che è influenzata dalla temperatura dello *shelf* è la perdita di massa registrata in ciascun lotto, i dati ottenuti nei test eseguiti in questa parte dello studio sono mostrati nella **Tabella 2**.

Tabella 2. Perdita di massa registrata in ciascuna delle prove eseguite con T_{shelf} pari a -20°C e 0°C , alle stesse condizioni di pressione (60 mTorr) e temperatura dell'anello (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C)

Temperatura Shelf	Temperatura anello	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm interno, g	Differenza tra esterno ed interno, g
-20°C	$T_{avg} -1$	1,4225	1,4204	1,4354	-0,0150
	$T_{avg} -3$	1,3550	1,3310	1,457	-0,1259
	$T_{avg} -5$	1,2626	1,3491	1,4208	-0,0718
0°C	$T_{avg} -1$	2,7405	2,7526	2,6676	0,0851
	$T_{avg} -3$	2,7116	2,7155	2,6884	0,0275
	$T_{avg} -5$	2,6503	2,6476	2,6666	-0,0190

I risultati mostrano che aumentando la temperatura dello *shelf* da -20°C a 0°C la perdita di massa raddoppia il suo valore perché, come è stato accennato in precedenza, l'aumento della temperatura del ripiano produce un aumento della velocità di sublimazione e del flusso termico inviato al prodotto. Allo stesso modo, è evidente che la temperatura di questo dispositivo influenza anche l'uniformità del lotto, poiché con un T_{shelf} più elevata la differenza nella frazione di acqua sublimata nei flaconi esterni e interni è più piccola. Questa relazione inversa tra T_{shelf} e perdita di massa è spiegata attraverso la **Figura 26**, dove si osserva che con una T_{shelf} pari a 0°C la temperatura media del prodotto rimane a un valore costante ed elevato per molto più tempo. La **Figura 27** mostra la deviazione standard della perdita di peso totale dei flaconi: i risultati ottenuti confermano ancora una volta che la maggiore temperatura del ripiano favorisce l'ottenimento di un comportamento più omogeneo del lotto, consentendo di avere una deviazione standard del 3% nel caso di una T_{shelf} pari a 0°C . Infine, è importante osservare che nei test di liofilizzazione effettuati con una T_{shelf} pari a 0°C la temperatura dell'anello che consente di avere la più piccola differenza nella perdita di massa tra flaconi esterni e interni è l'offset pari a -5°C , ma la condizione che consente di avere la deviazione standard più bassa si ottiene con la temperatura di offset di -3°C . Queste informazioni mostrano che per questa condizione operativa è difficile determinare quale sia la migliore scelta della temperatura dell'anello *LyoSim*, però con tutti i valori si ottengono comunque risultati soddisfacenti.

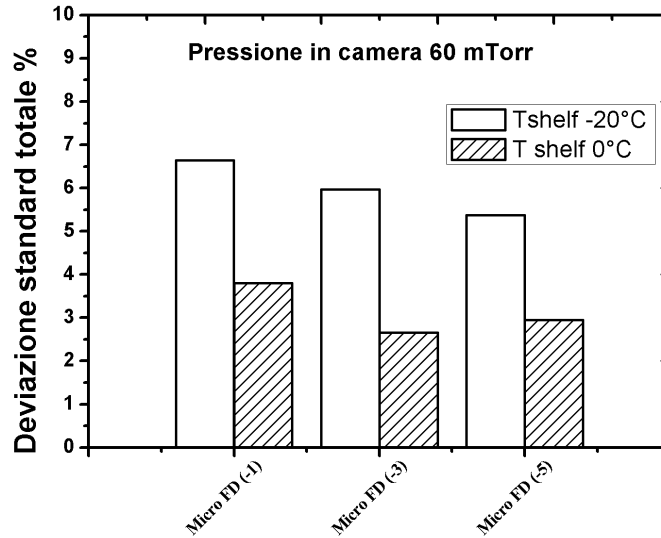


Figura 27. Deviazione standard della perdita di peso media totale registrata in ciascuna delle prove eseguite con temperatura dello *shlef* pari a -20°C e 0°C alla stessa condizione di pressione (60 mTorr) e temperatura dell'anello (*Track Offset* -5°C).

3.1.3. Influenza della pressione

L'effetto della pressione sul ciclo di essiccamento primario è stato valutato confrontando due test sperimentali eseguiti alle stesse condizioni di temperatura dello *shlef* (0°C) e temperatura dell'anello (*Track Offset* -1°C, 3°C, 5°C) variando la pressione nella camera (60 mTorr e 90 mTorr). Di seguito saranno analizzati gli andamenti della temperatura e del flusso di calore ottenuti alle diverse condizioni di pressione con un *Track Offset* pari a -5°C, **Figura 28**.

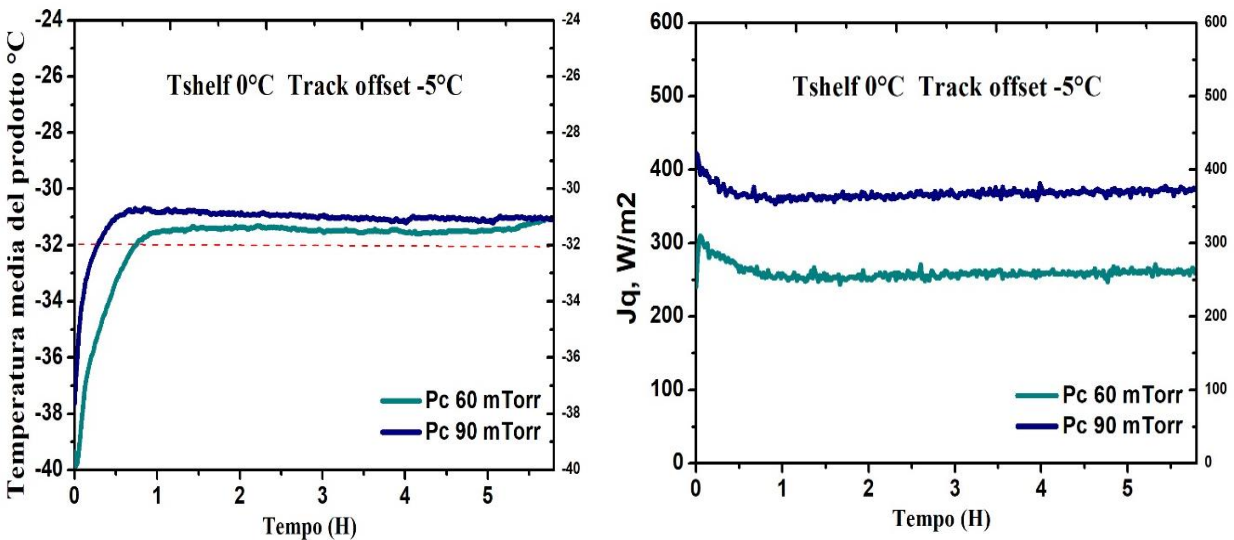


Figura 28. Confronto tra il profilo di temperatura media del prodotto e il flusso termico ottenuto a diverse pressioni nella camera (60 mTorr e 90 mTorr), alle stesse condizioni della temperatura del ripiano (0°C) e dell'anello LyoSim (*Track Offset* -5°C) durante la fase di essiccamento primario.

In primo luogo, quando si analizzano i profili della temperatura media del prodotto è chiaro che la variazione della pressione della camera non influenza in modo significativo il comportamento di questa variabile, poiché dopo la prima ora del ciclo la temperatura media del prodotto raggiunge un valore costante abbastanza simile in entrambi i casi, registrando una differenza inferiore a 1°C. D'altra parte, il grafico del flusso termico indica che questa variabile è influenzata dalla pressione, poiché quando si passa da 60 mTorr a 90 mTorr, viene generato un aumento di circa 100 W/m²: questo si verifica perché l'aumento della pressione genera un aumento della conduttività termica del gas e quindi la conduzione del calore del gas intrappolato tra il fondo del contenitore e il ripiano sarà maggiore.

Per comprendere ulteriormente come la pressione influenza il comportamento del sistema vengono analizzati i risultati della perdita di massa riportati nella **Tabella 3**. In questo caso i valori mostrano che a una pressione più elevata viene generato un leggero aumento della quantità di massa sublimata, conseguenza dell'aumento del flusso termico inviato al prodotto. Infine, è importante evidenziare che utilizzando una pressione di 90 mTorr si ottengono valori di deviazione standard molto bassi, raggiungendo valori inferiori al 4%: questo risultato indica che in queste condizioni operative è possibile ottenere una buona uniformità del lotto. Inoltre, è evidente che a questa condizione di pressione la temperatura dell'anello che genera il comportamento più uniforme del lotto è l'offset pari a -1°C, in quanto si registra la minore deviazione standard e la più bassa differenza di perdita di massa tra i flaconi esterni e quelle centrali.

Tabella 3. Perdita di massa registrata in ciascuno dei test eseguiti a diverse pressioni nella camera (60 mTorr e 90 mTorr), alle stesse condizioni di temperatura del ripiano (0°C) e temperatura dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* pari a -1°C, -3°C, -5°C).

Pressione in camera, mTorr	Temperatura anello	Δm medio totale, g	Differenza tra esterno ed interno, g	Dev. standard totale %
60	T _{avg} -1	2,7405	0,0851	3,8
	T _{avg} -3	2,7116	0,0275	2,66
	T _{avg} -5	2,6503	-0,0190	2,95
90	T _{avg} -1	3,1972	-0,0238	1,9
	T _{avg} -3	3,2693	-0,0679	3,33
	T _{avg} -5	3,1528	-0,1862	3,5

3.2 Uso del Micro-FD per il calcolo dei parametri del modello K_v e R_p

In questa sezione dello studio vengono presentati i valori ottenuti del coefficiente di scambio termico e della resistenza al flusso di vapore. Nell'analisi dei risultati sono stati valutati l'influenza della temperatura dell'anello *LyoSim*, della temperatura del ripiano e della pressione nella camera sui parametri oggetto di studio.

3.2.1 Effetto della temperatura dell'anello LyoSim

Il processo di essiccamento primario è governato dal flusso di calore inviato al prodotto e dal flusso di materia dall'interfaccia di sublimazione alla camera. Il flusso di calore inviato al prodotto è collegato al coefficiente di scambio termico globale (K_v) che dipende, tra l'altro, da tutti i meccanismi di trasferimento di calore presenti nel processo. Pertanto, la variazione della temperatura dell'anello *LyoSim* influenza il flusso di calore scambiato con i flaconi esterni e di conseguenza il valore del coefficiente K_v . La **Figura 29** mostra i valori dei coefficienti globali di trasferimento di calore in funzione della temperatura dell'anello rilevati a diverse condizioni di temperatura dello *shelf* (0°C, -20°C) e pressione della camera (60 mTorr, 90mTorr).

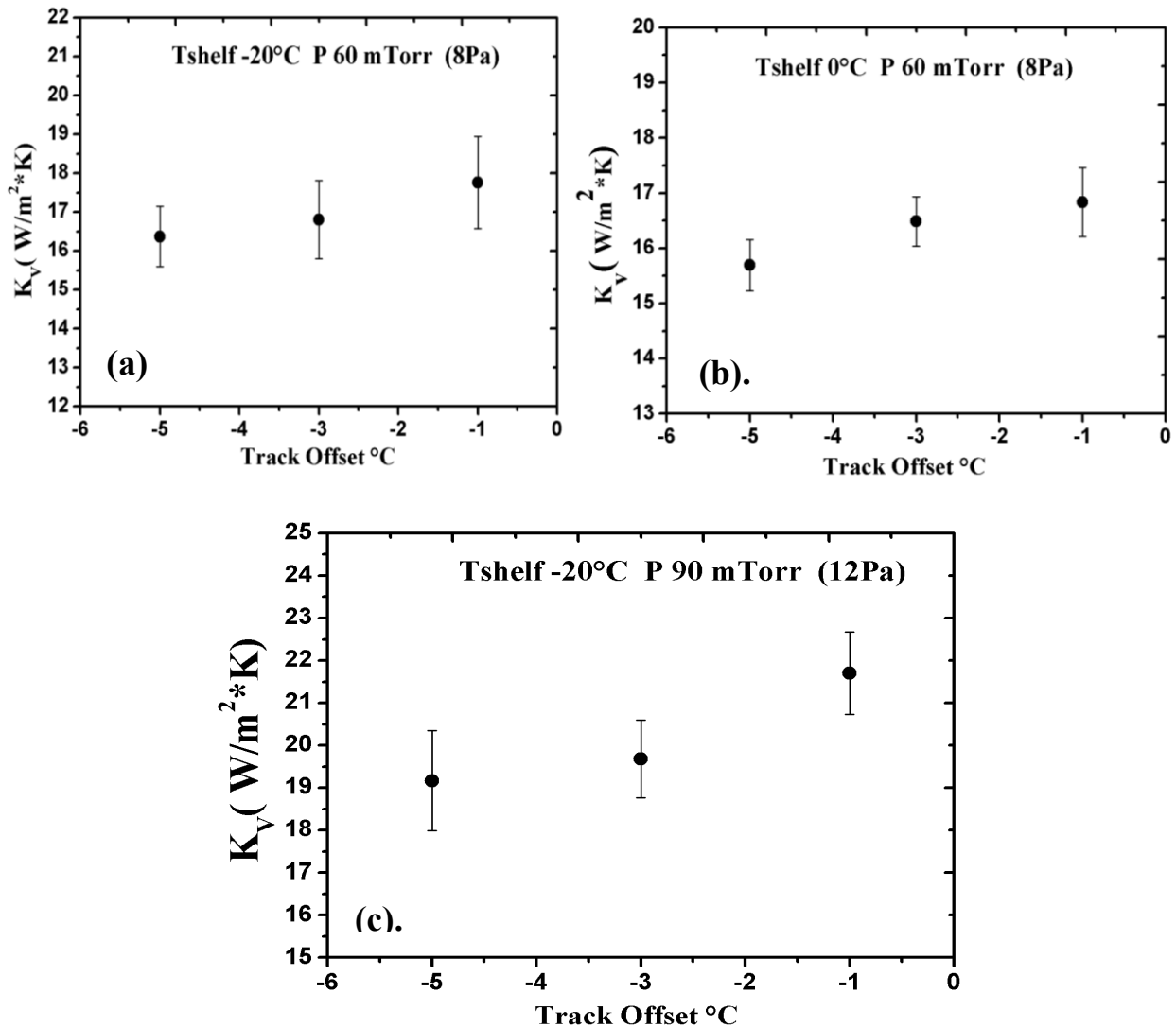


Figura 29. Valori dei parametri K_v in funzione della temperatura dei blocchi di alluminio ottenuti in diverse condizioni operative (a). Temperatura dello *shelf* -20°C e Pc 60 mTorr, (b). Temperatura dello *shelf* 0°C e Pc 60 mTorr, (c) Temperatura dello *shelf* -20°C e Pc 90 mTorr.

