

**POLITECNICO DI TORINO**

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

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

Tesi di Laurea Magistrale

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



**Relatore**

prof. Davide Fissore

**Candidato**

Andrea Lupano

Marzo 2022



# Sommario

<b>1. Introduzione.....</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Introduzione alla liofilizzazione</i> .....	1
1.2 <i>Modalità di congelamento</i> .....	3
1.2.1 <i>Nucleazione controllata con tecnica “Ice Fog”</i> .....	3
1.2.2 <i>Annealing</i> .....	5
1.3 <i>Durata dell’essiccamento primario</i> .....	7
1.4 <i>Modelli matematici</i> .....	8
1.4.1 <i>Coefficiente di scambio termico <math>K_v</math></i> .....	10
1.4.2 <i>Resistenza al flusso di vapore <math>R_p</math></i> .....	11
1.5 <i>Liofilizzatori su scala ridotta</i> .....	12
1.6 <i>Scopo e struttura della Tesi</i> .....	14
<b>2. Materiali, apparecchiature e metodologie .....</b>	<b>15</b>
2.1 <i>Apparecchiature</i> .....	15
2.1.1 <i>MicroFD</i> .....	15
2.1.2 <i>REVO</i> .....	16
2.2 <i>Prove sperimentali: procedure e condizioni operative</i> .....	17
2.2.1 <i>Cicli di liofilizzazione completi</i> .....	17
2.2.2 <i>Test gravimetrici</i> .....	22
2.3 <i>Metodologie di calcolo</i> .....	24
2.3.1 <i>Prima parte</i> .....	24
2.3.1.1 <i>Calcolo del coefficiente di scambio termico complessivo <math>K_v</math></i> .....	24
2.3.1.2 <i>Calcolo della resistenza al flusso di vapore <math>R_p</math></i> .....	25
2.3.2 <i>Seconda parte</i> .....	26
2.3.2.1 <i>Quantificazione dei flussi termici</i> .....	26
2.3.2.2 <i>Stima del coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto <math>K_v</math> nel MicroFD</i> .....	29
<b>3. Risultati e discussione .....</b>	<b>33</b>
3.1 <i>Prima parte</i> .....	33
3.1.1 <i>Dati sperimentali</i> .....	33
3.1.2.1 <i>Ulteriore analisi delle durate del processo</i> .....	39
3.1.2.2 <i>Confronto tra i valori di <math>K_v</math></i> .....	39
3.1.2.3 <i>Confronto tra <math>R_p</math> e diffusività effettive</i> .....	41
3.2 <i>Seconda parte</i> .....	47
3.2.1 <i>Dati sperimentali</i> .....	47
3.2.2 <i>Rielaborazione dei dati</i> .....	49
3.2.2.1 <i>Quantificazione dei flussi termici nel MicroFD</i> .....	49

3.2.2.2 Utilizzo dell'algoritmo MATLAB .....	52
3.3 Terza parte: process transfer MicroFD-REVO .....	56
<b>4. Conclusioni.....</b>	<b>59</b>
<b>Lista dei simboli.....</b>	<b>63</b>
<b>Bibliografia .....</b>	<b>65</b>
<b>Appendice.....</b>	<b>I</b>
<b>Ringraziamenti .....</b>	<b>IV</b>

# 1. Introduzione

## 1.1 Introduzione alla liofilizzazione

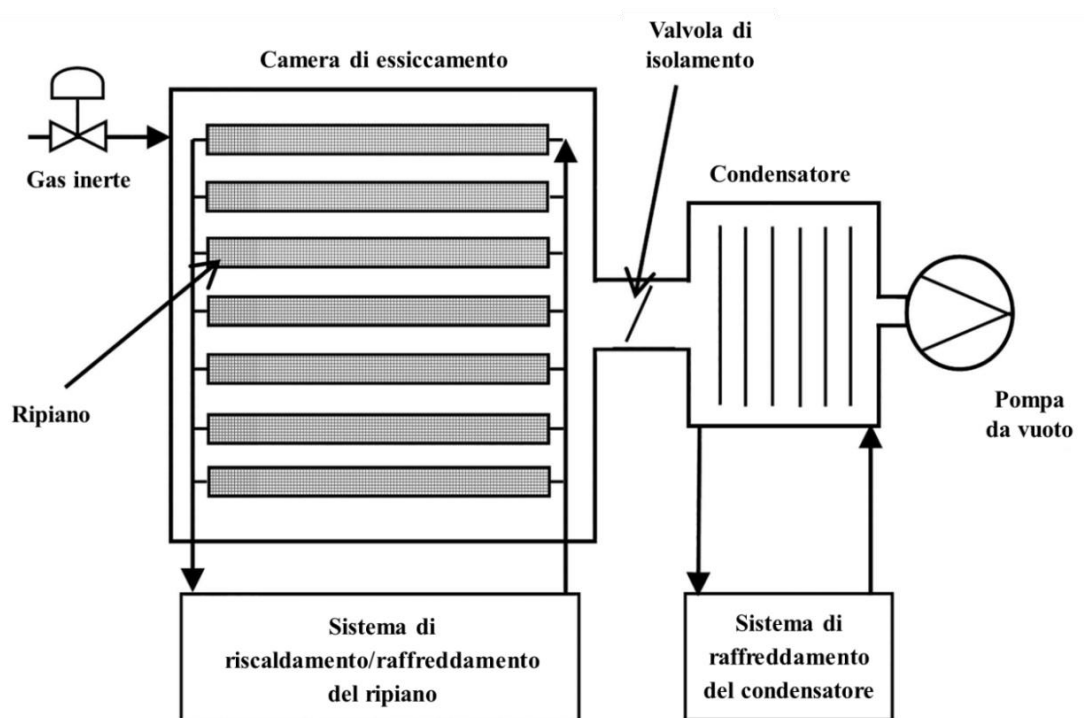
La liofilizzazione è un processo che consiste nella rimozione dell'acqua presente in un determinato prodotto, sfruttandone la trasformazione diretta da ghiaccio a vapore. Affinché tale passaggio di stato sia possibile, è necessario operare a basse temperature e sottovuoto.

Il principale campo di applicazione è l'industria farmaceutica (seguita dal settore alimentare): si è stimato che il 16% dei farmaci più comunemente venduti sia liofilizzato (Harguindeguy e Fissore, 2021). Uno dei principali vantaggi del processo è la possibilità di trattare sostanze termolabili: operando a basse pressioni e a basse temperature, la struttura e la funzionalità delle singole molecole non viene alterata. Molti principi attivi sono infatti altamente instabili in fase liquida: al termine della liofilizzazione essi sono immobilizzati in una fase solida porosa, pertanto le principali reazioni di degradazione sono drasticamente rallentate e la *shelf-life* è prolungata (Fissore, 2013). Inoltre, l'elevata superficie specifica della matrice porosa permette un'agevole reidratazione del prodotto.

I due principali svantaggi sono la durata e i costi, entrambi elevati, ma essi sono ampiamente compensati dall'ottima qualità del prodotto finale. Affinché la qualità sia garantita, però, è fondamentale individuare le condizioni operative più idonee. Di solito è necessario liofilizzare soluzioni acquose contenenti, oltre al principio attivo, uno o più eccipienti (Fissore, 2013):

- in caso di prodotti amorfi (es: saccarosio), durante l'essiccamento bisogna rimanere al di sotto della temperatura di transizione vetrosa del prodotto, in modo da evitare il collasso della struttura porosa;
- in caso di prodotti cristallini (es: mannitolo), bisogna rimanere al di sotto della temperatura eutettica, impedendo così la formazione di fasi liquide indesiderate.

In Figura 1.1 è rappresentata la schematizzazione di generico di un liofilizzatore *batch*.



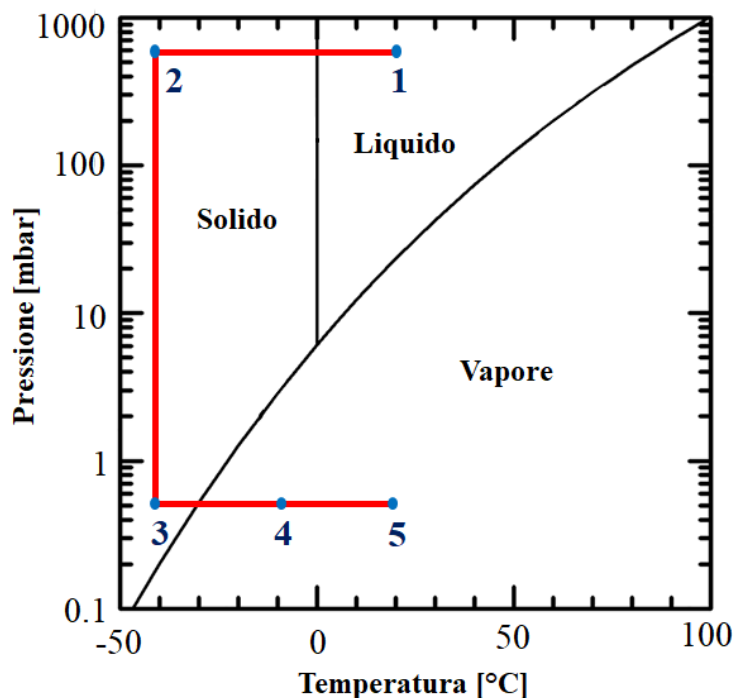
**Figura 1.1:** schema di un generico liofilizzatore *batch* (tratto da Fissore *et al.*, 2020a, con modifiche)

Indipendentemente dalle dimensioni, ogni liofilizzatore comprende (Fissore et al., 2020a):

- una camera di essiccamento, all'interno della quale sono presenti uno o più ripiani per collocare il prodotto;
- un sistema di riscaldamento/raffreddamento dei ripiani, la cui modalità di funzionamento dipende dalla fase in corso;
- un condensatore, associato al sistema di raffreddamento (tendenzialmente un impianto frigorifero ad uno o due stadi);
- una pompa da vuoto, opportunamente connessa al condensatore e indispensabile per raggiungere la pressione desiderata. Il mantenimento della pressione al suo valore di *setpoint* può essere garantito, inoltre, dall'introduzione di un'opportuna quantità di gas inerte in camera.

La camera e il condensatore sono connessi da un condotto nel quale viene collocata una valvola (a fungo o a farfalla), necessaria per isolare la camera di essiccamento. Il flusso di sublimazione deve essere compatibile con le caratteristiche del condotto e con la capacità del condensatore, al fine di evitare la presenza di flusso strozzato (Fissore et al., 2020a).

In Figura 1.2 è rappresentato il diagramma di stato dell'acqua e le trasformazioni fisiche che caratterizzano ogni ciclo di liofilizzazione (Fissore, 2013).



**Figura 1.2:** fasi del processo di liofilizzazione (tratto da Fissore et al., 2020a, con modifiche)

Nella fase 1→2, lasciando invariata la pressione, si diminuisce la temperatura del prodotto fino a raggiungere uno stato liquido sottoraffreddato metastabile: in questo modo, si permettono la nucleazione, l'accrescimento e, di conseguenza, il progressivo congelamento del liquido. Per raggiungere tale obiettivo si possono seguire profili termici diversi, in base alla specifica modalità di congelamento adottata.

Il passaggio dal punto 2 al punto 3 consiste nell'ottenimento del vuoto: senza modificare la temperatura (né del ripiano, né del prodotto), si riduce drasticamente la pressione in

camera, fino a raggiungere il grado di vuoto desiderato. Tendenzialmente si impostano pressioni all'incirca 10000 volte inferiori rispetto alla pressione atmosferica: è fondamentale, infatti, operare sufficientemente al di sotto del punto triplo.