In primo luogo è evidente che esiste una relazione diretta tra la temperatura dell'anello e il valore del parametro K_v poiché in ciascuna condizione valutata la diminuzione della temperatura dell'anello ha causato la riduzione del valore del coefficiente globale di scambio termico. Questo risultato è coerente con quanto sopra indicato, perché l'anello durante il raffreddamento dei flaconi situati all'esterno del lotto influenza il flusso di calore inviato ai flaconi di bordo e di conseguenza il coefficiente di processo complessivo viene ridotto.

Dopo aver determinato i valori dei coefficienti di trasferimento del calore per ciascuna delle prove eseguite si procede al calcolo del secondo parametro del modello matematico: vengono confrontati i valori ottenuti dalla resistenza del prodotto essiccato al flusso di vapore (R_p) in funzione dello spessore dello strato secco (L_{dried}) utilizzando tre diverse configurazioni dell'anello *LyoSim* (-1°C, -3°C, -5°C) alla stessa temperatura del ripiano, pari a 0°C, e con pressione della camera pari a 60 mTorr, **Figura 30**.

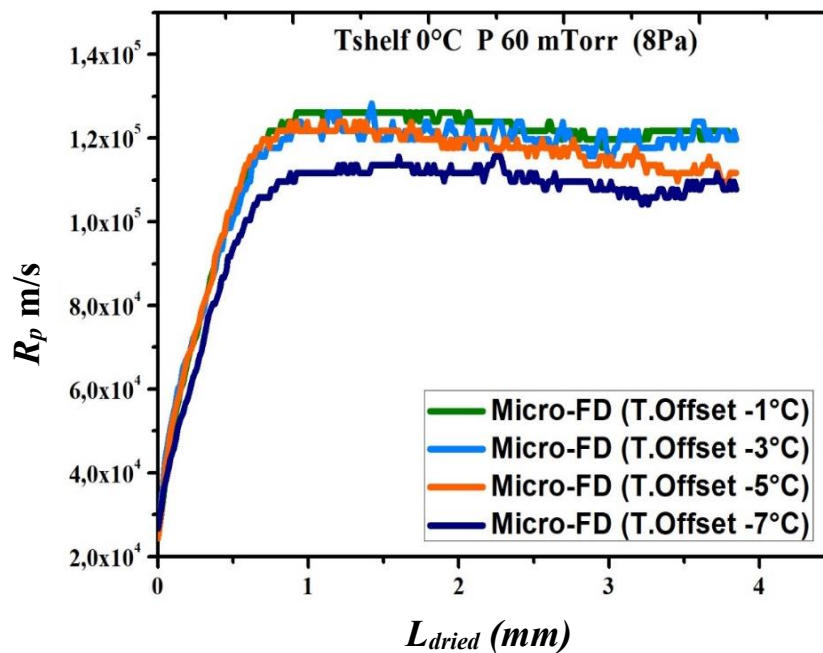


Figura 30. Resistenza del prodotto essiccato al flusso di vapore in funzione dello spessore dello strato secco L_{dried} , ottenuto nelle prove effettuate in diverse condizioni operative del blocco di alluminio (Temperatura di offset -1°C, -3°C, -5°C), alla stessa temperatura dello *shelf* (0°C) e pressione della camera (60 mTorr).

Analizzando in dettaglio le curve riportate per ciascuna delle condizioni operative dell'anello *LyoSim* si evidenzia l'ottenimento di valori abbastanza simili del coefficiente R_p poiché le curve sono quasi sovrapposte, fatto che indica che la temperatura dell'anello non ha alcuna influenza sulla resistenza della torta al flusso di vapore. I risultati trovati sono coerenti con quanto osservato in letteratura, poiché il parametro R_p non dovrebbe subire variazioni quando si utilizzano le stesse condizioni di congelamento e tipo di prodotto; inoltre, in ogni prova è stato verificato che la temperatura del prodotto è stata sempre mantenuta al di sotto della temperatura di collasso del saccarosio (-32°C).

3.2.1 Effetto della pressione

L'influenza della pressione sul valore del coefficiente di trasferimento di calore viene mostrata nella **Figura 31**, dove vengono confrontati i dati ottenuti utilizzando valori di pressione della camera diversi (40 mTorr, 60mTorr e 90 mTorr), alle stesse condizioni di temperatura dello *shelf* (-20°C) e configurazione dell'anello (temperatura di offset -5°C).

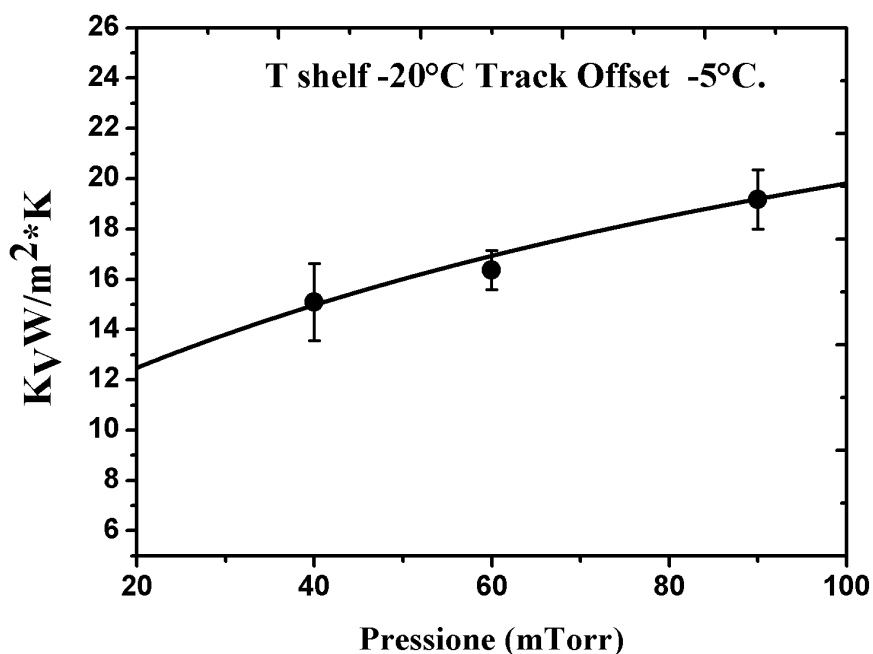


Figura 31. Valori del coefficiente di trasferimento termico globale determinati a diversi valori di pressione della camera (40 mTorr, 60 mTorr e 90 mTorr), alle stesse condizioni di temperatura dello *shelf* (-20 °C) e temperatura dell'anello (*Track Offset* -5°C).

I risultati mostrano chiaramente che il parametro K_v è influenzato dalla pressione nella camera, poiché si registrano valori più elevati del coefficiente K_v quando la pressione del sistema aumenta, comportamento in linea con quello discusso nella sezione 3.1.3, dove è stato evidenziato che l'aumento della pressione genera un aumento della conduttività termica del gas intrappolato tra il fondo dei flaconi e la superficie del ripiano, fatto che produce un aumento del flusso termico inviato al prodotto e di conseguenza genera un aumento del valore di questa variabile. In questo studio è stata eseguita anche la regressione non lineare presentata nell'equazione 12 per descrivere la dipendenza del parametro K_v dalla pressione: il risultato è mostrato nel grafico con la linea continua, dove diventa chiaro che si ottiene una buona approssimazione tra i valori del parametro K_v rilevati gravimetricamente e quelli calcolati attraverso la regressione non lineare.

La **Figura 32** confronta i valori del coefficiente di scambio termico a diversi valori di pressione, alle stesse condizioni di temperatura del ripiano (0°C) e temperatura dell'anello (T_{avg} -1°C, -3°C, 5°C): i risultati mostrano ancora una volta la relazione diretta tra la pressione nella camera e il parametro K_v , comportamento riflesso anche nelle tre condizioni di temperatura dell'anello valutate. Inoltre,

si nota che le barre di errore mostrano che c'è una bassa variabilità nei parametri trovati in ciascuna condizione operativa.

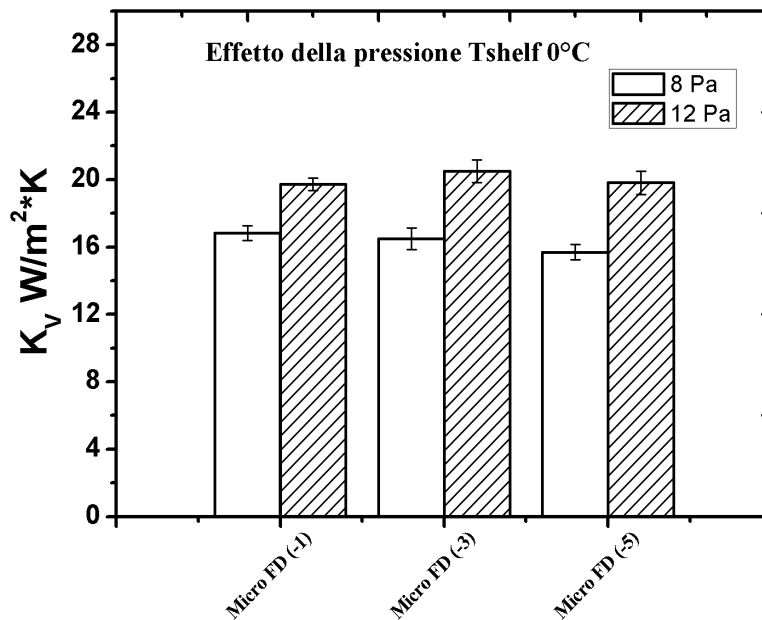


Figura 32. Valori del coefficiente di trasferimento termico globale determinati con temperatura dello *shelf* pari a 0°C , temperatura di offset dell'anello pari a -1°C , -3°C , 5°C , a diversi valori di pressione della camera (60 mTorr e 90 mTorr).

Passando allo studio della resistenza della torta secca al flusso di vapore, vengono confrontati due test effettuati alle stesse condizioni operative del ripiano (temperatura -20°C) l'anello *LyoSim* (*Track Offset* -5°C), quando si valuta la pressione del sistema (60 mTorr e 90 mTorr), **Figura 33**.

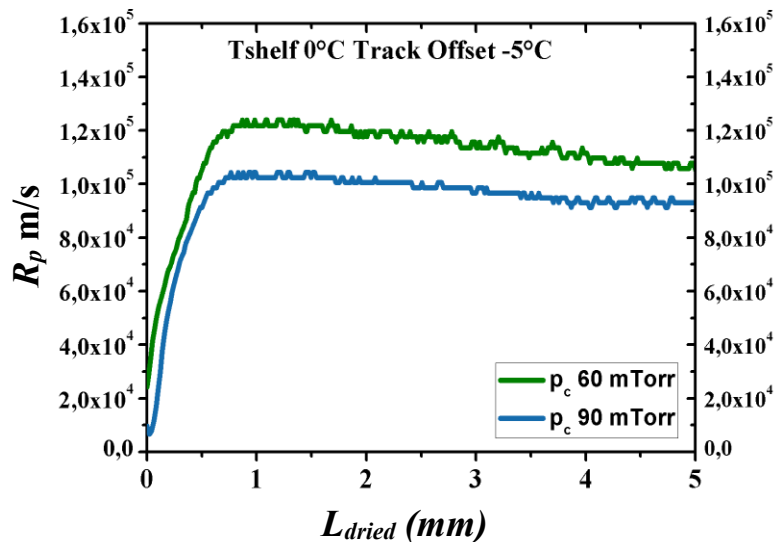


Figura 33. Confronto dei valori della resistenza della torta al flusso di vapore R_p variando la pressione nella camera (60 mTorr, 90 mTorr), alle stesse condizioni di temperatura del ripiano (0°C) e dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -5°C) durante la fase di essiccamento primario.

I risultati mostrano che a una pressione maggiore la resistenza del prodotto essiccato al flusso di vapore diminuisce: questo comportamento è probabilmente dovuto al fatto che l'aumento di pressione genera un aumento della temperatura che, in un prodotto amorfo come il saccarosio, si traduce in una diminuzione della resistenza R_p . D'altra parte, guardando di nuovo la **Figura 28**, è evidente che la temperatura del prodotto ha raggiunto valori superiori alla temperatura di collasso del saccarosio (-32°C), e ciò significa che in entrambi i sistemi si generano micro-collapsi della struttura della torta.

3.2.2 Effetto della temperatura dello shelf

Analogamente alla pressione, la relazione tra il coefficiente di scambio termico e la temperatura è stata determinata attraverso il confronto di due serie di test a diverse temperature del ripiano, mentre la pressione del gas nella camera e la temperatura dell'anello sono mantenute costanti, **Figura 34**. I risultati mostrano che nel caso del *Track Offset* di -1°C e -5°C , le differenze nei valori dei coefficienti K_v quando si varia la temperatura del fluido di riscaldamento sono dello stesso ordine della deviazione standard, mentre nel caso di un *Track Offset* pari a -3°C , i parametri a diverse T_{shelf} riportano lo stesso valore. Ciò significa che la temperatura del ripiano non influenza il valore del coefficiente di scambio termico. Questo fenomeno può essere spiegato con l'**equazione 12**, dove è evidente che il coefficiente di scambio termico è leggermente influenzato dalla temperatura, poiché la dipendenza da questa variabile è espressa attraverso i coefficienti dell'equazione non lineare, dove il contributo della temperatura è irrilevante rispetto alla pressione del sistema.

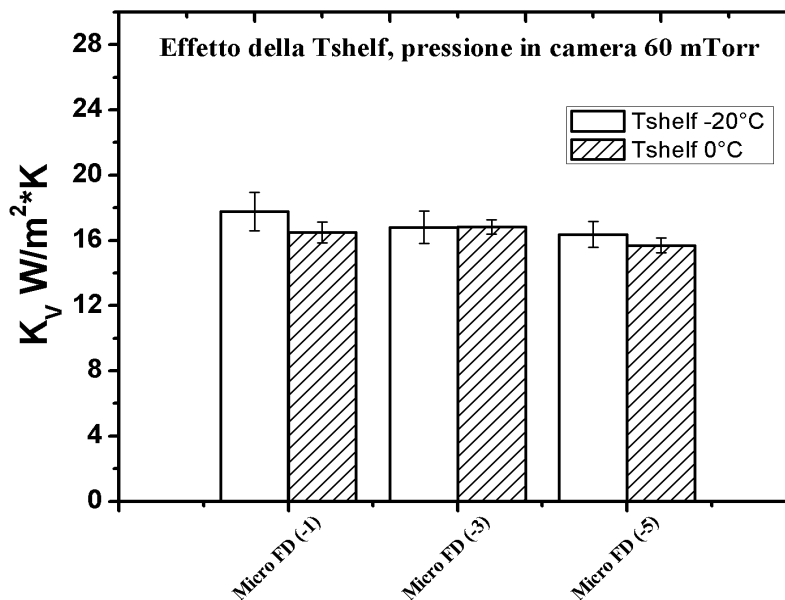


Figura 34. Valori del coefficiente di trasferimento termico globale ottenuti nel Micro-FD con pressione della camera pari a 60 mTorr, *Track Offset* pari a -1°C , -3°C , 5°C a diverse temperature del ripiano (-20°C , 0°C).

Una volta determinati i coefficienti di scambio termico si continua con il calcolo della resistenza del prodotto essiccato al flusso di vapore e viene valutata l'influenza della temperatura del ripiano

su questo parametro. Per fare ciò, i valori ottenuti dal coefficiente R_p vengono confrontati in due prove sperimentali utilizzando diversi valori di temperatura dello *shelf* (-20°C , 0°C), e le stesse condizioni di pressione nella camera (60 mTorr) e *Track Offset* (-5°C), i risultati sono mostrati nella Figura 35

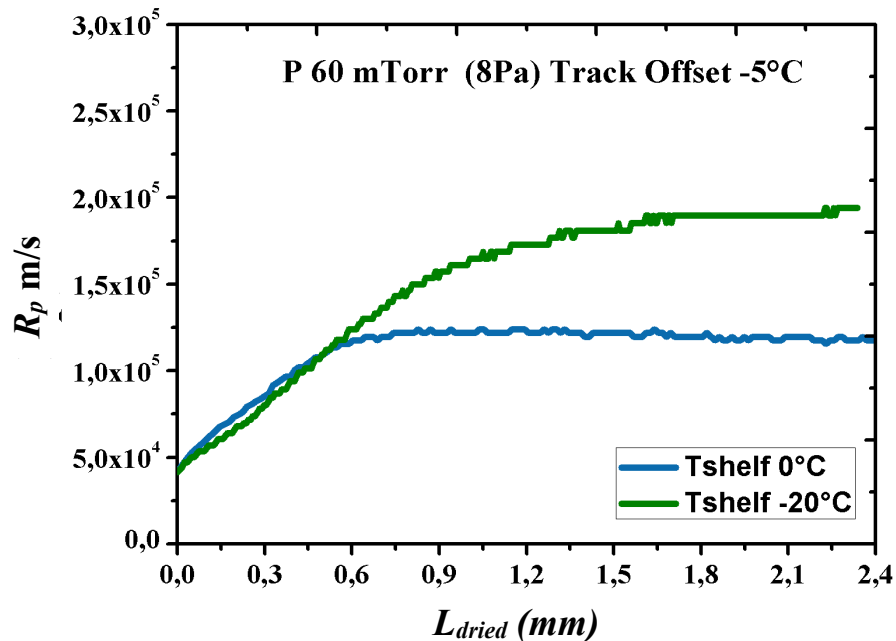


Figura 35. Confronto dei valori della resistenza della torta al flusso di vapore R_p ottenuti nel Micro-Fd con pressione della camera pari a 60 mTorr, *Track Offset* pari a -1°C , -3°C , 5°C a diverse temperature del ripiano (-20°C , 0°C).

I risultati ottenuti nel grafico mostrano che esiste una relazione inversa tra il parametro R_p e la T_{shelf} , poiché l'aumento della temperatura porta a valori più bassi di R_p vs L_{dried} . Questo fenomeno può essere spiegato dalla

Figura 36, in cui sono mostrati i profili di temperatura del prodotto dei test eseguiti nelle diverse condizioni operative del ripiano, lo schema mostra che quando viene utilizzato una T_{shelf} pari a 0°C la temperatura del prodotto raggiunge valori superiori alla temperatura di collasso del saccarosio (-32°C), il che significa che la struttura del prodotto presenta micro-collapsi, ottenendo in questo modo una torta con una tortuosità (τ) inferiore, che si traduce in una diminuzione del coefficiente R_p , come evidenziato nell'equazione 14.

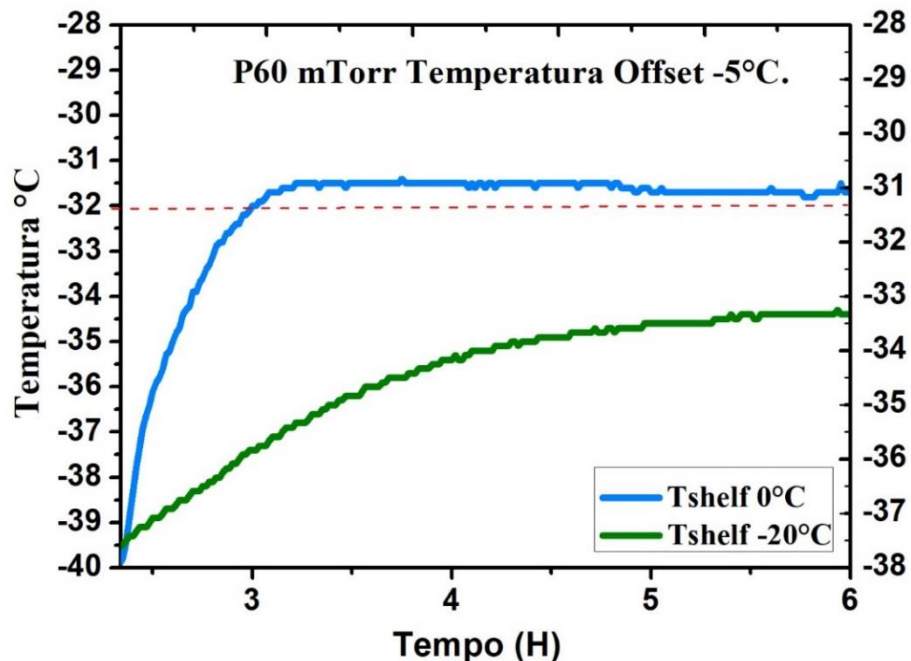


Figura 36. Confronto del profilo di temperatura media del prodotto alla temperatura dello *shelf* di -20°C e 0°C alla stessa condizione di pressione (60 mTorr) e temperatura dell'anello (*Track Offset* -5°C) durante la fase di essiccamento primario.

3.3 Scale-up del processo

In questa sezione saranno presentati i risultati ottenuti nel liofilizzatore REVO impiegando le stesse condizioni operative e lo stesso tipo di contenitori utilizzati nel Micro-FD e, successivamente, i valori dei coefficienti di scambio ottenuti in entrambe le apparecchiature saranno confrontati. È necessario ricordare che, per praticità, i test gravimetrici per determinare il coefficiente di scambio termico condotti nel liofilizzatore REVO sono stati effettuati con acqua, invece di saccarosio. Per verificare che sia possibile confrontare i dati ottenuti in entrambi i liofilizzatori, sono stati eseguiti due test nel Micro-FD usando acqua e saccarosio come prodotto, alle stesse condizioni operative, i risultati sono mostrati di seguito.

3.3.1 Effetto della soluzione: Prove con acqua e soluzione acquosa al 10% in saccarosio

La **Figura 37** confronta i profili di temperatura di due test eseguiti nel Micro-FD con una temperatura dello *shelf* pari a 0°C , 60 mTorr e *Track Offset* -5°C , utilizzando acqua e saccarosio con una concentrazione del 10%. I risultati mostrano che la temperatura del prodotto è più alta quando si usa la soluzione zuccherina, come è ovvio attendersi per il fatto che la presenza del soluto porta alla formazione di un prodotto essiccato attraverso il quale il vapore ha da fluire, trovando quindi una resistenza.

La **Figura 37 (c)** e la **Figura 37 (d)** mostrano i profili di temperatura ottenuti nella fase di sublimazione: è possibile osservare che sebbene la temperatura del prodotto sia più elevata per il

sistema in presenza di saccarosio, il comportamento dei flaconi esterni e centrali in entrambi i test è abbastanza simile, poiché ci sono meno di 1°C di differenza nelle temperature del prodotto, una differenza che rientra nell'intervallo di incertezza dello strumento di misura.

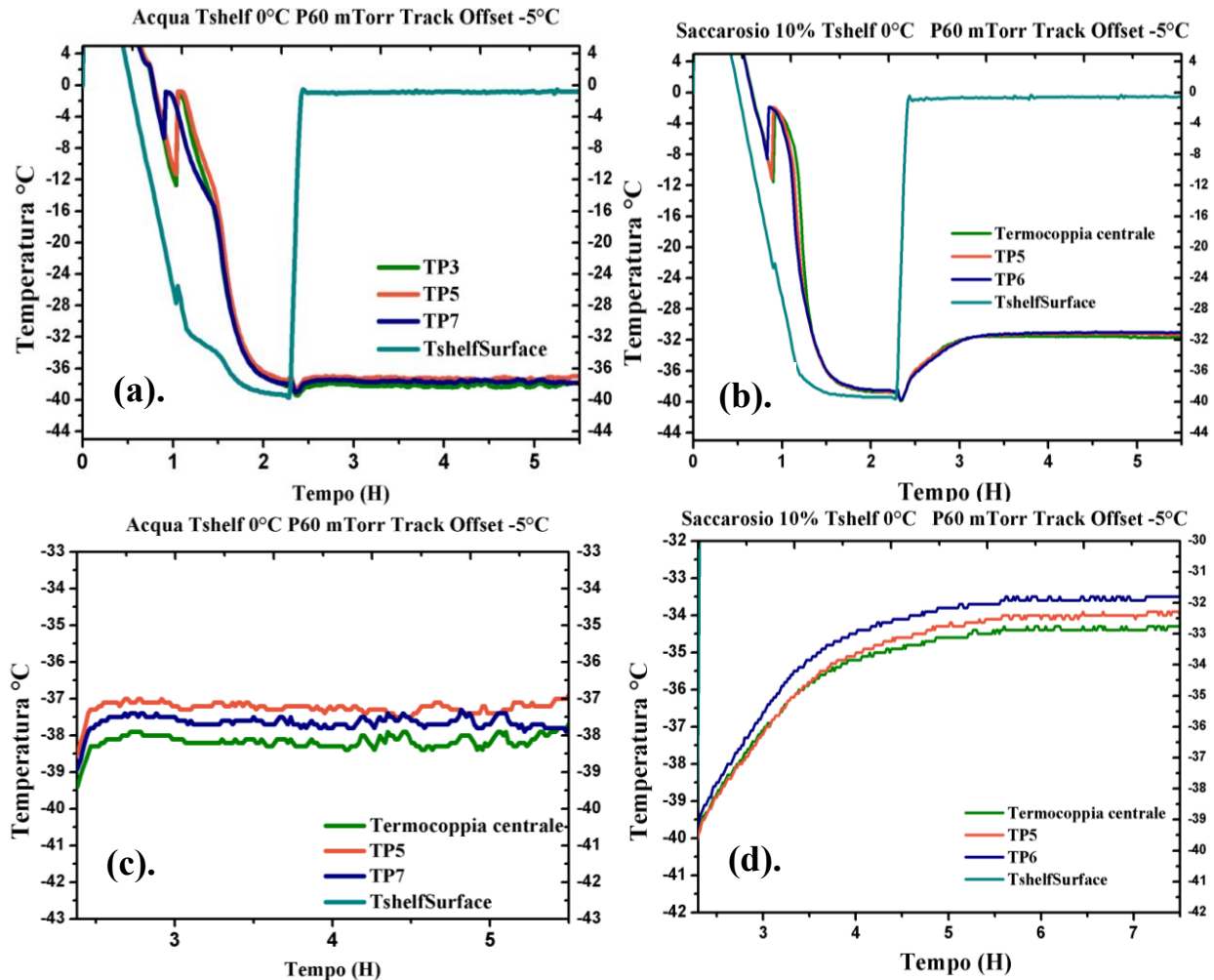


Figura 37. Andamento delle temperature nella fase dell'essiccamento primario per la prova con T_{shelf} pari a 0°C, P_c pari a 60 mTorr e *Track Offset* uguale a -5°C con una soluzione di, (a.) acqua, (b.) 10% di saccarosio, (c.) profilo di temperatura del prodotto nella fase di essiccamento primario, (d.) profilo di temperatura della soluzione 10% di saccarosio nella fase di essiccamento primario.