La fase 3→4 corrisponde all'essiccamento primario: mantenendo il grado di vuoto raggiunto in precedenza, si aumenta la temperatura del ripiano fino al valore desiderato, permettendo così la progressiva sublimazione del ghiaccio. Si forma la cosiddetta "torta" (*cake*), ovvero una struttura solida porosa attraverso la quale il vapore può fuoriuscire. L'essiccamento primario è la fase di maggior durata, essendo la sublimazione un processo molto lento.

L'ultima fase (4→5) corrisponde all'essiccamento secondario: a parità di pressione in camera, si scalda ulteriormente il ripiano fino a raggiungere temperatura ambiente. In questo modo si permette il desorbimento dell'acqua legata e il raggiungimento dell'umidità residua desiderata.

## 1.2 Modalità di congelamento

Il congelamento del prodotto può essere ottenuto adottando tecniche diverse e profili termici differenti. Indipendentemente dalle specifiche modalità utilizzate, la fase di congelamento prevede 4 *step* (Geidobler e Winter, 2013):

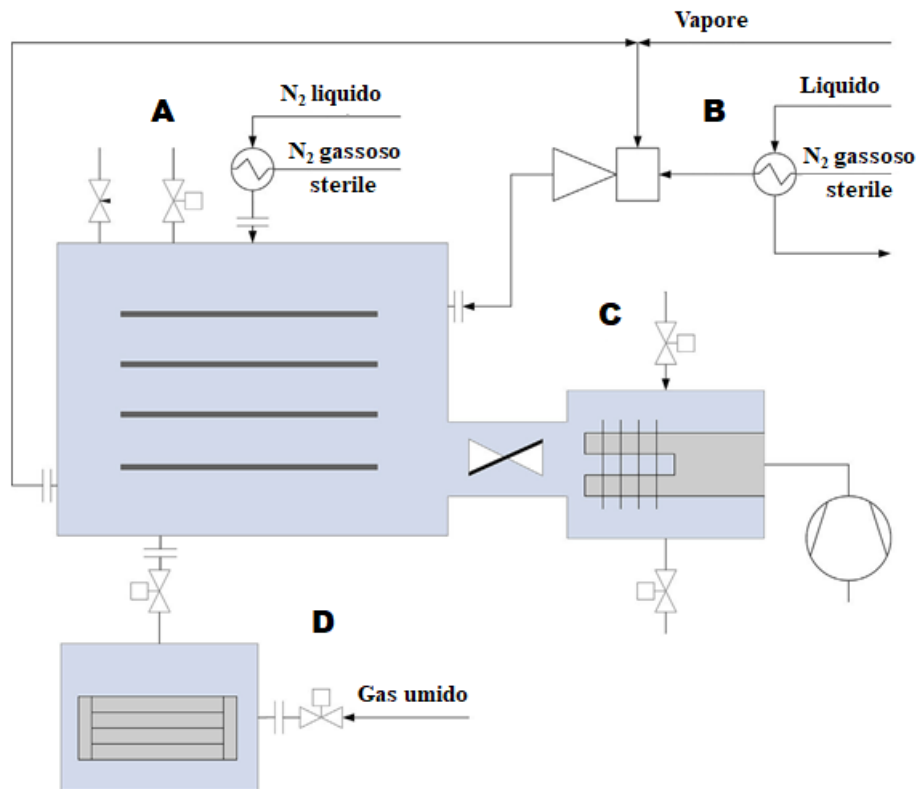
- raffreddamento della soluzione al di sotto della temperatura di equilibrio termodinamico;
- nucleazione primaria, in cui si ha la formazione di veri e propri "nuclei" di ghiaccio dalla fase acquosa;
- nucleazione secondaria, nella quale si ha formazione di altri nuclei di cristallizzazione;
- completamento del passaggio di stato, con un'ulteriore crescita dei cristalli di ghiaccio.

Le condizioni in cui questi *step* avvengono hanno ripercussioni sull'omogeneità del lotto, sulla dimensione dei cristalli, nonché sulla porosità dello strato secco e sulla resistenza al flusso di vapore acqueo. È pertanto necessario adottare tecniche che garantiscano il maggior controllo possibile sugli aspetti appena elencati: a tal proposito, una buona versatilità è ottenibile tramite nucleazione controllata ed *annealing*. Per completezza, le altre tecniche di nucleazione sono riepilogate e criticamente confrontate nella *review* del 2013 di Geidobler e Winter.

### 1.2.1 Nucleazione controllata con tecnica "Ice Fog"

Il metodo "Ice Fog" consiste nell'indurre la nucleazione mediante la cosiddetta "nebbia di ghiaccio", ovvero una sospensione di particelle di ghiaccio che vengono trasportate nei singoli flaconi, entrano in contatto con l'interfaccia del prodotto liquido e permettono l'inizio del passaggio di stato. Per raggiungere i vari flaconi, i cristalli di ghiaccio necessitano inevitabilmente di un certo tempo, più o meno lungo in base alla loro posizione nel lotto, alla dimensione del liofilizzatore e alla distribuzione della nebbia in camera (Ling, 2014).

In Figura 1.3 sono riepilogate le diverse modalità di ottenimento e utilizzo della "nebbia di ghiaccio" (Geidobler e Winter, 2013).



**Figura 1.3:** riepilogo delle modalità per ottenere la “nebbia di ghiaccio” (tratto da Geidobler e Winter, 2013, con modifiche).

Nel metodo A, una corrente di azoto gassoso sterile in lieve sovrappressione attraversa una serpentina immersa in azoto liquido, raggiungendo temperature inferiori a  $-40^{\circ}\text{C}$ . Il gas giunge in camera ed entra in contatto con il vapore acqueo già presente in essa: si ottiene così la sospensione di cristalli di ghiaccio. Il principale svantaggio di questo approccio consiste nella difficoltà di ottenere una distribuzione omogenea della nebbia: i risultati migliorano (seppur in modo non del tutto soddisfacente) immettendo l’azoto tramite tubi circolari opportunamente forati. Una scarsa distribuzione della nebbia implica anche un’elevata durata della fase di nucleazione stessa: a tal proposito, è possibile ridurre ulteriormente la temperatura dell’azoto in ingresso, ad esempio accorciando la tubazione e riducendo le dissipazioni termiche (Rambhatla *et al.*, 2004). A livello economico, la necessità di raffreddare adeguatamente l’azoto rende tale soluzione onerosa.

Nel metodo B, una corrente di azoto gassoso freddo viene miscelata intimamente con vapore sterile in un eiettore: la miscela viene inviata in camera e si forma la nebbia. Tale corrente viene poi rimossa dalla camera, mischiata con vapore e reintrodotta nell’eiettore. A differenza del metodo precedente, si ha una circolazione più efficace e una miglior regolazione della densità della nebbia: si può infatti variare di volta in volta il quantitativo di vapore acqueo immesso nell’eiettore, senza dover dipendere dalla quantità di vapore presente in camera all’inizio. Come per il metodo A, anche in questo caso i costi di raffreddamento sono particolarmente elevati.

Nel metodo C (Geidobler e Winter, 2013), la camera viene depressurizzata fino a raggiungere all’incirca 2.8 Torr (Geidobler *et al.*, 2012) e immediatamente riportata a pressione atmosferica tramite la valvola di sfiato del condensatore: la differenza di pressione “spinge” i cristalli di ghiaccio in camera, inducendo di fatto la nucleazione nei flaconi. Qualora la quantità di vapore acqueo già presente nel sistema non sia sufficiente, è possibile



introdurre aria umida (ovviamente priva di contaminanti) nel condensatore oppure inserire in camera vassoi con un sottile strato di acqua. Come si nota dalla Figura 1.3, con questo metodo non è necessario apportare modifiche all'apparecchiatura. Allo stesso tempo, però, per la buona riuscita della nucleazione, il controllo della pressione dev'essere estremamente preciso (Geidobler *et al.*, 2012).

Il metodo D consiste nella preformazione della nebbia all'interno del condensatore e nel rilascio di essa in camera di essiccamento, in seguito alla differenza di pressione tra i due ambienti. Si possono individuare i seguenti 4 step (Ling, 2014) :

- si raffredda il ripiano in modo da portare il prodotto alla temperatura di nucleazione desiderata (es:  $-3^{\circ}\text{C}$ ,  $-5^{\circ}\text{C}$ ,  $-7^{\circ}\text{C}$ ). Più precisamente, il prodotto dev'essere mantenuto in uno stato sottoraffreddato metastabile;
- mantenendo la valvola di isolamento aperta, si accende la pompa da vuoto con l'obiettivo di raggiungere una pressione ancora al di sopra della tensione di vapore dell'acqua alla temperatura del prodotto. Un *setpoint* ragionevole è 50 mTorr;
- si chiude la valvola di isolamento e si fa aumentare la pressione all'interno del condensatore inviando gas opportunamente trattato. In questa fase è fondamentale introdurre nel condensatore l'umidità necessaria alla formazione della "nebbia di ghiaccio". A tal scopo, si possono seguire due differenti vie: il gas per la regolazione della pressione può contenere un determinato livello di umidità oppure si può prelevare acqua tramite una pompa e atomizzarla direttamente nel condensatore.
- si apre la valvola di isolamento: i cristalli di ghiaccio, spinti dalla differenza di pressione tra condensatore e camera, raggiungono rapidamente e istantaneamente la camera stessa, per poi depositarsi nei singoli flaconi e avviare il processo di nucleazione.

Si può utilizzare un condensatore esterno (come in Figura 1.3) oppure quello facente parte del liofilizzatore vero e proprio. Indipendentemente dall'opzione scelta, si cerca di massimizzare la superficie del condensatore in modo da ottenere la maggior quantità di ghiaccio possibile sulle sue pareti: l'improvviso cambiamento di pressione genera una turbolenza tale da rimuovere il ghiaccio adeso alle superfici stesse. Con queste accortezze, è pertanto possibile utilizzare condensatori di volume minore, a parità di nebbia prodotta (Ling, 2014).

Il metodo D è più economico rispetto ad A e B e, grazie alla preformazione della nebbia e al rapido rilascio in camera, è in grado di garantire una miglior omogeneità del lotto e durate inferiori della fase di nucleazione (Geidobler e Winter, 2013).

### 1.2.2 *Annealing*

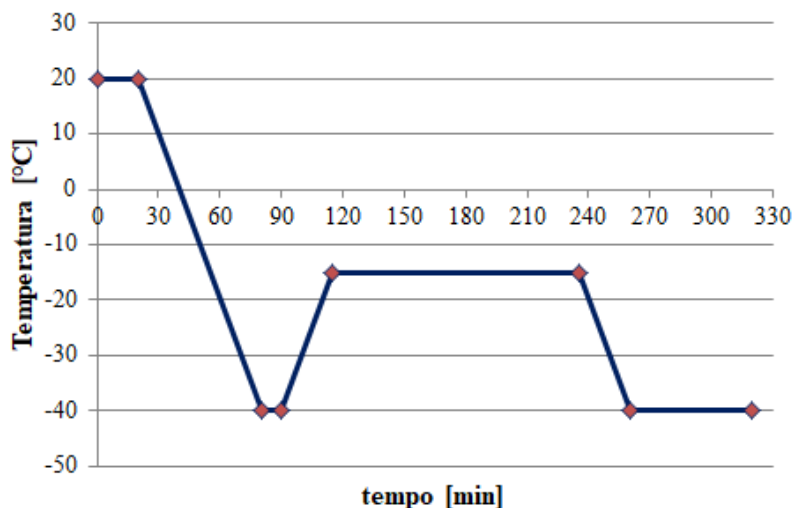
L'*annealing* è una procedura che consiste nel mantenere il ripiano (e quindi i flaconi) per un certo tempo ad una determinata temperatura al di sopra del valore critico. Tale tecnica permette di modificare e rendere più uniforme la distribuzione dimensionale dei cristalli di ghiaccio formati in seguito alla nucleazione (Fissore, 2013).