Per proseguire con lo studio, sono stati confrontati i valori dei coefficienti di scambio termico ottenuti in entrambi i test, utilizzando le stesse condizioni operative, **Figura 38** I risultati mostrano che, nonostante la differenza tra i profili di temperatura, i coefficienti di trasferimento del calore sono praticamente gli stessi, dove la differenza osservata ha lo stesso ordine di grandezza della variabilità della misura. Questo comportamento si verifica perché, come discusso in precedenza, il coefficiente K_v dipende fondamentalmente da due parametri, ovvero il tipo di contenitore e la pressione nella camera: il cambiamento di prodotto processato è responsabile di una variazione della temperatura, e quindi di una differente massa sublimata nella prova, **Tabella 4**. Questi risultati

confermano che è possibile confrontare i valori di coefficiente di scambio termico ottenuti nei liofilizzatori Micro-FD, dove si è operato con la soluzione di saccarosio, e nel liofilizzatore REVO, dove si è operato con acqua.

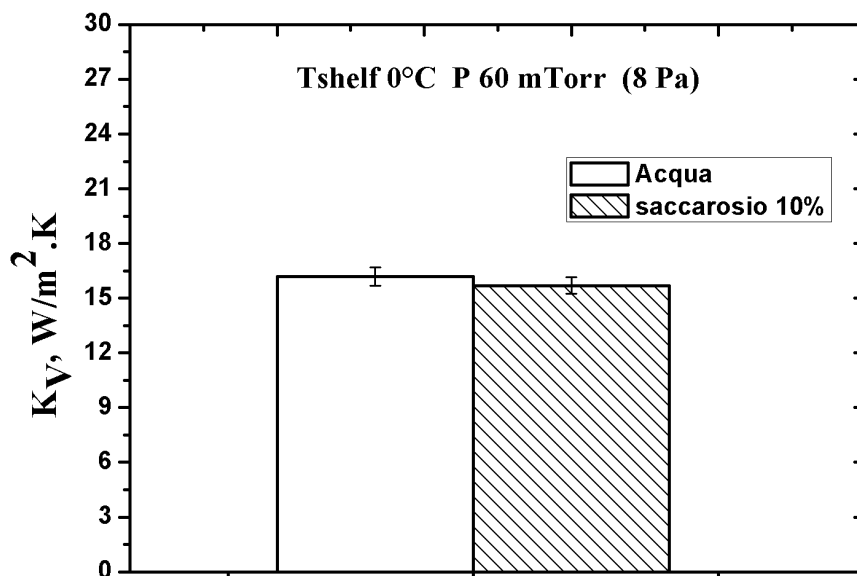


Figura 38. Valori del coefficiente di scambio termico globale ottenuti nel Micro-FD con pressione della camera pari a 60 mTorr, *Track Offset* pari a $-5^{\circ}C$, temperatura dello *shelf* pari a $0^{\circ}C$, utilizzando diversi prodotti.

Tabella 4. Perdita di massa registrata in ciascuna delle prove eseguite nel Micro-FD con pressione della camera pari a 60 mTorr, *Track Offset* pari a $-5^{\circ}C$, temperatura dello *shelf* pari a $0^{\circ}C$, utilizzando diversi prodotti.

Soluzione	Δm medio totale, g	Dev. standard totale %
10% saccarosio	2,6503	2,95
Acqua	2,0548	3,15

Una volta verificato che i dati ottenuti nei liofilizzatori Micro-FD possono essere confrontati con quelli del REVO, si inizia con l'ultima parte dello studio, dove vengono confrontati i coefficienti K_v , R_p , e i profili di temperatura.

3.3.2. Confronto tra il coefficiente di scambio termico dei liofilizzatori Micro-FD e REVO

Per determinare se è possibile simulare la dinamica del processo sviluppato nel REVO in un liofilizzatore di scala di produzione più piccola vengono confrontati i valori dei coefficienti di

scambio termico trovati in entrambe le apparecchiature. Nello studio sono stati effettuati tre tipi di prove a diverse condizioni di temperatura dello *shelf* e pressione della camera, e nel caso del Micro-FD sono state valutate tre diverse temperature dell'anello *LyoSim*. I risultati sono mostrati di seguito.

- **Temperatura dello shelf -20°C e Pressione in camera 60 mTorr**

La **Figura 39** presenta i valori del coefficiente di scambio termico nei liofilizzatori REVO e Micro-FD alle stesse condizioni di temperatura dello *shelf* (-20°C) e pressione della camera (60mTorr). I risultati ottenuti nel REVO mostrano, come previsto, grandi differenze tra il K_v medio riportato per i flaconi centrali (14,7 W/m²K) e quelli flaconi disposti sul bordo (21,1 W/m²K): queste discrepanze sono dovute al fatto che i flaconi esterni ricevono ulteriori contributi termici provenienti dalle pareti della camera. Il grafico riporta anche il valore del K_v medio globale (16,3 W/m²K): questo coefficiente presenta un valore più vicino al K_v dei flaconi centrali, poiché il lotto utilizzato nel REVO è composto da 33 flaconi esterni e 51 centrali; inoltre, questo parametro ha una deviazione standard elevata, come conseguenza della radiazione atipica presente nel sistema.

Confrontando i dati trovati nei due liofilizzatori è possibile apprezzare che i K_v medi trovati nel Micro-FD, con diverse impostazioni della temperatura dell'anello, sono simili al valore del coefficiente di trasferimento globale trovato nel REVO: la maggior equivalenza si ottiene con un *Track Offset* pari a -5°C, dove viene ottenuto un coefficiente di scambio termico pari a 16,4 W/m²K.

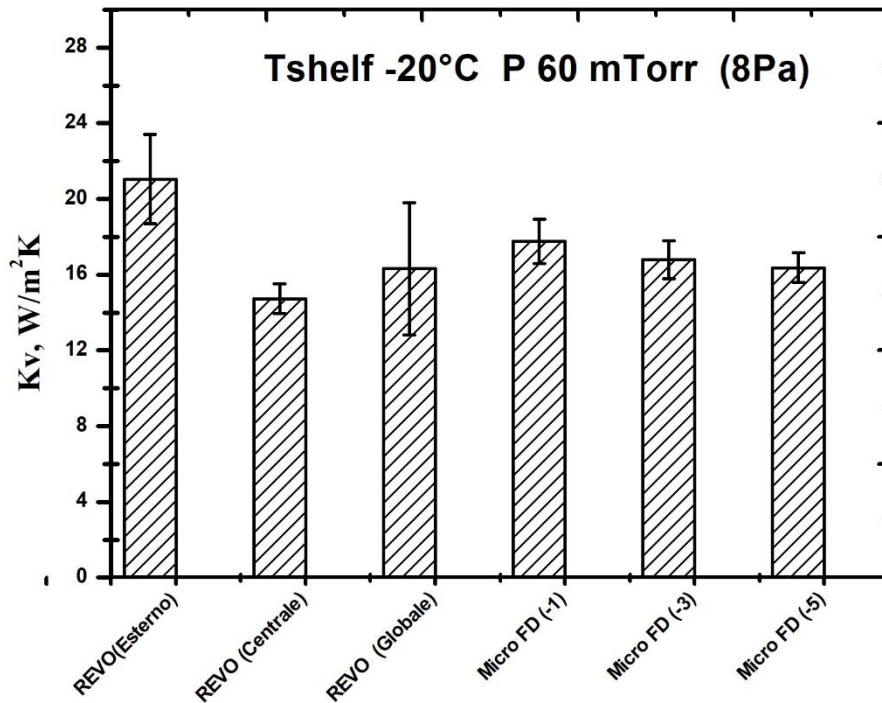


Figura 39. Confronto tra i valori medi dei coefficienti di scambio termico riportati per il liofilizzatore REVO e Mirco-FD, valutando diverse temperature dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C, -3°C, -5°C), alle stesse condizioni di funzionamento del ripiano (-20°C) e pressione nella camera (60 mTorr).

La **Figura 40** mostra la distribuzione dei valori dei coefficienti di scambio termico in ciascuno dei flaconi utilizzati nel REVO e nel Micro-FD: questa analisi più dettagliata permette di evidenziare l'eterogeneità del batch trattato nel REVO e l'influenza che l'anello *LyoSim* ha nel controllo del flusso termico inviato al prodotto. Nella **Figura 40.a**, sono mostrati i diversi valori del coefficiente K_v ottenuti nel REVO: questa sezione evidenzia come l'effetto della radiazione di calore dalle pareti della camera non influenza solo la fila esterna dei contenitori, ma anche, in misura minore, le file adiacenti; inoltre, si osserva che l'aumento del trasferimento di calore è più elevato nella parte frontale del lotto. Nella parte **b** dello schema sono presentati i valori del parametro K_v ottenuti nel Micro-FD: i risultati mostrano che i valori più alti del coefficiente sono trovati utilizzando la temperatura più alta dell'anello (*Track Offset* pari a -1°C), e al diminuire la temperatura del *LyoSim* diminuisce anche il valore del parametro; comportamento simile a quello evidenziato dalla deviazione standard, come è stato discusso nella **sezione 3.2.1**.

Quando si confrontano i risultati delle **Figura 40.a** e **Figura 40.b**, si nota che manipolando la temperatura dell'anello *LyoSim* del Micro-FD è possibile ottenere una gamma di valori del coefficiente K_v che rappresentano quasi l'intera distribuzione spaziale dei coefficienti ottenuti nel REVO. Ad esempio, con il *Track Offset* pari a -1°C , è possibile simulare i coefficienti caratteristici delle 3 file adiacenti alla parte esterna del REVO, e il comportamento dei flaconi centrali può essere riprodotto quando si utilizza un *Track Offset* pari a -5°C . Questa informazione consente di affermare che il Micro-FD è un ottimo strumento per ottenere cicli scalabili che possano riflettere le stesse condizioni nelle apparecchiature di scala maggiore.

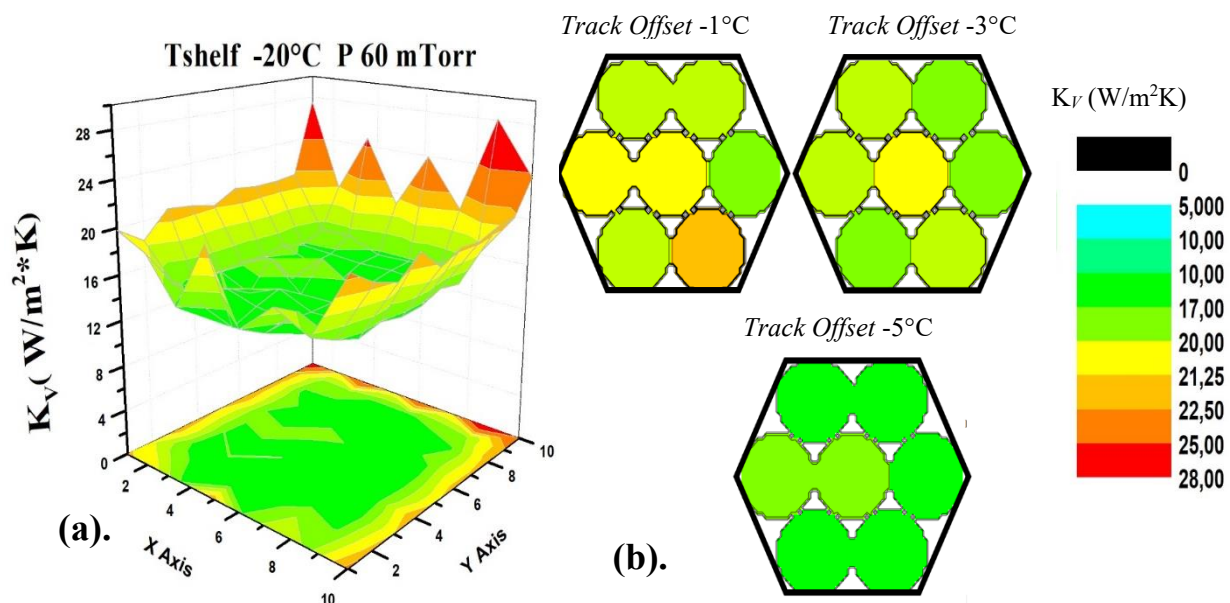


Figura 40. Diagramma di contorno dei coefficienti di scambio termico dei flaconi in base alla posizione nel (a.) Liofilizzatore REVO, (b.) Liofilizzatore Micro-FD, valutato a una temperatura del ripiano pari a -20°C , pressione della camera pari a 60 mTorr, nel caso del Micro-FD vengono utilizzate tre diverse configurazioni di anello (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C).

- **Temperatura dello shelf 0°C e Pressione in camera 60 mTorr**

La **Figura 41** mostra i valori ottenuti del coefficiente K_v nei liofilizzatori REVO e Micro-FD utilizzando una temperatura dello *shelf* pari a 0°C, pressione della camera uguale a 60 mTorr e 4 variazioni della temperatura dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C, -3°C, -5°C, -7°C).

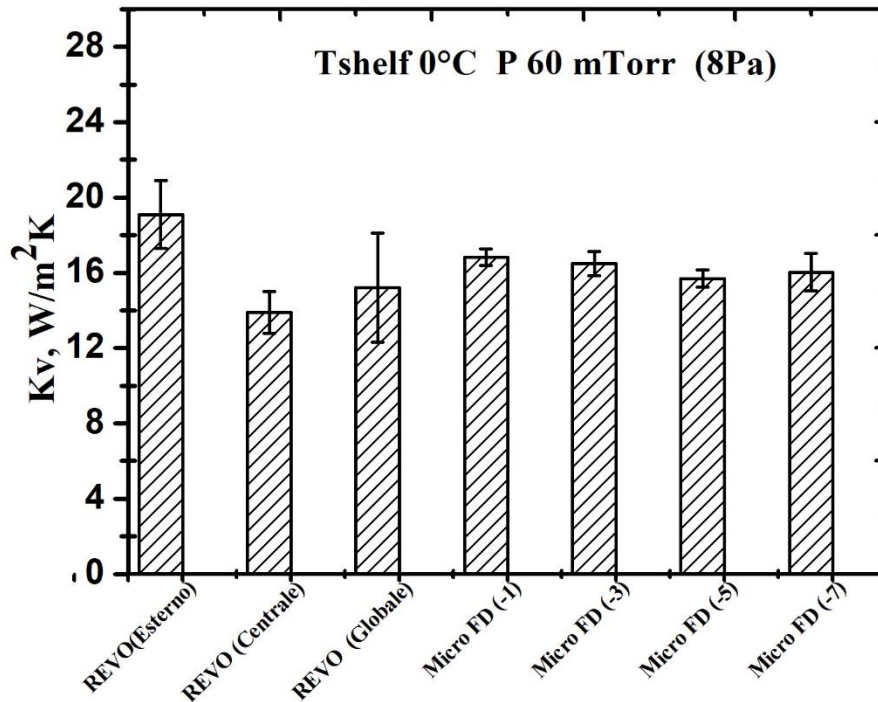


Figura 41. Confronto tra i valori medi dei coefficienti di scambio termico riportati per il liofilizzatore REVO e Mirco-FD, valutando diverse temperature dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C, -3°C, - 5°C, -7°C), alle stesse condizioni di funzionamento del ripiano (0°C) e pressione nella camera (60 mTorr).

Il grafico mostra che anche in questo caso i coefficienti di scambio termico ottenuti nei flaconi esterni (19,1 W/m²K) e centrali (13,9 W/m²K) del liofilizzatore REVO sono molto diversi, comportamento dovuto all'effetto di bordo che si verifica nel sistema, inoltre è mostrato che il coefficiente K_v globale (15,2 W/m²K) ha un valore molto vicino al coefficiente di scambio termico dei contenitori centrali. Il confronto dei parametri trovati nel REVO e Micro-FD mostra che i coefficienti raggiunti usando le diverse temperature dell'anello *LyoSim* sono simili al valore del K_v globale del liofilizzatore REVO, dove la differenza più piccola si ottiene con le temperature *Offset* di - 5°C e -7°C.

L'analisi della distribuzione dei coefficienti di scambio termico mostrata nella **Figura 42** evidenzia ancora una volta l'eterogeneità del lotto processato nel REVO e i valori dei coefficienti K_v globali rilevati per le diverse temperature del *LyoSim* utilizzato nel Micro-FD (**Figura 40, b**). I parametri trovati nel Micro-FD diminuiscono di valore quando la temperatura dell'anello diminuisce; tuttavia, il test eseguito con una temperatura di offset di -7°C presenta una anomalia, poiché in tre flaconi si registrano valori del coefficiente più elevati del previsto, risultando ciò in un aumento del

coefficiente di scambio termico medio del processo: queste deviazioni possono essere dovute a errori sperimentali o al posizionamento delle termocoppie. Il confronto tra i risultati trovati nei due liofilizzatori conferma che l'uso dell'anello *LyoSim* nel Micro-FD consente di ottenere valori del coefficiente K_v molto simili a quelli mostrati dai flaconi centrali del lotto processato nel REVO, ottenendo la migliore somiglianza utilizzando come *Track Offset* -5°C . Si dovrebbe notare che si potrebbe ottenere una rappresentazione migliore con la temperatura di offset di -7°C se si trascurano le anomalie della prova.

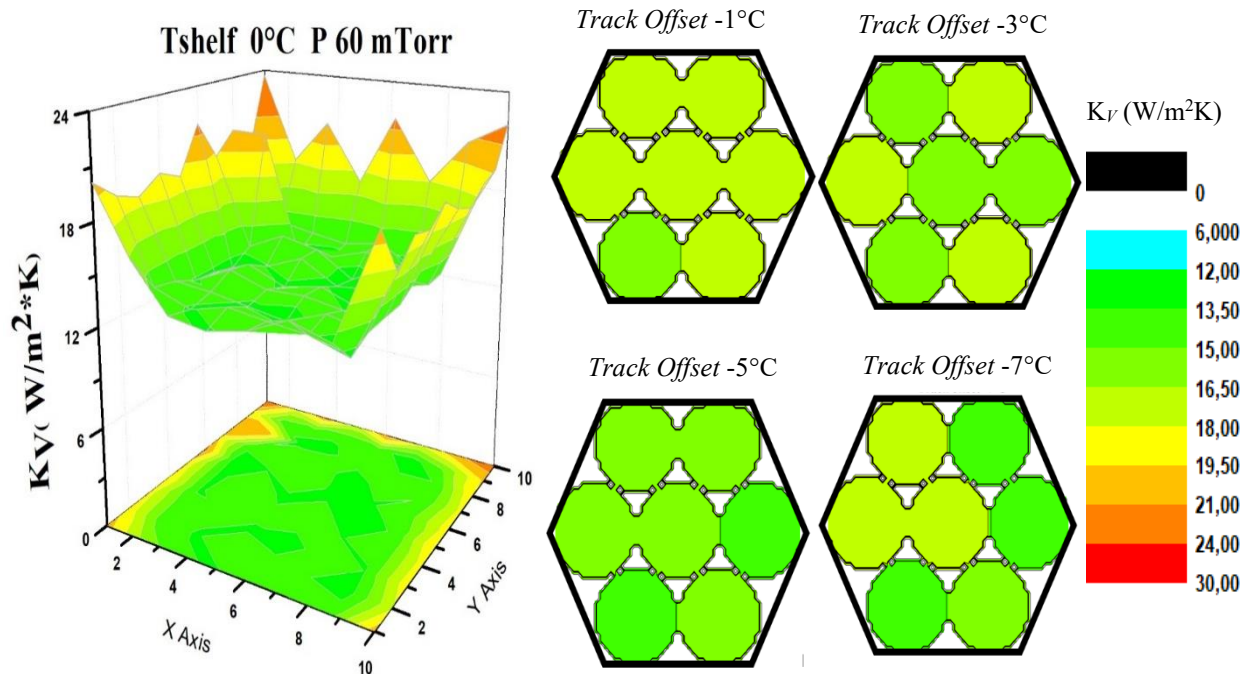


Figura 42. Diagramma di contorno dei coefficienti di scambio termico dei flaconi in base alla posizione nel (a.) Liofilizzatore REVO, (b.) Liofilizzatore Micro-FD, valutato a una temperatura del ripiano pari a 0°C , pressione della camera uguale a 60 mTorr, nel caso del Micro-FD vengono utilizzate tre diverse configurazioni di anello (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C , -7°C).

- **Temperatura dello shelf 0°C e Pressione in camera 90 mTorr**

La **Figura 43** mostra i valori ottenuti del coefficiente K_v nei liofilizzatori REVO e Micro-FD utilizzando una temperatura dello *shelf* pari a 0°C , pressione della camera uguale a 90 mTorr e 3 variazioni della temperatura dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C).

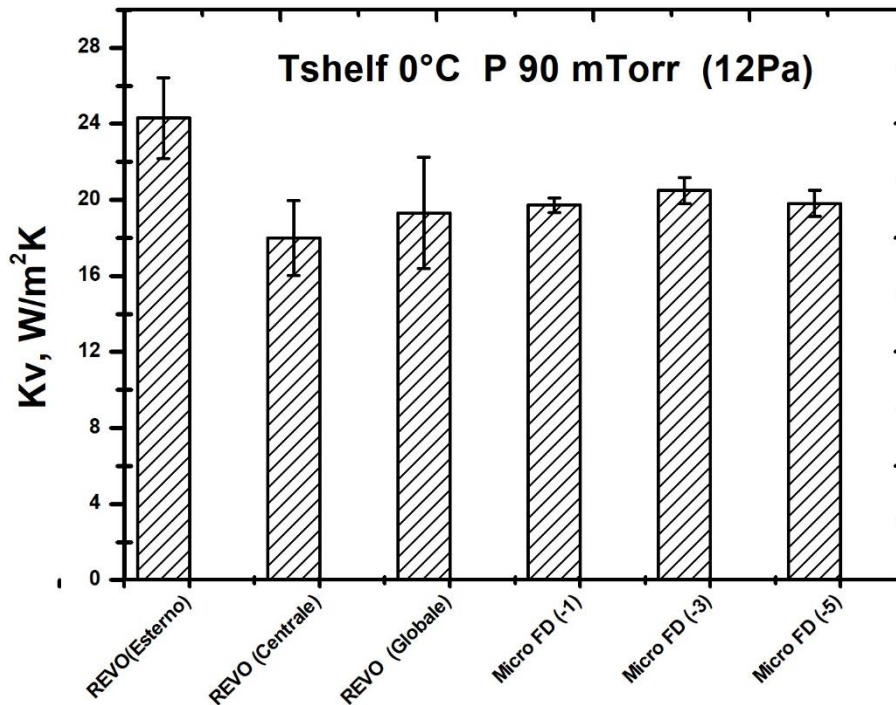


Figura 43. Confronto tra i valori medi dei coefficienti di scambio termico riportati per il liofilizzatore REVO e Mirco-FD, valutando diverse temperature dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C, -3°C, -5°C), alle stesse condizioni di funzionamento del ripiano (0°C) e pressione nella camera (90 mTorr).

La **Figura 43** mostra i valori dei coefficienti di scambio termico ottenuti nel Micro-FD e nel REVO: questi valori sono molto più alti di quelli trovati nelle condizioni operative prima analizzate a causa dell'uso di una pressione e temperatura più elevate che generano valori più elevati del flusso termico inviato al prodotto. I risultati del sistema REVO mostrano, come previsto, grandi differenze tra i coefficienti K_v dei contenitori centrali (18,01 W/m²K) ed esterni (24,03 W/m²K) del lotto, inoltre il coefficiente K_v globale (19,30 W/m²K) presenta un valore molto vicino al coefficiente di scambio termico dei contenitori centrali. Il confronto dei risultati ottenuti nel Micro-FD e nel REVO mostra che in questa occasione la configurazione del *LyoSim* che simula meglio le condizioni raggiunte nel REVO è il *Track Offset* di -1°C e -5°C.

La **Figura 44** mostra la distribuzione dei valori dei coefficienti di scambio termico ottenuti per ciascuno dei flaconi utilizzati nel REVO e nel Micro-FD: nel grafico viene mostrata un'elevata eterogeneità del lotto processato nel REVO, dove è evidenziato che la radiazione proveniente dalle pareti della camera influenza un numero maggiore di flaconi rispetto a quelli registrati nelle condizioni valutate in precedenza.

Il confronto dei valori del parametro K_v ottenuti nei due liofilizzatori rende evidente che le configurazioni dell'anello *LyoSim* che consentono di riprodurre meglio la dinamica del sistema sono il *Track Offset* di -1°C e -5°C poiché queste condizioni operative sono in grado di rappresentare il maggior numero di flaconi del batch processato nel REVO; è opportuno inoltre

menzionare che per rappresentare i contenitori centrali del REVO, è necessario utilizzare una temperatura dell'anello *LyoSim* più bassa.