La disomogeneità in un liofilizzatore *batch* è dovuta a disuniformità di temperatura nei vari flaconi, alla presenza di impurità in essi e alla loro posizione nel liofilizzatore (Searles J.A *et al.*, 2001), con conseguente disuniformità dei tempi di congelamento: alcuni flaconi completano il congelamento prima di altri, determinando così una variabilità indesiderata nel lotto (Ling, 2014).

La differenza tra temperatura di congelamento all'equilibrio termodinamico e temperatura di nucleazione costituisce il grado di sottoraffreddamento. Maggiore è il grado di sottoraffreddamento, maggiore è il calore di cristallizzazione assorbito dalla soluzione, maggiore sarà la quantità di acqua che congela in un determinato intervallo di tempo. Inoltre, una temperatura di nucleazione più bassa implica un ripiano più freddo, quindi una maggior forza spingente per la rimozione di calore. Le condizioni appena descritte determinano la formazione di tanti cristalli di piccole dimensioni. Allo stesso tempo, un minor grado di sottoraffreddamento (temperature di nucleazione maggiori) implica la generazione di pochi cristalli di grandi dimensioni (Geidobler e Winter, 2013).

Durante l'*annealing* avviene la cosiddetta "maturazione di Ostwald" o "ricristallizzazione" (Searles J.A *et al.*, 2001). Essendo la temperatura di *annealing* maggiore rispetto alla temperatura di transizione vetrosa, il ghiaccio può sciogliersi. In generale, i cristalli più piccoli si sciolgono con maggior velocità rispetto a quelli più grandi. Nello specifico, i cristalli la cui dimensione è minore rispetto ad una specifica soglia critica diventano sempre più piccoli (fino anche a scomparire), man mano che l'acqua migra verso i più grandi; allo stesso tempo, per i cristalli al di sopra della dimensione critica continua la fase di accrescimento.

In Figura 1.4 è riportato un tipico profilo termico della fase di *annealing*, ottenuto utilizzando le condizioni operative dello studio sperimentale di Fissore *et al.* (2020).



**Figura 1.4:** tipico profilo termico della fase di *annealing* (dati tratti da Fissore *et al.*, 2020b)

Come evidenziato da Searles *et al.* (2001):

- nella fase in cui la temperatura aumenta (per raggiungere la temperatura di *annealing*), la fusione dei cristalli di ghiaccio più piccoli comporta la loro rimozione dalla distribuzione dimensionale;
- nella fase in cui la temperatura diminuisce (ri-raffreddamento), non si riformano cristalli piccoli: i cristalli più grandi (formati in precedenza) fungono da centri di nucleazione per un'ulteriore cristallizzazione.

Nello studio di Searles *et al.* (2001) è emerso che, in assenza di *annealing*, la durata dell'essiccamento primario aumenta all'aumentare della temperatura di nucleazione, con un andamento tendenzialmente lineare. Allo stesso tempo si è evidenziato che, in seguito all'*annealing*, la velocità dell'essiccamento primario aumenta, è indipendente dalla

temperatura di nucleazione e il coefficiente di variazione di tale velocità (inteso come rapporto tra deviazione standard e valor medio) si riduce. Per confermare ulteriormente i risultati ottenuti, sono stati analizzati anche flaconi congelati mediante immersione in azoto liquido: in tali condizioni, infatti, la nucleazione avviene in maniera più uniforme ed è pertanto possibile quantificare meglio gli effetti del solo *annealing* sull'omogeneità.

I vantaggi sull'uniformità e sulla durata dell'essiccamento primario sono stati confermati anche da altri studi, come ad esempio quello già citato di Fissore *et al.* (2020).

I fenomeni appena descritti implicano cambiamenti morfologici nel prodotto (Searles *et al.*, 2001). Essi possono essere studiati analizzando al SEM i pori dello strato secco (occupati, nella fase di congelamento, dai cristalli di ghiaccio). È stato osservato che, partendo da cristalli lamellari con un rapporto superficie-volume elevato, in seguito all'*annealing* si ottengono forme pseudo-cilindriche e globulari, con una riduzione dell'area interfacciale. Tali cambiamenti possono facilitare un'eventuale separazione tra le fasi e un'eventuale degradazione del prodotto all'interfaccia (Rambhatla *et al.*, 2004): l'esecuzione dell'*annealing* deve pertanto essere preceduta da opportuni test per individuare le giuste condizioni operative e garantire la miglior qualità possibile del prodotto finale.

### 1.3 Durata dell'essiccamento primario

Determinare la durata dell'essiccamento primario è di fondamentale importanza per il buon esito dell'intero processo: bisogna infatti garantire la completa rimozione del ghiaccio e accertarsi che il contenuto di acqua residua sia sufficientemente basso da non causare collasso nell'essiccamento secondario (Patel *et al.*, 2010).

Uno dei metodi maggiormente adottati per il calcolo della durata consiste nel confrontare la pressione misurata dalla sonda Pirani con quella ottenuta dal manometro capacitivo Baratron®. Mentre il Baratron® misura la pressione effettiva della camera di essiccamento, la misura ottenuta col sensore Pirani è influenzata dalla composizione del gas in essa presente (Patel *et al.*, 2010):

- all'inizio si ha unicamente azoto, nonché gas di riferimento del sensore;
- durante l'essiccamento primario, il flusso molare di vapore acqueo è molto più elevato della portata di azoto necessaria per il controllo della pressione. In questa fase, quindi, il gas in camera è costituito quasi totalmente da vapore acqueo: siccome la sua conducibilità termica è all'incirca 1.6 volte quella dell'azoto, il sensore Pirani sovrastima la pressione effettiva di circa 1.6 volte;
- verso la fine dell'essiccamento primario, la composizione del gas cambia (si impoverisce di vapore e si arricchisce di azoto) e il rapporto Pirani/Baratron® decresce fino a tendere asintoticamente ad 1.

Per determinare la fine vera e propria si possono ricavare graficamente i punti di *onset* (inizio della decrescita), *offset* (fine della decrescita) e *middle point* (punto intermedio tra i due precedenti): lo studio di Patel *et al.* (2010) definisce il *middle point* come criterio più efficace per individuare la fine dell'essiccamento primario. La forma della curva e le differenze tra questi tempi caratteristici sono indice dell'uniformità del lotto (Harguindeguy e Fissore, 2021): un repentino cambio di pendenza implica un essiccamento uniforme in tutto il lotto; un lento cambio di pendenza è associato ad una certa disomogeneità nella sublimazione (una grande variabilità da flacone a flacone).

Un'altra tecnica utile è la TDLAS (Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy): essa permette di misurare direttamente la concentrazione di vapore acqueo nel condotto che unisce

il condensatore e la camera di essiccamento. Una ripida e consistente decrescita della concentrazione (*onset*) indica un cambiamento di composizione: in tali condizioni si può infatti affermare che la sublimazione sia quasi giunta al termine (Patel *et al.*, 2010). Si tratta però di una tecnica molto costosa, applicabile solo in presenza di un condensatore esterno e di un numero di flaconi tale da generare un flusso di vapore sufficiente ad avere misurazioni accurate (Ling, 2013).

Un ulteriore approccio è dato dal PRT (*Pressure Rise Test*): durante l'essiccamento primario, la valvola di isolamento viene chiusa per un breve lasso di tempo (ad esempio, 25 secondi), causando un aumento di pressione in camera dovuto all'accumulo di vapore. Si può pertanto misurare la temperatura del prodotto e la tensione di vapore all'interfaccia di sublimazione: alla fine dell'essiccamento, quest'ultima sarà praticamente coincidente con la pressione in camera. Siccome il lasso di tempo in esame è breve, la valvola deve essere in grado di chiudersi e aprirsi molto velocemente (Patel *et al.*, 2010); inoltre, nella seconda parte del ciclo le misure sono poco accurate (Ling, 2013).

Nello studio di Patel *et al.* (2010) sono riportate altre modalità di determinazione della durata e ulteriori confronti tra esse, riconoscendo nel confronto tra Pirani e Baratron® il metodo più conveniente.

#### 1.4 Modelli matematici

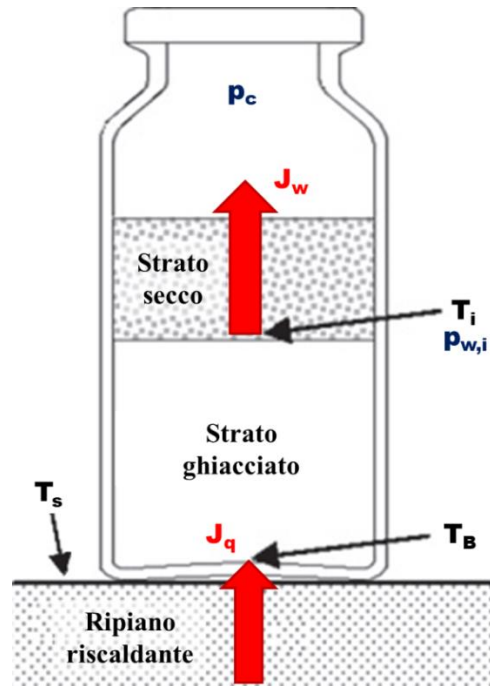
Per descrivere l'essiccamento primario sono stati inizialmente proposti alcuni modelli multidimensionali che prendono in considerazione i gradienti radiali di temperatura e di composizione. In linea di principio, tali modelli possono fornire una descrizione estremamente precisa del processo, ma presentano importanti svantaggi: la risoluzione delle equazioni avviene in tempi lunghi e richiede la conoscenza di molti parametri, spesso ignoti oppure stimabili con grande incertezza (Fissore *et al.*, 2020a).

Da un'accurata analisi dei vari modelli multidimensionali nelle usuali condizioni di liofilizzazione, si è constatato che:

- la curvatura dell'interfaccia di sublimazione è molto limitata;
- i gradienti radiali di temperatura sono generalmente trascurabili (la differenza tra le temperature misurate sul fondo del flacone - al centro e al bordo - rientra nell'incertezza di misura delle termocoppie).

Alla luce di ciò, si è cercato di descrivere la dinamica del processo di liofilizzazione attraverso modelli monodimensionali, inevitabilmente più semplici da utilizzare. Ne sono stati formulati tanti in passato (Velardi e Barresi, 2008), ma nessuno era in grado di descrivere in modo accurato i fenomeni di scambio termico. Nel 2007, Velardi & Barresi hanno elaborato un modello monodimensionale dettagliato, considerando i bilanci di materia ed energia nello strato secco e all'interfaccia di sublimazione, nonché i bilanci di energia nello strato ghiacciato e lungo la parete del flacone in vetro. Tale modello, però, è efficace nell'ottimizzazione off-line, a causa dell'elevato numero di equazioni e di fenomeni considerati. Partendo da esso e sfruttando la dinamica lenta del processo, Velardi e Barresi hanno sviluppato un modello semplificato in condizioni di pseudo-stazionarietà: in esso, il bilancio di energia alla parete del flacone non è stato considerato. Tramite un'opportuna serie di prove sperimentali, si è osservato che il modello semplificato fornisce risultati molto simili a quello dettagliato quando viene applicato per simulare la dinamica dei flaconi centrali del lotto (escludendo, dunque, gli effetti di bordo).