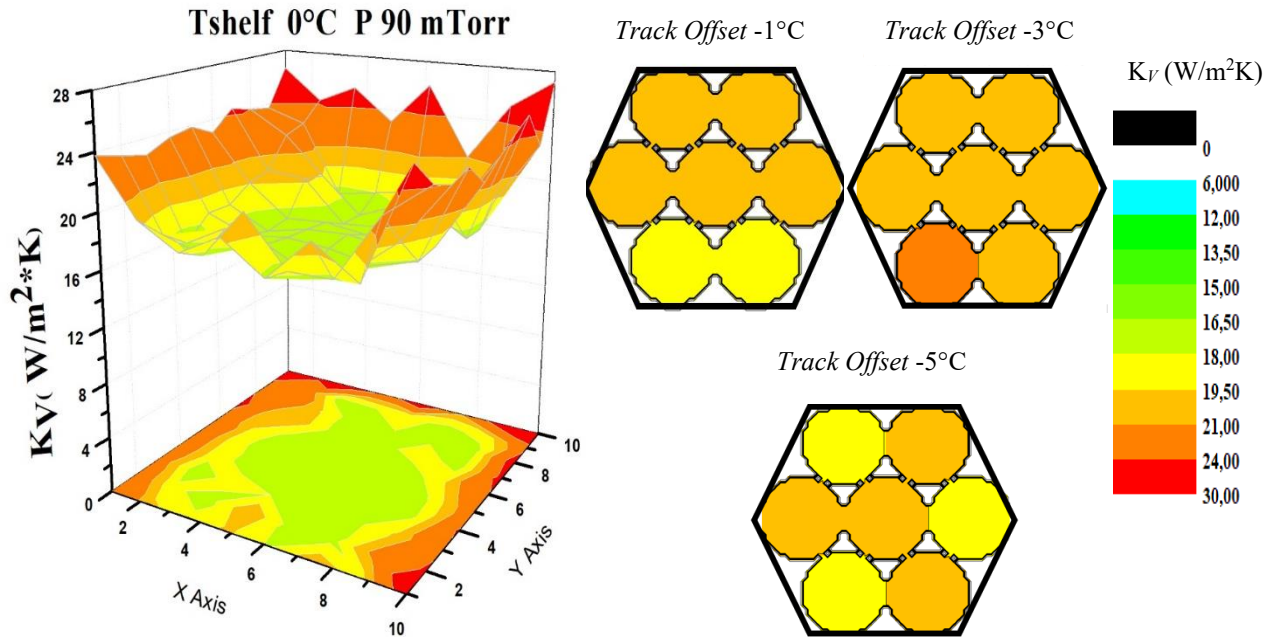


Figura 44 Diagramma di contorno dei coefficienti di scambio termico dei flaconi in base alla posizione nel (a.) Liofilizzatore REVO, (b.) Liofilizzatore Micro-FD, valutato a una temperatura del ripiano pari a 0°C, pressione della camera uguale a 60 mTorr, nel caso del Micro-FD vengono utilizzate tre diverse configurazioni di anello (*Track Offset* -1°C, -3°C, -5°C, -7°C).

3.3.3. Confronto della resistenza della torta secca al flusso di vapore dei liofilizzatori *Micro-FD* e *REVO*

Una volta determinati i coefficienti di scambio termico in entrambi i liofilizzatori lo studio prosegue con la valutazione della resistenza della torta essiccata al flusso di vapore (R_p). In questo caso vengono mostrati come esempio i valori ottenuti utilizzando le seguenti condizioni operative: temperatura dello *shelf* pari a 0°C, pressione della camera di 60 mTorr, utilizzando quattro diverse configurazioni dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C, -3°C, -5°C, -7°C), i risultati sono mostrati nella **Figura 45**. È importante ricordare che i test eseguiti nel REVO sono stati effettuati con lo stesso prodotto utilizzato in tutti i test effettuati nel Micro-FD, per garantire che i valori ottenuti siano comparabili.

Il grafico mostra che i valori dei parametri R_p ottenuti nel REVO e nel Micro-FD usando temperature dell'anello diverse sono abbastanza simili, poiché le curve sono quasi sovrapposte. Questo risultato conferma che il liofilizzatore Micro-FD può simulare la dinamica del processo di sublimazione ottenuta nel REVO, considerando che i test sono stati condotti utilizzando lo stesso tipo di contenitore (20R), le stesse condizioni di congelamento e tipo di prodotto.

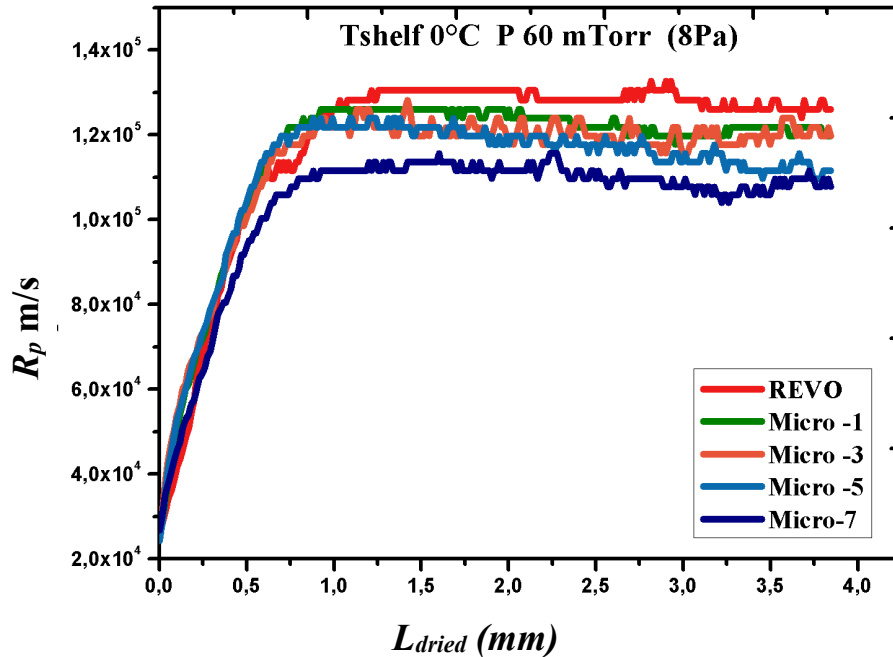


Figura 45. Confronto dei valori della resistenza della torta al flusso di vapore R_p , riportati per il liofilizzatore REVO e Mirco-FD, valutando diverse temperature dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C), alle stesse condizioni di funzionamento del ripiano (0°C) e pressione nella camera (60 mTorr).

3.3.4. Confronto dei profili di temperatura dei liofilizzatori Micro-FD e REVO

In questa sezione vengono analizzati i profili di temperatura dei flaconi centrali situati nel micro-FD e nel REVO eseguendo un ciclo di liofilizzazione fino alla fine della fase di essiccamento primario. Questi risultati vengono utilizzati ancora una volta per verificare se è possibile sviluppare un ciclo di liofilizzazione nelle apparecchiature su scala di laboratorio equivalente a quello ottenuto in un'apparecchiatura di scala maggiore. A tale scopo sono stati effettuati due tipi di prove: nella prima sono state utilizzate le seguenti condizioni: temperatura dello *shelf* pari a 0°C , pressione della camera 60 mTorr e temperatura dell'anello pari a -1°C , -3°C , -5°C , -7°C rispetto a temperatura media del prodotto; nella seconda serie di prove le condizioni utilizzate sono state: temperatura dello *shelf* pari a 0°C , pressione della camera uguale a 90 mTorr e *Track Offset* pari a -5°C . I risultati sono riportati di seguito.

- **Temperatura dello shelf 0°C e Pressione in camera 60 mTorr**

I profili di temperatura mostrati nella **Figura 46.a** possono essere divisi in due sezioni, la prima parte corrisponde alle ore iniziali della fase di essiccamento primario, dove il prodotto raggiunge il primo asintoto del processo, la seconda sezione inizia quando viene registrato un cambiamento di pendenza nei profili di temperatura. La prima parte del grafico mostra che le curve di temperatura di Micro-FD e REVO sono abbastanza vicine tra di loro, **Figura 46, b**: è possibile osservare una differenza inferiore a 1°C tra le curve, differenza che si trova tra l'intervallo di incertezza dello

strumento di misura. D'altra parte, nella seconda sezione, i profili di temperatura del Micro-FD nei cicli condotti con un *Track Offset* pari a -1°C e -3°C mostrano una differenza più marcata con le misure ottenute nel REVO, mentre le condizioni di *Track Offset* di -5°C e -7°C hanno comportamenti molto simili in entrambe apparecchiature, nel caso della temperatura di offset di -5°C le curve di entrambi i liofilizzatori sembrano essere completamente sovrapposte. Questi risultati confermano che il Micro-FD ha la capacità di eseguire un ciclo di liofilizzazione equivalente a quello sviluppato dal liofilizzatore REVO.

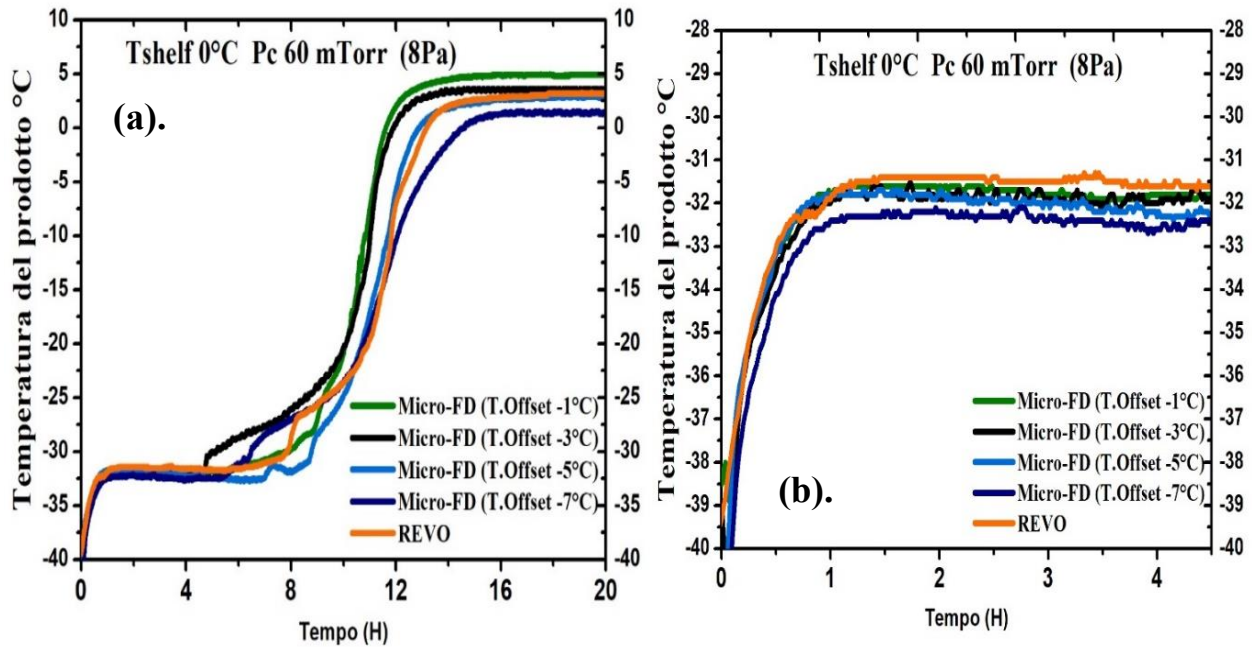


Figura 46. (a). Profili di temperatura media dei flaconi centrali nel REVO e nel Micro-FD registrati durante l'intera fase di essiccamento primario, utilizzando una temperatura dello *shelf* pari a 0°C , pressione della camera uguale a 60 mTorr, nel caso del Micro-FD vengono utilizzate tre diverse temperature dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C , -3°C , -5°C). (b). Profili di temperatura delle prime ore della fase di essiccamento primario.

- **Temperatura dello *shelf* 0°C e Pressione in camera 90 mTorr**

La Figura 47 mostra i profili di temperatura del prodotto contenuti nei flaconi situati nella parte centrale dei lotti del REVO e nel Micro-FD, condotti alle stesse condizioni di temperatura dello *shelf* (0°C), pressione della camera (90 mTorr) e *Track Offset* dei blocchi di alluminio (-1°C). I risultati mostrano che, nella prima parte del grafico, le curve dei due liofilizzatori si caratterizzano per presentare lo stesso comportamento, registrando valori abbastanza vicini. Quando si osservano le prime ore del processo, Figura 47. b, si può vedere che la differenza tra i profili di temperatura riportati per entrambi apparecchiature è inferiore a 1°C , indicando nuovamente che i cicli di liofilizzazione eseguiti nel REVO possono essere riprodotti nel Micro-FD.

Nella seconda sezione del grafico si osserva che entrambe le curve hanno lo stesso comportamento, però la differenza di temperatura è più marcata: questa differenza può essere attribuita al fatto che

nella seconda parte della prova le misurazioni della temperatura del prodotto possono essere influenzate da possibili errori nella posizione dello strumento all'interno dei flaconi o dagli spostamenti delle termocoppie, questa situazione fa sì che la termocoppia non tocchi il fondo del contenitore e quindi i valori di temperatura registrati non corrispondono a quelli del fondo del prodotto.

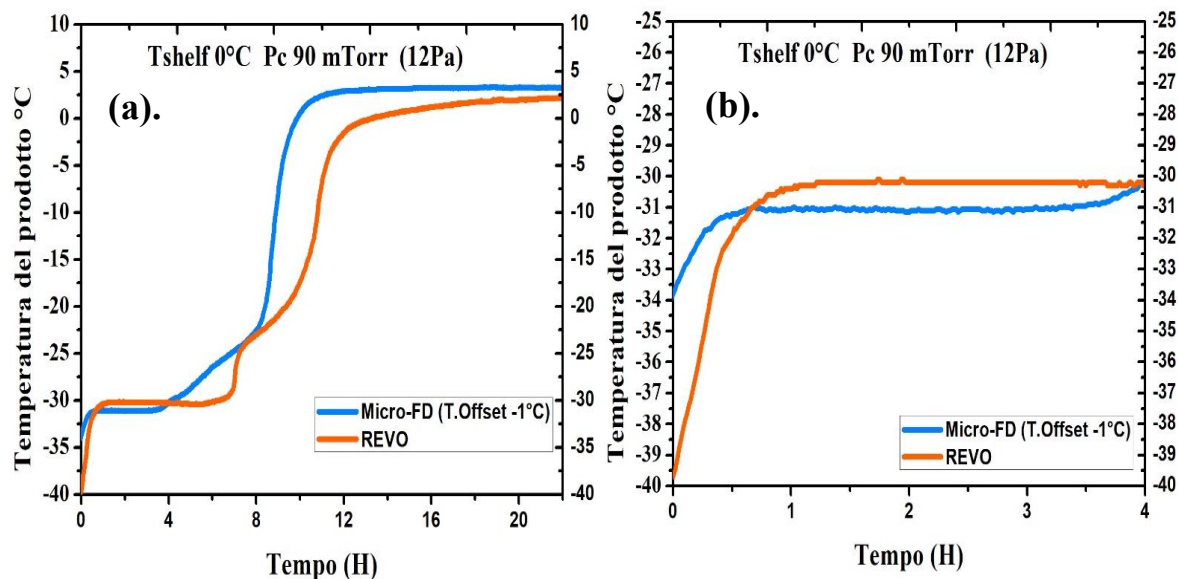


Figura 47. (a). Profili di temperatura media dei flaconi centrali nel REVO e nel Micro-FD registrati durante l'intera fase di essiccamento primario, utilizzando una temperatura dello *shelf* pari a 0°C, pressione della camera uguale a 90 mTorr, nel caso del Micro-FD vengono utilizzate tre diverse temperature dell'anello *LyoSim* (*Track Offset* -1°C).
(b). Profili di temperatura delle prime ore della fase di essiccamento primario.

3.3.5. Confronto della pressione dei liofilizzatori Micro-FD e REVO

In quest'ultima fase dello studio vengono analizzate le misurazioni delle pressioni ottenute col manometro capacitivo Baratron e con la sonda Pirani nei liofilizzatori REVO e Micro-FD. Questi risultati vengono utilizzati per due scopi: il primo è determinare il punto finale della fase di essiccamento, attraverso il rapporto delle pressioni registrate dal manometro Baratron e Pirani. In questo caso il criterio utilizzato per determinare il tempo finale della prova è stato l'identificazione del punto di *onset*, corrispondente alla variazione della pendenza della curva che mette in relazione la pressione registrata dai dispositivi Pirani e Baratron, come è stato proposto da Patel, et al. (2010). Il secondo scopo dell'analisi di questi risultati è fare il confronto tra la durata dei test eseguiti in entrambi i liofilizzatori al fine di stabilire se il Micro-FD può simulare i cicli di liofilizzazione condotti nel REVO. Per fare ciò, sono state studiate una serie di prove in cui sono state analizzate le seguenti condizioni operative: temperatura dello *shelf* pari a 0°C, pressione della camera 60 mTorr e temperatura dell'anello pari a -1°C, -3°C, -5°C, -7°C rispetto alla temperatura media del prodotto. I risultati sono mostrati di seguito.

La **Figura 48** mostra che le curve registrate nel Micro-FD hanno un comportamento abbastanza simile a quelle ottenuti nel REVO: i casi più vicini ai valori trovati nel REVO sono quelli ottenuti usando un *Track Offset* pari a -5°C e -7°C . Inoltre, usando il criterio *onset* per determinare il punto finale del processo, si osserva che le prove eseguite con il *Track Offset* pari a -1°C , -3°C , -5°C , -7°C hanno una durata di 10 ore e 6 minuti, 10 ore e 42 minuti, 11 ore e 12 minuti, 12 ore e 1 minuto, rispettivamente; mentre il processo sviluppato nel REVO richiede 11 ore e 24 minuti per completare la fase di essiccamento primario. L'analisi dei valori ottenuti mostra che la condizione operativa dell'anello che rappresenta meglio il ciclo di liofilizzazione eseguito nel REVO è il *Track Offset* pari a -5°C , poiché la differenza nella durata dei processi è di soli 12 minuti. Occorre notare che gli altri valori riportati si adattano abbastanza bene a quelli rilevati nel REVO, poiché la differenza massima ottenuta è di solo 1 ora e 30 minuti (*Track Offset* pari a -1°C).

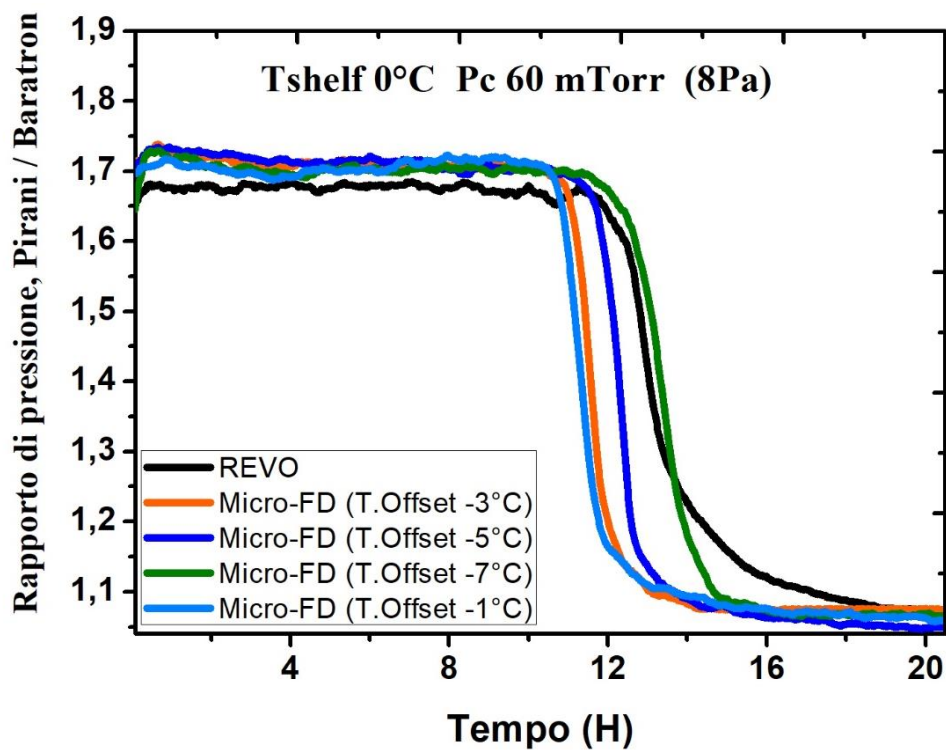


Figura 48. Confronto delle curve del rapporto di pressione misurate con i sensori Pirani e Baratron ottenuti nei test eseguiti nel Micro-FD e REVO, utilizzando le seguenti condizioni operative: temperatura dello *shelf* pari a 0°C , pressione della camera uguale a 60 mTorr e *Track Offset* pari a -1°C , -3°C , -5°C , -7°C .

4. Conclusioni

La liofilizzazione è un processo di disidratazione che consente di stabilizzare a lungo termine i principi attivi nei prodotti farmaceutici, minimizzare il danno che i materiali sensibili al calore possono subire in un processo di essiccamento ad alta temperatura, oltre a semplificare il trasporto e la gestione del materiale utilizzando piccoli flaconi per la conservazione.

Questo processo è suddiviso principalmente in tre operazioni: congelamento, essiccamento primario e essiccamento secondario. Tra i principali problemi che sorgono nello sviluppo dei processi di liofilizzazione ricordiamo la disponibilità limitata dei principi attivi dei prodotti farmaceutici o biotecnologici e l'elevato costo energetico del processo. Per superare queste difficoltà sono state sviluppate apparecchiature su piccola scala, che permettono di caratterizzare le prestazioni della formulazione durante le prime fasi del processo di ricerca, consentendo di ottenere cicli scalabili che possano riflettere le stesse condizioni nelle apparecchiature di scala maggiore. Le sfide che possono sorgere nello *scale-up* del processo sono la differenza nella temperatura di nucleazione del ghiaccio nelle apparecchiature a diversa scala di produzione e la differenza nei livelli di irraggiamento dovuta alle specifiche caratteristiche di ciascun liofilizzatore. Tra le innovazioni tecnologiche progettate per facilitare lo *scale-up* del processo ci sono i micro-liofilizzatori: queste apparecchiature consentono di superare il problema dell'irraggiamento atipico presente all'interno della camera poiché hanno un anello a contatto con i flaconi esterni, la cui temperatura può essere controllata per ottenere il risultato desiderato.

Nella prima parte di questo lavoro di Tesi il funzionamento del liofilizzatore Micro-FD è stato caratterizzato attraverso una serie di prove condotte utilizzando una soluzione acquosa al 10% in peso di saccarosio, contenuta in flaconi di dimensioni 20 R, dove l'omogeneità del lotto è stata valutata durante la fase di essiccamento primario attraverso l'analisi del profilo di temperatura di ciascuna delle termocoppie situate nei flaconi esterni e interni del lotto, il flusso termico inviato al prodotto e la perdita di peso dei flaconi. Lo studio condotto in questa prima parte della Tesi ha portato alle seguenti conclusioni:

1. La temperatura dell'anello *LyoSim* ha una influenza sulla temperatura media del prodotto, registrando una diminuzione dei valori di temperatura quando la temperatura dell'anello diminuisce. L'analisi della perdita di massa media del sistema riflette una relazione diretta tra la temperatura dell'anello e la frazione di acqua sublimata, poiché a temperature dell'anello più elevate è stato osservato un aumento della perdita di massa media dei flaconi. Per quanto riguarda l'omogeneità del lotto, si può affermare che in tutte le prove eseguite sono state ottenute deviazioni standard inferiori al 10% nei valori di perdita di peso, dimostrando che il lotto costituito da soli 7 contenitori presenta una buona uniformità in tutte le condizioni valutate. In media, la temperatura di *Offset* di -5°C sembra essere la migliore configurazione

per ottenere una perdita di massa simile nei flaconi esterni e interni e una bassa deviazione standard.

2. La temperatura del ripiano ha un'influenza notevole sulla temperatura media del prodotto poiché aumentando la temperatura del ripiano incrementa il flusso di calore trasmesso al prodotto e di conseguenza aumenta la temperatura registrata da ciascuna delle termocoppie. Questo effetto si riflette chiaramente nella velocità di sublimazione del sistema, registrando una maggiore frazione di acqua sublimata e una minore differenza nella perdita di acqua ottenuta nei flaconi esterni e interni a temperature dello *shelf* più elevate.
3. La pressione della camera ha un effetto significativo sul flusso termico inviato al prodotto, poiché l'aumento della conduttività dell'aria fa aumentare la conduzione del calore del gas intrappolato tra il fondo dei flaconi e il ripiano. Questo fatto si riflette nella frazione di solvente sublimata, che registra un aumento all'aumentare della pressione del sistema.

Nella seconda parte dello studio sono stati valutati i parametri utilizzati nel modello matematico per descrivere i fenomeni di trasferimento di massa e calore che si verificano in un processo di liofilizzazione. La valutazione dell'effetto della temperatura dell'anello *LyoSim*, della temperatura dello *shelf* e della pressione della camera sui coefficienti K_v e R_p permette di concludere che il coefficiente di scambio termico è direttamente influenzato dalla temperatura dell'anello *LyoSim* e dalla pressione della camera, registrando un incremento dei valori del coefficiente quando queste condizioni operative sono aumentate, dato che in entrambe le situazioni si genera un aumento del flusso di calore inviato al prodotto. Per quanto riguarda la temperatura del ripiano, si è concluso che il cambiamento di questa variabile non influisce in modo significativo sul valore del coefficiente K_v . L'analisi delle curve R_p vs. L_{dried} ha permesso di stabilire che, alle stesse condizioni di congelamento, prodotto e tipo di contenitore, la resistenza della torta secca al flusso di vapore non è influenzata dalla temperatura dell'anello *LyoSim*, ottenendo profili quasi sovrapposti al variare di tale parametro; le condizioni di temperatura del ripiano e la pressione nella camera hanno una relazione inversa con il parametro R_p , visto che l'aumento di queste condizioni operative provoca la diminuzione dei valori di R_p vs. L_{dried} durante la fase di sublimazione, conseguenza della presenza di micro-collapsi nella struttura del saccarosio.