In Figura 1.5 è possibile osservare la schematizzazione di un generico flacone durante la fase di essiccamento primario.



**Figura 1.5:** schematizzazione di un generico flacone (tratto da Fissore, 2013, con modifiche)

In ogni flacone, il prodotto riceve calore dal fluido che scorre nel ripiano. Il flusso termico  $J_q$  è direttamente proporzionale alla differenza tra la temperatura del fluido  $T_s$  e quella del prodotto sul fondo del flacone  $T_B$ . Il coefficiente di proporzionalità è  $K_V$ , nonché coefficiente globale di scambio termico tra il prodotto (sul fondo del flacone) e il fluido riscaldante.

$$J_q = K_V(T_s - T_B) \quad (1.1)$$

La sublimazione avviene all'interfaccia tra lo strato secco e lo stato ghiacciato. Nello specifico, il flusso di sublimazione  $J_w$  è considerato proporzionale alla differenza tra pressione parziale di vapore acqueo all'interfaccia  $p_0$  e in camera  $p_{w,c}$ :

$$J_w = \frac{1}{R_p}(p_0 - p_{w,c}) \quad (1.2)$$

$p_0$  è calcolabile tramite apposite relazioni ed è funzione della temperatura all'interfaccia di sublimazione  $T_i$ . Durante l'essiccamento primario, la pressione parziale di vapore acqueo  $p_{w,c}$  può essere considerata pari alla pressione totale  $p_c$ .  $R_p$  rappresenta la resistenza complessiva al flusso di vapore acqueo.

La relazione che lega il flusso termico  $J_q$  e il flusso di sublimazione  $J_w$  è il bilancio di energia all'interfaccia di sublimazione:

$$J_q = \Delta H_s J_w \quad (1.3)$$

Alle equazioni appena introdotte, se ne aggiungono altre due: il bilancio di materia (1.4) e il bilancio di energia (1.5) nello strato ghiacciato.

$$\frac{dL_f}{dt} = -\frac{1}{\rho_f - \rho_d} J_w \quad (1.4)$$

$$T_B = T_S - \frac{1}{K_V} \left( \frac{1}{K_V} + \frac{L_f}{\lambda_f} \right)^{-1} (T_S - T_i) \quad (1.5)$$

Sfruttando il modello matematico appena descritto, è possibile studiare il cosiddetto “*design space*”: esso consiste nella combinazione di variabili in input e parametri di processo in grado di garantire la qualità desiderata (Fissore, 2013). Nello specifico:

- si scelgono un valore di pressione in camera  $p_c$  e una temperatura del fluido  $T_S$ ;
- si effettua la simulazione della fase di essiccamento primario, mediante la risoluzione numerica del sistema di equazioni precedenti;
- una volta ottenuti i profili “teorici” di  $T_B$  e  $J_w$  in funzione del tempo, si determina la massima temperatura raggiunta dal prodotto e il massimo flusso di sublimazione;
- si confrontano i valori limite appena ottenuti con le specifiche imposte dal processo in esame: come spiegato in precedenza, il prodotto deve essere infatti mantenuto al di sotto di una temperatura critica (per garantirne la qualità) e il flusso di sublimazione deve essere compatibile con le caratteristiche costruttive del liofilizzatore utilizzato;
- si ripete la stessa procedura impostando pressioni e temperature diverse, in modo da individuare tutte le combinazioni che soddisfano i requisiti richiesti.

Di solito l’essiccamento nei flaconi laterali avviene a temperature maggiori di quelli centrali, pertanto è più facile superare le soglie critiche: conviene dunque individuare i parametri di processo ottimali riferendosi, cautelativamente, ai flaconi periferici (Goldman *et al.*, 2019).

Siccome lo spessore dello strato secco e la resistenza al flusso di vapore cambiano durante il processo, anche il *design space* varia nel tempo (Fissore, 2013): alla luce di questa continua evoluzione, la modellazione matematica del processo si rivela estremamente importante.

#### 1.4.1 Coefficiente di scambio termico $K_V$

Durante la fase di essiccamento primario coesistono vari fenomeni di scambio termico (Pisano *et al.*, 2013):

- la conduzione di calore dal ripiano al vetro del flacone nei punti di contatto;
- la conduzione attraverso il gas che circonda il flacone (sia sotto sia lateralmente);
- l’irraggiamento dovuto al ripiano su cui giace il prodotto, all’ulteriore ripiano eventualmente posto in alto e alle pareti della camera.

Qualora siano presenti vassoi aggiuntivi, bisogna tener conto anche del trasporto di calore ripiano-vassoio e vassoio-flaconi.

Gli studi presenti in letteratura concordano nel considerare trascurabile la dipendenza di  $K_V$  dalla temperatura del gas. Allo stesso tempo, però,  $K_V$  dipende in modo significativo dalla pressione in camera: una maggior pressione implica, a parità di volume, una maggior concentrazione di molecole di gas e, di conseguenza, un trasporto di calore più efficiente. Il legame tra il coefficiente di scambio termico effettivo e la pressione è descritto dalla seguente relazione:

$$K_V = C_1 + \frac{C_2 p_c}{1 + C_3 p_c} \quad (1.6)$$

Il parametro  $C_1$ , essendo associato all’irraggiamento, tiene conto della posizione del flacone nel lotto;  $C_2$  e  $C_3$ , invece, possono essere considerati costanti in tutto il batch, dal

momento che descrivono l'effetto della pressione in camera (Fissore, 2013; Pisano *et al.*, 2013).

Siccome il calcolo teorico di tali parametri (Pisano *et al.*, 2013) e dei singoli contributi è estremamente complesso, il coefficiente  $K_V$  viene ottenuto mediante apposite prove sperimentali (Fissore, 2013). Si possono utilizzare, ad esempio, le tecniche TDLAS e PRT introdotte precedentemente: esse, però, consentono di ricavare un unico  $K_V$  medio valido per tutti i flaconi, indipendentemente dalla loro posizione. Tale valore rispecchia quello dei flaconi centrali, ma non quello dei laterali: per questi ultimi si può incrementare il valor medio di un opportuno margine di sicurezza. Per tener conto di tali differenze è possibile ricorrere ai test gravimetrici: si sceglie dove posizionare le termocoppie, si imposta una durata della fase di sublimazione e, sfruttando la variazione di peso, si risale al calore di sublimazione per poi calcolare  $K_V$ . Come evidenziato da Fissore *et al.* (2017), prima di qualsiasi rielaborazione dei dati, bisogna avere l'accortezza di modificare opportunamente i profili di temperatura: per buona parte dell'essiccamento primario essa rimane costante (essendo in corso la sublimazione), ma da un certo punto si ha un improvviso aumento di temperatura, dovuto a vari possibili fattori (perdita di contatto della termocoppia col fondo del flacone, spostamento del fronte di sublimazione al di sotto del sensore o cessazione dell'essiccamento nel flacone in esame). Per ovviare a questi inconvenienti, è sufficiente prolungare l'asintoto orizzontale della prima parte fino alla fine dell'essiccamento primario.

Il valore di  $K_V$  è fortemente influenzato anche dal tipo di flacone utilizzato. A seconda della specifica tipologia, infatti, il fondo presenta una curvatura differente: questo influisce sulla quantità di gas compreso tra fondo del flacone e ripiano, nonché sulla conducibilità termica del gas stesso. Il coefficiente di scambio termico, però, non è correlato al prodotto in esame, pertanto può essere ottenuto utilizzando solamente acqua (Fissore *et al.*, 2020b). Nonostante  $K_V$  dipenda principalmente dalla pressione, esso è inoltre influenzato dai fluidi riscaldanti/raffreddanti coinvolti, dalle loro portate e dalle finiture superficiali del ripiano (Thompson e Fissore, 2019): la determinazione sperimentale di  $K_V$  è pertanto fondamentale.

Un importante aiuto nella comprensione dei fenomeni di scambio termico può essere anche fornito da simulazioni 3D con appositi software. Nello studio di Scutellà *et al.* (2017) è stato ottenuto un modello in grado di considerare i singoli fenomeni coinvolti: si è osservato qualitativamente e quantitativamente, ad esempio, che il flusso termico da ripiano a prodotto non è influenzato dalla posizione del flacone e che la conduzione attraverso il gas è più intensa nello strato periferico (in seguito al minor impaccamento dei flaconi stessi). Strumenti di questo tipo sono estremamente promettenti per ulteriori sviluppi futuri.

#### 1.4.2 Resistenza al flusso di vapore $R_p$

Quando il ghiaccio sublima, il vapore acqueo deve attraversare il *cake* poroso, raggiungere l'interfaccia di sublimazione, abbandonare lo strato secco e fuoriuscire dal flacone. Come accennato in precedenza, le condizioni di congelamento sono di estrema importanza, in quanto responsabili del numero e della grandezza dei cristalli, nonché della porosità della matrice (Geidobler e Winter, 2013). Utilizzando eccipienti di varia natura, è stato infatti sistematicamente dimostrato che la resistenza al flusso di vapore aumenta al diminuire della temperatura di nucleazione (Rambhatla *et al.*, 2004). Inoltre, al fine di evitare degradazione, ogni prodotto ha una specifica temperatura limite dalla quale mantenere un'opportuna distanza (Fissore e Pisano, 2015).

Una volta determinate le condizioni di congelamento e il prodotto in esame, la resistenza al flusso di vapore  $R_p$  dipende unicamente dallo spessore dello strato secco  $L_d$  (Fissore, 2013). La relazione che lega  $R_p$  a tale spessore è descritta dalla seguente espressione:

$$R_p = R_{p,0} + \frac{AL_d}{1 + BL_d} \quad (1.7)$$

Come nel caso di  $K_V$ , i coefficienti  $R_{p,0}$ ,  $A$  e  $B$  vengono determinati in modo da garantire il miglior accordo tra valori misurati e calcolati, utilizzando ad esempio il metodo dei minimi quadrati.

È stata inoltre riscontrata una dipendenza di  $R_p$  dalla concentrazione della soluzione acquosa: prodotti più concentrati manifestano infatti una maggior resistenza al flusso di vapore, essendo la porosità dello strato secco minore (Fissore *et al.*, 2019).

La resistenza  $R_p$  viene calcolata tramite opportune prove sperimentali (Fissore, 2013): a partire dal  $K_V$  ottenuto in precedenza, si possono utilizzare nuovamente il TDLAS e il PRT, oppure sfruttare direttamente i profili di temperatura del prodotto. L'incertezza di cui è affetto  $K_V$  può però rendere la stima di  $R_p$  meno attendibile: si è pertanto cercato di ottenere informazioni sulla resistenza al flusso di vapore sfruttando approcci diversi. A tal proposito:

- in Rambhatla *et al.*, (2004) è stato esplicitato un valor medio di  $R_p$  direttamente correlabile alla superficie specifica SSA dello strato secco. Il vantaggio consiste nel fatto che tale grandezza, inversamente proporzionale al raggio dei pori, è direttamente misurabile tramite l'analizzatore BET;
- essendo il flusso di sublimazione nello strato secco dovuto alla diffusione di Knudsen (flusso molecolare libero), Fissore e Pisano (2015) hanno sviluppato una derivazione teorica dei parametri presenti nell'equazione (1.7). Si è inoltre giunti all'espressione (1.8), tramite la quale è possibile visualizzare esplicitamente la correlazione tra raggio medio dei pori  $r_e$ , tortuosità  $\tau$  e spessore dello strato secco:

$$\frac{r_e}{\tau} = a_0 + a_1 L_d \quad (1.8)$$

Al crescere di  $r_e$  e al decrescere di  $\tau$  si ha un aumento della resistenza  $R_p$ . Anche in questo caso,  $a_0$  e  $a_1$  sono ottenuti mediante minimizzazione degli errori tra valori misurati e calcolati.