Nella parte finale della tesi i valori trovati per i parametri K_v e R_p , i profili di temperatura e pressione ottenuti nei liofilizzatori Micro-FD e REVO sono stati confrontati per determinare quanto siano equivalenti i cicli di liofilizzazione condotti in entrambe le apparecchiature. I risultati ottenuti nei test sperimentali consentono di concludere che i valori dei coefficienti di scambio termico ottenuti nel Micro-FD, utilizzando diverse configurazioni dell'anello *LyoSim*, sono abbastanza simili ai valori del coefficiente K_v ottenuti nel REVO. In media, si può dire che la temperatura di offset pari a -5°C consente di avere la migliore rappresentazione del comportamento dei flaconi centrali del REVO, mentre la temperatura di Offset pari a -1°C consente di simulare le condizioni delle 3 file adiacenti alla parte esterna dell'apparecchiatura. Per quanto riguarda il valore del parametro R_p , sono state trovate somiglianze tra le curve R_p vs L_{dried} ottenute nei cicli di liofilizzazione sviluppati

nel REVO e Micro-FD. Il confronto tra la durata della fase di essiccamento e i profili di temperatura ottenuti in entrambe le apparecchiature ha permesso di dimostrare che, grazie al controllo della temperatura effettuato dall'anello *LyoSim* nel Micro-FD, si possono ottenere basse differenze nel punto di fine della fase di essiccamento primario in entrambi i liofilizzatori; inoltre, si è osservato che i profili di temperatura del prodotto sono molto simili in entrambe le apparecchiature. Questi risultati consentono di concludere che il Micro-FD può simulare i cicli di liofilizzazione sviluppati in apparecchiature con una scala di produzione più grande, e possibilmente si potrebbero ottenere caratteristiche equivalenti nei prodotti disidratati in entrambi i liofilizzatori quando vengono utilizzate le condizioni di funzionamento appropriate dell'anello *LyoSim*.

5. Bibliografia

- Barresi, A. A. e Fissore, D., 2011, In-Line Product Quality Control of Pharmaceuticals in Freeze-Drying Processes, *Modern Drying Technology*, Vol 3, n. 5, pp. 91-154. Doi: 10.1002/9783527631667.ch4
- Barresi, A. A., Velardi, S., Fissore, D. e Pisano, R., 2009, Monitoring and Controlling Processes with Complex Dynamics Using Soft Sensors. in: L. Ferrarini e C. Veber (eds) *Modeling, Control, Simulation and Diagnosis of Complex Industrial and Energy Systems*, International Society of Automation, Research Triangle Park, pp. 139-162.
- Bosca, S., Barresi, A. A. e Fissore, D., 2013, Fast freeze-drying cycle design and optimization using a PAT based on the measurement of product temperature, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol 85, n. 2, pp. 253-262. Doi: 10.1016/j.ejpb.2013.04.008.
- Bosca, S. & Fissore, D., 2011. Design and validation of an innovative soft-sensor for pharmaceuticals freeze-drying monitoring. *Chemical Engineering Science*, vol 66, n. 21, pp. 5127-5136. Doi: 10.1016/j.ces.2011.07.008.
- Dow Chemical Company., 2011, DOWTHERM™ and SYLTHERM Heat Transfer Fluids, Tratto il giorno 10 Ottobre 2019, da Dow Chemical Company http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_094b/0901b8038094bae2.pdf?filepath=oilandgas/pdfs/noreg/812-00068.pdf?filepath=oilandgas/pdfs/noreg/812-00068.pdf&fromPage=GetDoc
- Ellab., 2018, The Freeze Drying Theory and Process Things to Consider, Tratto il giorno 1 Settembre 2019, da Ellab https://www.ellab.com/Files/Files/White-Papers/The-Freeze-Drying-Theory-and-Process_ellab-whitepaper.pdf.
- Fissore, D., 2017, Model-based PAT for Quality Management in Pharmaceuticals Freeze-drying: State of the Art, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol 5, n. 5, pp.1-10. Doi: 10.3389/fbioe.2017.00005
- Fissore, D. & Barresi, A. A., 2011, Scale-up and process transfer of freeze-drying recipes, *Drying Technology*, vol 29, n. 14, pp. 1673-1684, Doi: 10.1080/07373937.2011.597059.
- Fissore, D., Pisano, R. e Barresi, A. A., 2018, Process analytical technology for monitoring pharmaceuticals freeze-drying – A comprehensive review, *Drying Technology*, vol 36, n. 15, pp. 1839-1865. Doi: 10.1080/07373937.2018.1440590.
- Geidobler, R. e Winter, G., 2013, The importance of being small: miniaturisation of freeze drying equipment, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol 85, n. 2, pp. 214-222. Doi: 10.1016/j.ejpb.2013.04.014 EJPB 11406

- Gieseler, H. & Gieseler, M., 2019, The importance of being small : miniaturisation of freeze drying equipment. Tratto il giorno 1 Settembre 2019, da European pharmaceutical review <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com>.
- Giordano, A., Barresi, A. 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*, vol 100, n. 1, pp. 311-324. Doi:10.1002/jps.22264.
- Goldman, J. M. et al., 2019, Representative Scale-Down Lyophilization Cycle Development Using a Seven-Vial Freeze-Dryer (MicroFD®), *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol 108, n. 4, pp. 1486-1495. Doi: 10.1016/j.xphs.2018.11.018.
- Kasper, J. C. e Friess, W., 2011, The freezing step in lyophilization : Physico-chemical fundamentals , freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol 78, n. 2, pp. 248-263. Doi: 10.1016/j.ejpb.2011.03.010.
- Liu, . J., 2008, Physical Characterization of Pharmaceutical Formulations in Frozen and Freeze-Dried Solid States : Techniques and Applications in Freeze- Drying Development, *Pharmaceutical Development and Technology*, vol 11,n. 1, pp. 3-28.Doi: 10.1080/10837450500463729.
- Liu, J., 2010, Freeze-Drying, Pharmaceuticals, in M. C., Flickinger (ed) *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*, John Wiley & Sons, pp. 1-18. Doi 10.1002/9780470054581.eib330.
- López-malo, A. e Palou, E., 2008, Freeze-Drying of Fruits and Vegetables : Process Variables , Quality , and Stability, in Y. Hui, C. Clary, O. Fasina e A. Noomhorm (eds) *Food drying science and Technology*, DEStech Publications, Inc, Lancaster, Pennsylvania, pp. 417-434.
- McAndrew, T. P., Hostetler, D. & Degrazio, F. L., 2019, Container and Reconstitution Systems for Lyophilized Drug Products, in: K. R. Ward & P. Matejtschuk (eds) *Lyophilization of Pharmaceuticals and Biologicals*, Humana Press, New York, pp. 192-213.
- Millrock Technology, 2019, MicroFD LyoSim Vial Array Sizing Guide, Tratto il giorno 9 Ottobre 2019, da Millrock Technology <https://www.millrocktech.com/wp-content/uploads/2019/08/MicroFD-LyoSim-Vial-Array-Sizing-Guide.pdf>
- Millrock Technology, 2017a. Instruction Manual REVO® Research & Development Freeze-Dryer With Opti-Dry Software, Kingston.
- Millrock Technology, 2017b, Instruction Manual MicroFD Freeze-Dryer with LyoPAT & LyoSim, Kingston

- Nail, S. et al., 2017, Recommended Best Practices for Process Monitoring Instrumentation in Pharmaceutical Freeze Drying. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, vol 18, n. 7, pp. 2379-2393. Doi: 10.1208/s12249-017-0733-1
- Nireesha, G. R. et al., 2013, Lyophilization / Freeze Drying - An Review. *International Journal of novel trends in pharmaceutical sciences* , vol 3, n. 4, pp. 87-98.
- Obeidat, W., Sahni, E., Kessler, W. & Pikal, M., 2018. Development of a Mini-Freeze Dryer for Material-Sparing Laboratory Processing with Representative Product Temperature History. *AAPS PharmSciTech*, vol 19, n. 2, pp. 599-609. Doi: 10.1208/s12249-017-0871-5.
- Patel, S. M., Doen, . T. & Pikal, . M. J., 2010, Determination of End Point of Primary Drying in Freeze-Drying Process Control, *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, vol 11, n. 1, p.p. 73–84. Doi 10.1208/s12249-009-9362-7.
- Petersen, A., Schneider, H., Rau, G. e Glasmacher, B., , 2006, A new approach for freezing of aqueous solutions under active control of the nucleation temperature, *Cryobiology*, vol 53, n. 1, pp. 248-257. Doi: 10.1016/j.cryobiol.2006.06.005.
- Pisano, R., Fissore, D. e Barresi, A. A., , 2011., Heat Transfer in Freeze-Drying Apparatus, in: M. A. dos Santos Bernardes (ed) *Developments in Heat Transfer*, IntechOpen, Rijeka, pp. 91-114. Doi: 10.5772/23799.
- Porfire, A., Tomuta, I., Iurian, S. e Casian, T., , 2019, Quality by Design Considerations for the Development of Lyophilized Products, in B. Sarwar e H. Saquib (eds) *Pharmaceutical Quality by Design: Principles and Applications*, Academic Press Inc, San Diego, pp. 193-207.
- Rambhatla, S. & Pikal, M. J., , 2003, Heat and mass transfer scale-up issues during freeze-drying, I: Atypical radiation and the edge vial effect, *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, vol 4, n. 2, pp. 1-10. Doi: 10.1208/pt040214.
- Rambhatla, S., Ramot, R., Bhugra, R. e Pikal, M. J., , 2004, Heat and Mass Transfer Scale-up Issues during Freeze Drying : II . Control and Characterization of the Degree of Supercooling, *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, vol 5, n. 4, pp. 1-9.
- Ratti, C., 2001, Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of Food Engineering*, vol 49, n. 4, pp. 311-319. Doi: 10.1016/S0260-8774(00)00228-4.
- Rey, L. & May, J. C., 2010. *Freeze Drying / Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*. Informa healthcare, London.
- Scutellà, B., Plana-fattori, A., Passot, S., Bourlès, E et al., 2017, 3D mathematical modelling to understand atypical heat transfer observed in vial freeze-drying. *Applied Thermal Engineering*, Vol 126, n. 3, pp. 226 - 236. Doi 10.1016/j.applthermaleng.2017.07.096

- Shandong HonHai Industrial Co. Ltd, 2019, Catalogue for pharma glass package, Tratto il giorno 7 Ottobre 2019, da HonHai. <http://m.boroglasstube.com/nav/56.html>.
- Shukla, S., e Road, G., 2011, Freeze drying process: a review, *International Journal of pharmaceutical Sciences and research*, vol 2 n.12, pp. 3061-3068.
- Thompson, T., 2014, LyoPAT – New Technology for FD Research and Development The Ultimate Tool for Cycle Optimization & Transfer, Tratto il giorno 13 Settembre 2019, da Millrock Technology <https://www.millrocktech.com/advanced-control-technologies-overview/>
- Thompson, T., Wang, Q. & Reiter, C., 2017, *Developing Transferable Freeze Drying Protocols using Accuflux and a MicroFD*. Millrock Technology, Inc, San Diego.
- Tsinontides, S. et al., 2004, Freeze drying — principles and practice for successful scale-up to manufacturing, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 280, pp. 1-16. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2004.04.018
- Zeki, B., , 2018, *Freeze drying and freeze concentration*, Academic Press, London Wall, London.

6. Notazioni

a_c	Coefficiente di accomodamento energetico
A_{Rp}	Parametro usato per il calcolo di R_p , s^{-1}
A_v	Area interna del flacone, m^2
B_{Rp}	Parametro usato per il calcolo di R_p , m^{-1}
C_1	Parametro usato per il calcolo di K_v , $W m^{-2} K^{-1}$
C_2	Parametro usato per il calcolo di K_v , $W m^{-2} K^{-1} Pa^{-1}$
C_3	Parametro usato per il calcolo di K_v , Pa^{-1}
e_s	Emissività per lo scambio termico di irraggiamento dallo shelf al fondo del flacone
e_v	Emissività per lo scambio termico di irraggiamento dallo shelf alla parte superiore del flacone
ΔH_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_c	Coefficiente di scambio termico dovuto alla conduzione diretta dallo shelf al vetro nei punti di contatto, $W m^{-2} K^{-1}$
K_g	Coefficiente di scambio termico dovuto alla conduzione nel gas tra lo shelf e il fondo del flacone $W m^{-2} K^{-1}$
K_r	Coefficiente di scambio termico tra lo shelf e il flacone a causa dell'irraggiamento $W m^{-2} K^{-1}$
$K, shelf$	Coefficiente di scambio di calore rilevato dal Micro-FD, $W m^{-2} K^{-1}$
$K_{v,totale}$	Coefficiente totale di trasporto di calore fra ripiano e prodotto, $W m^{-2} K^{-1}$
L_{dried}	Spessore dello strato sublimante, m
ℓ	Distanza effettiva costante tra il fondo del flacone e lo shelf, m
M	Peso molecolare dell'acqua, $kg kmol^{-1}$
Δm	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	Costante universale dei gas, $\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$
$R_{p,0}$	Parametro usato per il calcolo di R_p , m s^{-1}
Δt	Intervallo di tempo intercorso tra l'inizio dell'essiccamento ed il termine della prova, h
T	Temperatura, $^{\circ}\text{C}$
T_b	Temperatura del prodotto sul fondo del flacone, $^{\circ}\text{C}$
T_{PAvg}	Temperatura media del prodotto in camera, $^{\circ}\text{C}$
T_c	Temperatura di collasso del prodotto, $^{\circ}\text{C}$
T_{ring}	Temperatura dell'anello <i>LyoSim</i> , $^{\circ}\text{C}$
T_{shelf}	Temperatura del ripiano termo-controllato, $^{\circ}\text{C}$

Grecismi

κ	Costante di Stefan-Boltzmann, J K^{-1}
Λ_0	Conducibilità termica molecolare libera a 0°C , $\text{J s}^{-1}\text{m}^{-1}\text{K}^{-1}$
ε	Percentuale d'acqua in soluzione, -
λ_0	Conducibilità termica del vapore acqueo a pressione ambiente, $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$
λ_{frozen}	Conducibilità termica del ghiaccio, $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$
ρ_{frozen}	Densità del ghiaccio, kg m^{-3}