Come constatato in vari studi (Rambhatla *et al.*, 2004; Searles J.A *et al.*, 2001; Fissore e Pisano, 2015), qualora la massima temperatura raggiunta sia leggermente al di sopra del valore limite, si può osservare il fenomeno del "micro-collasso". Purché abbia entità contenuta, esso causa un lieve aumento del raggio medio dei pori e una riduzione della tortuosità, implicando dunque una diminuzione di  $R_p$ .

La superficie specifica (strettamente connessa alla resistenza  $R_p$ ) è di estrema importanza anche per l'essiccamento secondario: indipendentemente dalla natura del prodotto (amorfo o cristallino), si è osservato che la sua cinetica non è significativamente influenzata dallo spessore dello strato secco o dalla pressione, bensì dalla superficie specifica (Fissore, 2013).

### 1.5 Liofilizzatori su scala ridotta

Per studiare al meglio il processo, può essere utile lavorare su apparecchiature in scala ridotta. I vantaggi sono molteplici: si riducono i tempi necessari per la preparazione del *batch*



(dal riempimento dei flaconi alle fasi di carico/scarico) e si minimizza la quantità di principio attivo destinato alla messa a punto delle condizioni operative ottimali (Fissore *et al.*, 2019).

Come riepilogato da Thompson e Fissore (2019), lo scambio termico in un liofilizzatore *batch* non avviene in modo uniforme: i flaconi al bordo, a differenza di quelli centrali, presentano un ridotto scambio termico con i flaconi adiacenti e, allo stesso tempo, risentono dell'irraggiamento dovuto alla parete della camera. Mentre in un liofilizzatore industriale la frazione di flaconi periferici è limitata, su piccola scala il suo impatto è decisamente maggiore.

In letteratura (Fissore *et al.*, 2020b) sono stati proposti alcuni prototipi di liofilizzatori su piccola scala dotati di pareti aggiuntive delle quali era possibile modificare la temperatura. Siccome, in tali prototipi, esse agiscono solo sul calore trasferito mediante irraggiamento e non tramite conduzione nel gas, i risultati non soddisfano completamente le aspettative.

Un significativo sviluppo nello *scale-down* del processo è stato ed è tuttora possibile utilizzando il MicroFD, prodotto dalla Millrock Technology (Thompson e Fissore, 2019). Si tratta di un liofilizzatore su scala di laboratorio in cui è presente un anello di alluminio (LyoSim®) a diretto contatto con lo strato esterno di flaconi. Le dimensioni dell'anello sono modificabili in base alle necessità: è possibile infatti operare con lotti di 7 o 19 flaconi. La temperatura del LyoSim® viene regolata in base a quella del prodotto (intesa come temperatura di un singolo flacone, oppure come media tra più flaconi in posizioni specifiche) o a quella del ripiano. A tal proposito, si definisce “*offset*” la differenza tra la temperatura dell'anello e quella del prodotto/ripiano:

- valori negativi di *offset* compensano il calore aggiuntivo dovuto all'effetto di bordo e permettono di simulare la dinamica dei flaconi centrali;
- valori positivi di *offset* implicano una quantità addizionale di calore fornita ai flaconi, simulando la dinamica di quelli periferici.

Nel MicroFD è inoltre presente AccuFlux® (Thompson e Fissore, 2019), una sottile termopila adesa al ripiano e in grado di misurare il flusso termico tra il fondo dei flaconi e il ripiano stesso. Questo dispositivo permette un monitoraggio del processo in linea e consente di calcolare istante per istante il coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto (solo il contributo riferito al fondo del flacone). Inoltre, tale sensore è facilmente installabile e non è invasivo, pertanto non influenza la nucleazione e il successivo accrescimento (Ling, 2013).

Sono stati condotti molteplici studi sul MicroFD (Goldman *et al.*, 2019; Fissore *et al.*, 2019 e Fissore *et al.*, 2020b), indagando condizioni operative diverse e confrontando i risultati con liofilizzatori da laboratorio su scala pilota (REVO, LyoStar II e LyoStar III). Si è confermato sperimentalmente che per *offset* via via decrescenti (da -1°C a -5°C) si ha una migliore omogeneità del *batch*, sia in termini di  $K_V$ , sia per quanto concerne i profili di temperatura.

Si è però constatato che, per *offset* ancora minori (es: -7°C), il raffreddamento indotto dall'anello prevale, implicando una minor sublimazione nei flaconi periferici rispetto a quelli centrali (Fissore *et al.*, 2019). Sempre al bordo, nell'analisi di Goldman *et al.* (2019) sono emerse anomalie conducendo prove a pressioni più elevate (es: 250 mTorr): in tali condizioni, la conduzione di calore via gas diventa predominante e l'*offset* deve essere ridotto per compensarla. Alla luce di ciò, si comprende quindi che il MicroFD è uno strumento estremamente utile per lo *scale-down* del processo; allo stesso tempo, però, è necessario svolgere ulteriori studi per comprendere pienamente le potenzialità e i limiti del sistema.

## 1.6 Scopo e struttura della Tesi

Affinché gli elevati standard qualitativi dei prodotti liofilizzati siano sempre garantiti, è indispensabile investire ingenti risorse nell'individuazione delle condizioni operative ottimali. Per massimizzare i risultati e minimizzare le perdite senza inficiare la qualità, è necessario calibrare opportunamente la durata del processo, le temperature e le pressioni operative, in modo da garantire un'adeguata diffusività effettiva del vapore acqueo attraverso lo strato secco e che la temperatura del prodotto resti al di sotto del valore limite specifico per il prodotto in esame. Per far ciò, è fondamentale conoscere in modo approfondito gli effetti delle condizioni operative sul prodotto finale; allo stesso tempo, è indispensabile soffermarsi sulle caratteristiche delle apparecchiature utilizzate, sia in termini di potenzialità che di limitazioni. Gli scopi della presente Tesi si collocano nel contesto appena descritto. Più precisamente:

- nella prima parte di tesi l'obiettivo consiste nel valutare l'effetto di differenti modalità di congelamento sulla durata dell'essiccamento primario, sull'omogeneità del lotto e sulla diffusività effettiva. A tal proposito, si è deciso di soffermarsi particolarmente sulle tecniche di *annealing* e di nucleazione controllata "*IceFog*" a diverse temperature. Essendo la maggior parte delle prove condotta nel MicroFD, in questa fase l'obiettivo principale è approfondire i principi e gli effetti delle singole modalità di congelamento, a parità di apparecchiatura, condizioni al contorno e metodologie di calcolo. Per completezza, però, si intende tener conto delle problematiche di *scale-up* tramite un'apposita prova, eseguita adottando la stessa modalità di congelamento nel MicroFD e nel REVO;
- la seconda parte della Tesi è incentrata sull'approfondimento dei fenomeni di scambio termico. Attraverso l'esecuzione di appositi test gravimetrici, si desidera innanzitutto quantificare e confrontare criticamente tra loro i flussi termici presenti nel MicroFD: una miglior consapevolezza di ciò può infatti permettere un'utilizzo più efficiente e mirato del macchinario. Un ulteriore obiettivo consiste nella messa a punto di una nuova metodologia per calcolare il coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$  nel MicroFD e poter utilizzare tale valore in apparecchiature su scala maggiore. Tenendo conto delle nuove informazioni acquisite, si desidera infine approfondire ulteriormente il confronto tra MicroFD e REVO avviato nella prima parte.

Nel Capitolo 2 verranno descritte le apparecchiature utilizzate, le procedure sperimentali e le metodologie di calcolo adottate nell'intero lavoro di Tesi.

Nel Capitolo 3 verranno presentati i principali dati sperimentali delle prove effettuate e si eseguirà una discussione critica di tutti i risultati ottenuti adottando le procedure di calcolo precedentemente descritte.

## 2. Materiali, apparecchiature e metodologie

### 2.1 Apparecchiature

#### 2.1.1 MicroFD

Il MicroFD è un micro-liofilizzatore prodotto dalla Millrock Technology (Kingston, NY). Le dimensioni complessive dell'apparecchiatura sono 76.2 x 50.8 x 170.2 cm. Il peso totale è circa 136 kg. In Figura 2.1 è possibile osservare la visuale esterna di tale macchinario.



**Figura 2.1:** visuale esterna del MicroFD (immagine tratta dal manuale operativo)

La camera di liofilizzazione è caratterizzata da un ripiano (*shelf*) cilindrico con un diametro pari a 15.24 cm. Al suo interno è presente il polimero siliconico *Syltherm*, un fluido con funzione refrigerante o riscaldante a seconda della fase in corso: nello specifico, è possibile operare a temperature comprese tra  $-60^{\circ}\text{C}$  e  $+60^{\circ}\text{C}$ . Nella camera di liofilizzazione sono inoltre presenti 8 supporti per termocoppie, permettendo così la misurazione della temperatura in 8 flaconi (al massimo).

Come accennato nel Capitolo 1, un tratto distintivo del MicroFD è la presenza del LyoSim®, un anello di alluminio al cui interno si ha nuovamente il Syltherm. I due circuiti (*shelf* e LyoSim®) sono ovviamente indipendenti. Trattandosi dello stesso fluido termico, l'intervallo di temperature nel quale si può lavorare è lo stesso del ripiano (da  $-60^{\circ}\text{C}$  a  $+60^{\circ}\text{C}$ ). Le dimensioni del LyoSim® possono essere opportunamente modificate, in base alla tipologia di flaconi utilizzati. A titolo di esempio, utilizzando *vial* 6R il *batch* comprende 19 flaconi (7 centrali e 12 al bordo); allo stesso tempo, in presenza di *vial* 20R si possono inserire solo 7 flaconi (1 centrale e 6 al bordo). È fondamentale garantire un adeguato contatto tra flaconi esterni e LyoSim®, in modo che quest'ultimo possa esercitare al meglio la propria funzione.

Il condensatore permette di raggiungere temperature intorno ai  $-75^{\circ}\text{C}$ , mediante un impianto frigorifero a due stadi con i fluidi refrigeranti R507 ed R508. La valvola di isolamento è a farfalla, con attivazione pneumatica: è pertanto necessario inviare all'apparecchiatura aria compressa a 90 psi. Tale aria, inoltre, risulta fondamentale per controllare la pressione in camera e mantenerla al *setpoint* desiderato.

La misurazione della pressione avviene attraverso l'uso simultaneo dei sensori Pirani e Baratron®. La camera di essiccamento viene chiusa manualmente tramite un apposito coperchio. Siccome bisogna raggiungere elevati livelli di vuoto, è indispensabile avere un'adeguata tenuta: essa è garantita da una specifica guarnizione in silicone e dalla chiusura della valvola di drenaggio.

## 2.1.2 REVO

Il REVO è un liofilizzatore su scala pilota, anch'esso prodotto dalla Millrock Technology. L'ingombro complessivo del macchinario è 88.9 x 116.8 x 190.5 cm.

Nella camera di essiccamento possono essere introdotti da 1 a 5 vassoi: si ha pertanto una grande versatilità nell'estensione della superficie di sublimazione. Tale area, infatti, può variare da un minimo di 0.186 m<sup>2</sup> ad un massimo di 0.929 m<sup>2</sup>. I supporti per le termocoppie sono 10 (2 in più rispetto al MicroFD) e, anche in questo caso, sono presenti i sensori di pressione Pirani e Baratron®. Come nel MicroFD si invia aria per garantire l'attivazione pneumatica della valvola di isolamento; nel REVO, però, la pressione viene mantenuta al *setpoint* desiderato tramite una corrente di azoto (opportunamente filtrato) in camera.

La chiusura della camera di essiccamento avviene tramite un apposito sportello, il cui perimetro è coperto da una guarnizione che garantisce la giusta tenuta. Date le dimensioni del macchinario, sono inoltre presenti particolari supporti per assicurare l'effettiva chiusura della camera stessa. In Figura 2.2 si può osservare il REVO esternamente.



**Figura 2.2:** visuale esterna del REVO (tratto dal manuale operativo)

L'interfaccia grafica (sinottico compreso) è molto simile a quella del MicroFD, con conseguenti vantaggi nella gestione dei due macchinari e nell'impostazione delle condizioni operative. Nel REVO si utilizzano le unità di misura del Sistema Internazionale: la conversione delle pressioni da mTorr a  $\mu$ bar è pertanto fondamentale qualora si eseguano le stesse ricette in entrambi i liofilizzatori.

## 2.2 Prove sperimentali: procedure e condizioni operative

### 2.2.1 Cicli di liofilizzazione completi

Per studiare la resistenza al flusso di vapore a fronte di differenti modalità di congelamento, nella prima parte di Tesi sono stati eseguiti 9 cicli completi di liofilizzazione nel MicroFD e 1 nel REVO. L'elenco di tali prove è riportato nella Tabella 2.1.

**Tabella 2.1:** elenco delle prove sperimentali svolte nella prima parte di Tesi

Denominazione della prova	Apparecchiatura	Concentrazione di saccarosio	Modalità di congelamento
<i>Prova 1</i>	MicroFD	5% w/w	Rampa a -50°C
<i>Prova 2</i>	MicroFD	5% w/w	<i>Annealing</i> "lungo"
<i>Prova 3</i>	MicroFD	5% w/w	<i>Annealing</i> "breve"
<i>Prova 4</i>	MicroFD	5% w/w	Nucleazione a -3°C, con <i>IceFog</i>
<i>Prova 5</i>	MicroFD	5% w/w	Nucleazione a -3°C, senza <i>IceFog</i>
<i>Prova 6</i>	MicroFD	5% w/w	Nucleazione a -5°C, con <i>IceFog</i>
<i>Prova 7</i>	MicroFD	5% w/w	Nucleazione a -7°C, con <i>IceFog</i>
<i>Prova 8</i>	MicroFD	10% w/w	Nucleazione a -3°C, con <i>IceFog</i>
<i>Prova 9</i>	MicroFD	10% w/w	Nucleazione a -7°C, con <i>IceFog</i>
<i>Prova 10</i>	REVO	5% w/w	Rampa a -50°C

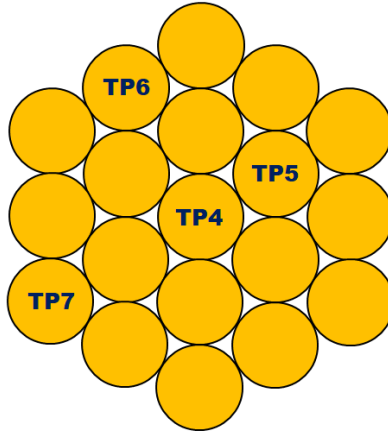
Il saccarosio utilizzato è della Fisher Scientific UK, mentre i flaconi sono stati prodotti dalla Soffieria Bertolini s.p.a. Nello specifico, sono stati utilizzati flaconi 6R, nei quali il diametro esterno è pari a 22 mm e lo spessore delle pareti laterali è 1 mm.

Per maggior chiarezza verrà inizialmente descritta la procedura utilizzata per condurre le prove nel MicroFD; solo in seguito si descriverà come è stata eseguita l'unica prova nel REVO, mettendo in evidenza le differenze rispetto alle precedenti.

Per svolgere le nove prove nel MicroFD sono state effettuate le seguenti operazioni:

- Lavaggio dei flaconi mediante bagno ad ultrasuoni (VWR Ultrasonic Cleaner) per 10 minuti e successiva asciugatura nel forno (modello TCF 120 – ARGOLAB);
- Preparazione della soluzione, utilizzando 100 g di acqua deionizzata (demineralizzatore RO 30 CUBIC – Gamma 3 s.n.c.) e 5-10 g di saccarosio in base alla concentrazione desiderata. A tal scopo, è stata utilizzata la bilancia di precisione XS BL 224 (Giorgio Bormac s.r.l.);
- Posizionamento del becher sull'agitatore magnetico (modello AG20 – ORMA Scientific Instruments), all'incirca per 15 minuti, in modo da favorire un'adeguata dissoluzione del soluto. In questa fase il becher è stato sempre coperto con un foglio di Parafilm M<sup>TM</sup> (Bemis<sup>TM</sup> Curwood – Fisher Scientific), per evitare la contaminazione della soluzione con polvere e impurità;
- Filtrazione della soluzione tramite filtri idrofili 0.45 µm (Labbox);

- Riempimento di ognuno dei 19 flaconi con 3 mL di soluzione, mediante la micropipetta LLG-proMLP 1-10 mL (LLG-LABWARE) e i puntali epT.I.P.S.® Standard/Bulk 0.5-10 mL (Eppendorf);
- Chiusura dei vari flaconi e inserimento nel MicroFD, adottando la disposizione rappresentata in Figura 2.3:



**Figura 2.3:** disposizione dei flaconi e delle termocoppie nel MicroFD per la prima parte di Tesi

In ogni ciclo di liofilizzazione la temperatura è stata monitorata in 4 flaconi (2 esterni e 2 centrali). Più precisamente:

- in tali flaconi le termocoppie (rame/costantana di tipo “T” – TERSID s.p.a.) sono state posizionate stabilmente mediante un tappo (WEST Pharmaceutical Services) opportunamente forato nella parte superiore
- i rimanenti 15 flaconi sono stati chiusi tramite gli appositi tappi (sempre prodotti dalla WEST Pharmaceutical Services, senza però fori nella parte superiore.

I tappi utilizzati devono garantire che ogni flacone abbia un’adeguata apertura per consentire l’uscita del vapore acqueo, che dovrà poter abbandonare il flacone, raggiungere la camera e arrivare infine al condensatore.

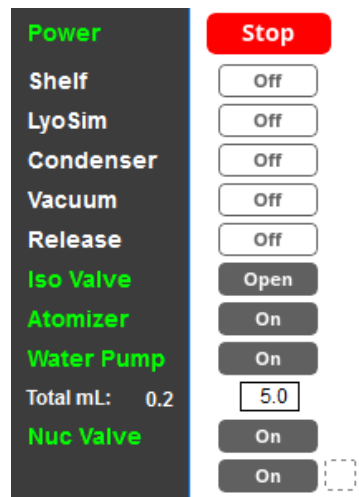
- Impostazione delle condizioni operative nel software, riferendosi alla descrizione riportate in seguito;
- Esecuzione del ciclo di liofilizzazione.

Per completezza, in Figura 2.4 è rappresentato un flacone prima del congelamento (a sinistra) e dopo l’essiccamento primario (a destra).



**Figura 2.4:** flacone prima del congelamento (a sinistra) e dopo l’essiccamento primario (a destra).

Per quanto concerne l'uso del software, è fondamentale precisare che le prove 1,2,3,5 sono state condotte in modalità “*Analyze*”, mentre le prove 4,6,7,8,9 (con *IceFog*) in modalità “*Optimize*”. Nelle prove effettuate con la tecnica *IceFog* è stato necessario svolgere la seguente procedura preliminare, in modalità “*Manual Run*” (Figura 2.5): dopo aver attivato tale modalità, sono stati accesi l'atomizzatore, la valvola di nucleazione, il *Nucleation Priming* e la pompa dell'acqua. Il volume di acqua da prelevare è stato impostato a 5 mL. Per attivare con successo la nucleazione *IceFog*, si è dovuto rispettare scrupolosamente l'ordine di tali fasi e attendere il completamento del prelievo di acqua (confermato poi da una spunta verde accanto a *Nuc Priming*).



**Figura 2.5:** videata della modalità “*Manual Run*”, utile per avviare la tecnica *IceFog*

Tutte e 4 le termocoppie sono state inserite nel “gruppo di controllo”, permettendo così il calcolo automatico della temperatura media e l'impostazione dell'*offset* del LyoSim® a -3°C da tale temperatura: si è pertanto selezionato *LyoSim Track from TPaverage*, nonché opzione 9 del menù a tendina in Figura 2.6. La stessa configurazione è stata adottata in tutte le prove nel MicroFD, sia durante il *Freezing* sia nel *Primary Drying* (nelle successive figure sarà quindi omessa, in quanto sempre presente).

In tutte le prove, la velocità di raffreddamento dello *shelf* è stata fissata a -1°C/min: tale vincolo ha permesso di impostare correttamente la durata delle varie sottofasi. In alcune di esse, però, era necessario attendere che la temperatura si stabilizzasse in prossimità di un valore preimpostato: essendo la loro durata non nota a priori, è stata inizialmente posta a 9999 minuti, per poi essere modificata al momento opportuno durante il processo. Durate pari a 0 minuti, invece, sono state inserite qualora si volesse raggiungere la temperatura desiderata nel minor tempo possibile. Le figure successive mostrano nel dettaglio le modalità di congelamento nelle varie prove. Nello specifico:

- in Figura 2.6 è descritto il raffreddamento diretto fino a -50°C (Prova 1);
- in Figura 2.7 è descritto l'*annealing* lungo (Prova 2). Il termine “lungo” indica che, in seguito ad una variazione di 40°C (da -50°C a -10°C), si è mantenuto lo *shelf* a -10°C per 6 ore;
- in Figura 2.8 è descritto l'*annealing* breve (Prova 3). Il termine “breve” indica che, in seguito ad una variazione di 30°C (da -50°C a -20°C), si è mantenuto lo *shelf* a -20°C per 2 ore;
- in Figura 2.9 è descritta la modalità “Nucleazione a -3°C senza *IceFog*” (Prove 5);

- in Figura 2.10 è descritta la modalità “Nucleazione a -3°C, con *IceFog*” (Prove 4 e 8). Come si può notare, le sottofasi sono identiche a quelle riportate in Figura 2.9; l’unica differenza consiste nell’attivazione del *FreezeBooster*® (modalità *Auto*) e nella sua collocazione dopo le *step* 4. La Figura 2.10 è valida e adattabile anche per le prove 6,7,9: bisogna solo avere l’accortezza di modificare le temperature di nucleazione e le durate degli *step* 3 e 4 (rispettando sempre la velocità di variazione di  $\pm 1^\circ\text{C}/\text{min}$ ).

FREEZING		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shelf Temp	°C	20	20	-50	-50	0	0	0	0	0	0
Time	min	0	2	70	9,999	0	0	0	0	0	0
LyoSim Track From:		▼		9	Track Offset:	-3.0 °C					

Figura 2.6: ricetta di congelamento in modalità “Rampa a -50°C” (Prova 1)

FREEZING		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shelf Temp	°C	20	20	-50	-50	-10	-10	-50	-50	0	0
Time	min	0	2	70	9,999	40	360	40	9,999	0	0

Figura 2.7: ricetta di congelamento in modalità “*Annealing* lungo” (Prova 2)

FREEZING		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shelf Temp	°C	20	20	-50	-50	-20	-20	-50	-50	0	0
Time	min	0	2	70	9,999	30	120	30	9,999	0	0

Figura 2.8: ricetta di congelamento in modalità “*Annealing* breve” (Prova 3)

FREEZING		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Shelf Temp	°C	20	20	-3	-3	-50	-50	0	0	0	0
Time	min	0	2	23	9,999	47	9,999	0	0	0	0

Figura 2.9: ricetta di congelamento in modalità “Nucleazione a -3°C, senza *IceFog*” (Prova 5)

FREEZING		Step: 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FreezeBooster®	°C		20	20	-3	-3	-50	-50	0	0	0	0
After STEP #:	min		0	2	23	9,999	47	9,999	0	0	0	0

Figura 2.10: ricetta di congelamento in modalità “Nucleazione a -3°C, con *IceFog*” (Prove 4,8 e adattabile a 6,7,9)



In tutte le 9 prove sono state adottate le stesse condizioni di essiccamento primario, impostando la pressione in camera a 100 mTorr e il ripiano a -10°C. L'essiccamento secondario (riscaldamento e mantenimento a 20°C) è stato eseguito solo per evitare la formazione di condensa alla fine del ciclo: come descritto in precedenza, infatti, lo studio di tale fase non rientra negli obiettivi della presente Tesi. La ricetta delle due fasi di essiccamento è riportata in Figura 2.11.

PRIMARY DRYING		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Shelf Temp	°C	-45	-45	-10	-10	20	20	0	0	0
Time	min	0	5	35	9,999	30	9,999	0	0	0
Pressure	mT	100	100	100	100	100	100	0	0	0
LyoSim Track From:				9	Track Offset:		-3.0 °C			

**Figura 2.11:** ricetta delle due fasi di essiccamento, valida per tutte le 9 prove

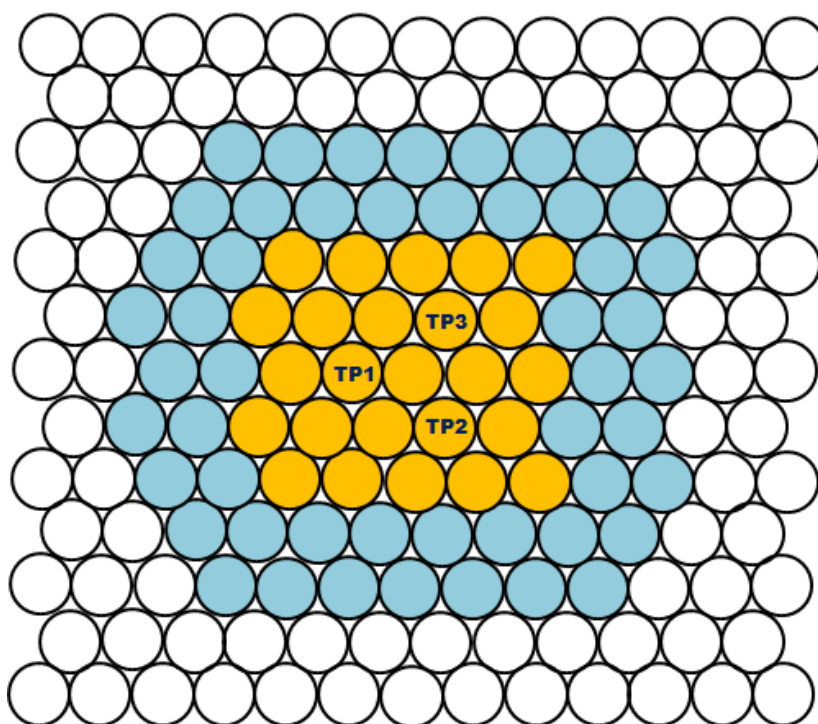
Per completezza, la temperatura nei primi due *step* è stata fissata a -45°C in modo da ricollegarsi alla fase di *Final Freeze*, obbligatoria per concludere il *Freezing* e per iniziare il *Primary Drying*. Le condizioni operative del *Final Freeze* sono riportate in Figura 2.12.

FINAL FREEZE	
Shelf Temp	°C -45.0
Hold Time	min 0
Primary Vac Start	mT 500

**Figura 2.12:** condizioni operative del *Final Freeze*

La Prova 10, condotta nel REVO, è stata eseguita in maniera molto simile a quelle descritte finora, pertanto è opportuno soffermarsi unicamente sulle differenze:

- è stata adottata la configurazione descritta in Figura 2.13 (mostrata nella pagina successiva), in modo da studiare solo la dinamica del processo nei flaconi centrali. In questo caso, sono stati utilizzati 25 flaconi contenenti 3 mL della soluzione di saccarosio (colorati in ocra nella Figura 2.13) e 3 termocoppie. I flaconi delle due file adiacenti al gruppo centrale (colorati in azzurro nella Figura 2.13) sono state riempiti con 2 mL di acqua, mentre quelli nelle file circostanti sono rimasti vuoti.
- il congelamento e l'essiccamento sono stati effettuati utilizzando, rispettivamente, le ricette presenti nelle Figure 2.6 e 2.11 (a meno del LyoSim®, in quanto assente nel REVO). Per maggior precisione, è stata impostata una pressione di 133 µbar, ovvero l'equivalente di 100 mTorr, in modo da effettuare un confronto diretto con la Prova 1.



**Figura 2.13:** disposizione dei flaconi nel REVO (Prova 10)

### 2.2.2 Test gravimetrici

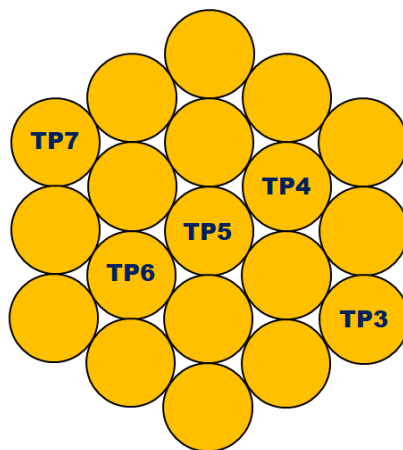
Nella seconda parte di Tesi sono stati effettuati 12 test gravimetrici le cui principali condizioni operative sono riportate in Tabella 2.2.

**Tabella 2.2:** elenco delle prove sperimentali svolte nella seconda parte di Tesi

<b>Denominazione della prova</b>	<b>Apparecchiatura</b>	<b>Pressione in camera <math>p_c</math></b>	<b>Temperatura LyoSim® <math>T_L</math></b>
<i>Prova A</i>	REVO	50 mTorr	-
<i>Prova B</i>	REVO	100 mTorr	-
<i>Prova C</i>	REVO	200 mTorr	-
<i>Prova A1</i>	MicroFD	50 mTorr	$T_S$
<i>Prova A2</i>	MicroFD	50 mTorr	$T_S + 5^\circ\text{C}$
<i>Prova A3</i>	MicroFD	50 mTorr	$T_S + 10^\circ\text{C}$
<i>Prova B1</i>	MicroFD	100 mTorr	$T_S$
<i>Prova B2</i>	MicroFD	100 mTorr	$T_S + 5^\circ\text{C}$
<i>Prova B3</i>	MicroFD	100 mTorr	$T_S + 10^\circ\text{C}$
<i>Prova C1</i>	MicroFD	200 mTorr	$T_S$
<i>Prova C2</i>	MicroFD	200 mTorr	$T_S + 5^\circ\text{C}$
<i>Prova C3</i>	MicroFD	200 mTorr	$T_S + 10^\circ\text{C}$

Per tutte le 12 prove non sono state utilizzate soluzioni di saccarosio, ma unicamente acqua: l'agitatore magnetico e i filtri, pertanto, non sono stati necessari. A differenza delle prove condotte nella prima parte di Tesi (in cui la presenza di impurità poteva influenzare negativamente il prodotto finale), il lavaggio col bagno ad ultrasuoni non è stato effettuato. Le semplificazioni appena esposte sono lecite poiché, in questa fase, l'obiettivo consiste nell'ottenere informazioni utili per quantificare i flussi di calore e i coefficienti di scambio termico.

Per tutte le prove condotte nel MicroFD si è adottata la disposizione rappresentata in Figura 2.14: come si può notare, sono stati utilizzati sempre 19 flaconi 6R, ma le termocoppie sono state disposte in maniera diversa rispetto alla sezione precedente.



**Figura 2.14:** disposizione di flaconi e termocoppie nel MicroFD per la seconda parte di Tesi

Prima della chiusura e dell'inserimento delle termocoppie, ogni flacone è stato pesato utilizzando la bilancia XS BL 224 (Giorgio Bormac s.r.l.). Le condizioni operative adottate sono riportate in Figura 2.6 e 2.11, con le seguenti modifiche:

- in questo caso si è scelta l'opzione 10 del menù a tendina in Figura 2.6, attraverso la quale la temperatura del LyoSim® viene calibrata in base a quella dello *shelf*. L'*offset* è stato posto pari a 0, +5 o +10°C in base alle indicazioni riportate in Tabella 2.2;
- gli *step* 5 e 6 non sono stati effettuati (questo riscaldamento avrebbe infatti provocato un'ulteriore sublimazione, alterando i risultati).

Al termine della fase di sublimazione, tutti i flaconi sono stati chiusi nel più breve tempo possibile, per impedire la fuoriuscita di vapore acqueo. Nello specifico:

- per i flaconi senza termocoppie, si è premuto con forza il tappo in modo da chiudere l'apposita apertura;
- per gli altri flaconi, si è rimossa la termocoppia e si è aggiunto un normale tappo, premendolo fino in fondo;

In conclusione, tutti i flaconi sono stati nuovamente pesati, in modo da poter calcolare la quantità di ghiaccio sublimato nel processo.

Per quanto riguarda le prove condotte nel REVO, si è adottata la stessa disposizione rappresentata in Figura 2.13. In questo caso, però, tutti i flaconi azzurri e ocra sono stati riempiti con 3 mL di acqua. Dei 25 flaconi ocra, solo i 22 senza termocoppia al loro interno sono stati pesati prima e dopo il processo: la motivazione di tale scelta verrà resa più chiara tramite la spiegazione della metodologia di calcolo. Anche in questo caso, le condizioni

operative adottate sono consultabili nelle Figure 2.6 e 2.11 (ovviamente, a meno del LyoSim® e dell'essiccamento secondario, come illustrato in precedenza).

## 2.3 Metodologie di calcolo

### 2.3.1 Prima parte

#### 2.3.1.1 Calcolo del coefficiente di scambio termico complessivo $K_V$

Prima di procedere con il calcolo di  $K_V$ , è stato necessario determinare la durata dell'essiccamento primario. In tutte le prove della prima parte di Tesi, essa è stata determinata mediante criteri riproducibili.

Sul file Excel generato dai liofilizzatori, si è partiti dall'inizio della fase di *Primary Drying* e, ad ogni istante di tempo e per ogni termocoppia, si è calcolata la tensione di vapore all'interfaccia di sublimazione  $p_0(T_i)$ . Sfruttando le dimensioni estremamente ridotte del sistema (altezza del riempimento di circa 1 cm), si è supposto che la temperatura all'interfaccia di sublimazione  $T_i$  coincidesse con quella misurata sul fondo del flacone  $T_B$ . La tensione di vapore è calcolabile attraverso la relazione di Goff-Gratch:

$$p_0(T_i) = 10^{-9.09718\left(\frac{273.16}{T_i}-1\right)-3.56654\log_{10}\left(\frac{273.16}{T_i}\right)+0.876793\left(1-\frac{T_i}{273.16}\right)+\log_{10} 6.1071} \quad (2.1)$$

L'espressione 2.1 permette di ottenere  $p_0$  in hPa, esprimendo  $T_i$  in K. Si è poi confrontata la pressione in camera (fornita dal manometro capacitivo Baratron®) con la tensione di vapore  $p_0$ : se  $p_c < p_0$  allora si ha sublimazione. Per ogni termocoppia si è individuato l'istante di tempo in cui tale condizione è stata soddisfatta per la prima volta. Per avere un punto di partenza univoco, si è scelto come tempo "zero" il caso peggiore (il flacone in cui la sublimazione è iniziata più tardi). Tale criterio è oggettivo e l'errore commesso è accettabile: si è infatti sovrastimata/sottostimata la durata del processo solo di qualche minuto, rispetto ai circa 1500 minuti di durata complessiva.

Come punto di fine della sublimazione si è scelto il primo istante di tempo in cui la differenza tra la pressione misurata dalla sonda Pirani e quella ottenuta dal manometro capacitivo Baratron® è stata uguale a 5 mTorr.

Prima di procedere con ulteriori calcoli, è stato necessario modificare opportunamente i profili di temperatura, prolungando l'asintoto orizzontale della prima parte di essiccamento primario fino alla sua fine (in accordo a quanto spiegato nel paragrafo 1.4.1).

Partendo dall'equazione 1.1 e introducendo l'area di base del flacone, si può esprimere la quantità di calore complessivamente scambiata tra il singolo flacone e il ripiano. Esplicitando tale quantità come prodotto di entalpia di sublimazione e massa d'acqua sublimata, si integra sulla durata complessiva dell'essiccamento primario, per poi esplicitare  $K_V$ :

$$K_V = \frac{m_{H_2O}\Delta H_S}{A_{V,b} \int_0^{t_{PD}} (T_S - T_B) dt} \quad (2.2)$$

Per maggior chiarezza è utile precisare che  $A_{V,b}$  è stata calcolata considerando il raggio interno del flacone: se si fosse utilizzato il raggio esterno, sarebbe stato necessario aggiungere un ulteriore contributo dovuto allo scambio termico attraverso le pareti laterali. Siccome ci si

è riferiti all'essiccamento primario completo, si è considerato come  $m_{H_2O}$  il quantitativo di acqua complessivamente presente nella soluzione iniziale. Per maggior precisione:

- 3 mL di soluzione acquosa al 5% w/w di saccarosio implicano  $m_{H_2O}$  pari a 2.85 g;
- 3 mL di soluzione acquosa al 10% w/w di saccarosio implicano  $m_{H_2O}$  pari a 2.70 g;

L'integrale presente nell'equazione 2.2 e tutti gli integrali presenti nella prima parte di Tesi sono stati calcolati con il metodo dei trapezi.

### 2.3.1.2 Calcolo della resistenza al flusso di vapore $R_p$

Combinando le equazioni 1.1 e 1.3 è possibile esplicitare il flusso di sublimazione ad ogni istante di tempo; tale flusso, inserito nell'equazione 1.2, permette di ottenere la resistenza istantanea al flusso di vapore  $R_p^*$ :

$$R_p^* = \frac{(p_0(T_i) - p_c)\Delta H_S}{K_V(T_S - T_B)} \quad (2.3)$$

Per ottenere la resistenza al flusso di vapore  $R_p$  in funzione dello spessore dello strato secco  $L_d$ , occorre affiancare ad  $R_p^*$  lo spessore istantaneo dello strato secco  $L_d^*$ . La quantità di acqua sublimata dall'inizio dell'essiccamento primario al generico istante di tempo  $t^*$  è:

$$m_{H_2O}^* = A_{V,b} \int_0^{t^*} J_w dt \quad (2.4)$$

Definendo  $\varepsilon$  come porosità della matrice (la frazione di vuoti in essa presente, nonché la differenza tra 1 e la percentuale di soluto) e  $\rho$  come densità del ghiaccio, lo spessore istantaneo dello strato secco  $L_d^*$  è:

$$L_d^* = \frac{m_{H_2O}^*}{\rho_{ice}\varepsilon A_{V,b}} \quad (2.5)$$

Diagrammando  $R_p^*$  in funzione di  $L_d^*$ , istante per istante, si ottiene la curva desiderata. Se la forma di tale curva lo consente, è possibile ricondursi all'espressione 1.7 determinando i parametri  $R_{p,0}$ ,  $A$  e  $B$ : per far ciò, nel presente lavoro di Tesi si è minimizzato lo scarto quadratico medio tra valori sperimentali e teorici utilizzando il metodo GRG non lineare (implementato nel Risolutore di Excel).

Come descritto nel paragrafo 1.4.2, è possibile ricondursi all'espressione 1.8. Riferendosi allo studio di Fissore e Pisano (2015), i parametri  $a_0$  e  $a_1$  possono essere ottenuti attraverso le seguenti relazioni:

$$a_0 = \frac{R\sqrt{T_i}}{AM_w K \varepsilon} \quad (2.6)$$

$$a_1 = B a_0 \quad (2.7)$$

In esse:  $R$  è la costante dei gas perfetti,  $T_i$  è la temperatura assoluta all'interfaccia di sublimazione (approssimata a  $T_B$  come descritto in precedenza),  $M_w$  è il peso molecolare dell'acqua, il parametro  $K$  è pari a  $22.9 \text{ m/sK}^{0.5}$  ed  $\varepsilon$  è la porosità della matrice (già introdotta prima). I parametri  $A$  e  $B$  sono gli stessi presenti nell'espressione 1.7. Partendo dalla 1.8 è inoltre possibile calcolare la diffusività effettiva di Knudsen:

$$D_e = (a_0 + a_1 L_d) K \varepsilon \sqrt{T_i} \quad (2.8)$$

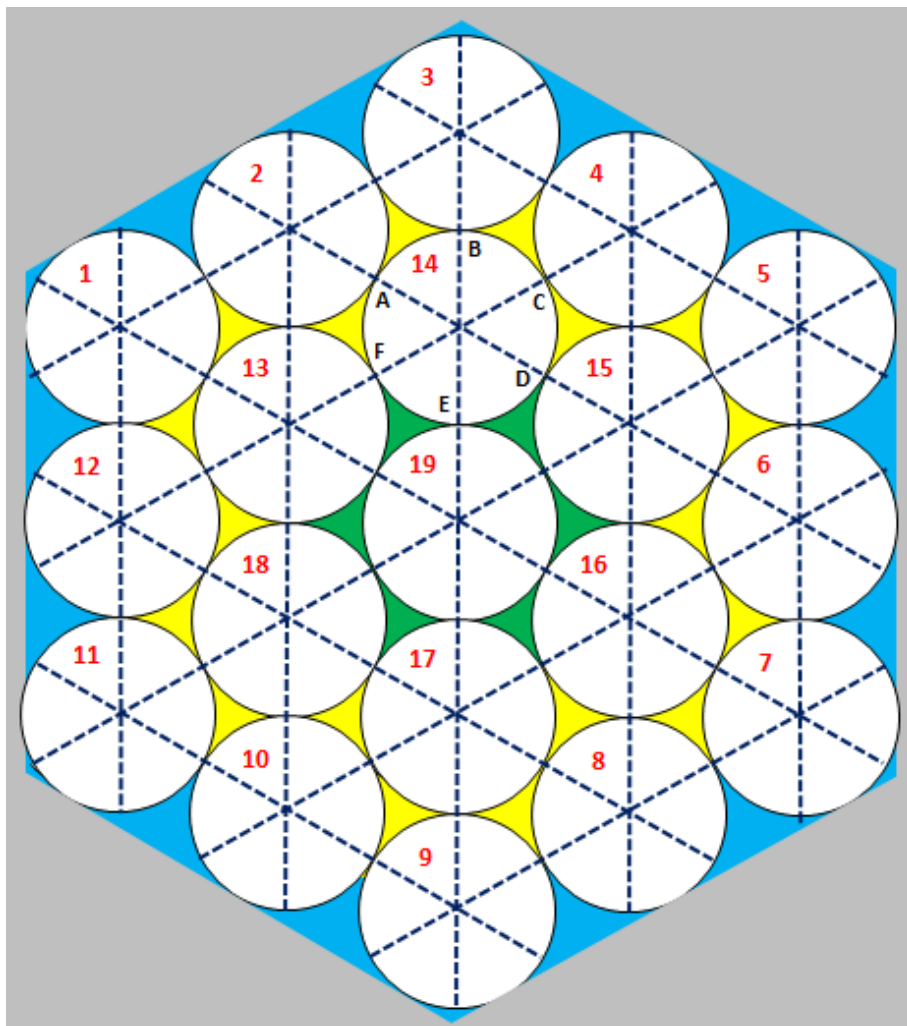
## 2.3.2 Seconda parte

### 2.3.2.1 Quantificazione dei flussi termici

Sfruttando i dati ottenuti nelle prove A, B e C si è potuto ottenere il coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto  $Kv$  alle pressioni di 50, 100 e 200 mTorr. Per far ciò, è stata seguita la procedura di calcolo descritta nel paragrafo 2.3.1.1, con le seguenti differenze:

- la fine dell'essiccamento primario è stata determinata dall'interruzione del ciclo (non è quindi stato necessario adottare specifici criteri per individuarla);
- si è ipotizzato che la temperatura di ogni flacone coincidesse con la media delle temperature fornite dalle 3 termocoppie;
- $m_{H_2O}$  è stato considerato pari alla media delle variazioni di peso dei 22 flaconi senza termocoppia (ocra in Figura 2.13). I 3 flaconi contenenti le termocoppie non sono stati pesati poiché il loro contributo sarebbe stato trascurabile (rispetto ai 22 effettivamente considerati).

Prima di illustrare come sono state utilizzate le misurazioni dei test gravimetrici nel MicroFD, è necessario analizzare più a fondo il sistema in esame. A tal proposito, si consideri lo schema presente in Figura 2.15.



**Figura 2.15:** schema dettagliato della geometria del lotto nel MicroFD

Il lotto è stato suddiviso in 2 strati e ognuno di essi è stato considerato omogeneo al suo interno. Come si può notare dal parallelismo con la Figura 2.14, le termocoppie sono state inserite nei flaconi 1, 7, 15, 18 e 19. Per maggior chiarezza, le informazioni relative ai due strati sono riassunte e specificate in Tabella 2.3.

**Tabella 2.3:** specifiche relative ai due *layer* in cui è stato suddiviso il lotto del MicroFD

Strato - <i>Layer</i>	Flaconi	Variazione di massa $\Delta m$	Temperatura $\bar{T}$
<b>1 (ESTERNO)</b>	12 (dal n°1 al n°12)	$\Delta \bar{m}_1 = \frac{\sum_{i=1}^{12} \Delta m_i}{12}$	$\bar{T}_1 = \frac{T_1 + T_7}{2}$
<b>2 (INTERNO)</b>	7 (dal n°13 al n°19)	$\Delta \bar{m}_2 = \frac{\sum_{i=13}^{19} \Delta m_i}{7}$	$\bar{T}_2 = \frac{T_{15} + T_{18} + T_{19}}{3}$

L'ipotesi di considerare il flacone 19 alla stessa temperatura dei flaconi 13-18 è giustificata dal fatto che la differenza tra le loro temperature rientra nell'incertezza di misura della termocoppia.

Per descrivere al meglio il sistema, come si può notare nella Figura 2.15 ogni flacone è stato suddiviso in 6 spicchi. In particolare, risulta interessante analizzare i *vial* della seconda fila (13-18). Per maggior chiarezza, si consideri il flacone 14:

- negli spicchi AB e BC lo scambio di calore avviene unicamente con flaconi dello strato esterno;
- negli spicchi DE ed EF ci sarebbe scambio termico col flacone 19, ma per le ipotesi descritte in precedenza la sua temperatura è pari a quella dei flaconi nella seconda fila, pertanto il flusso è nullo;
- negli spicchi AF e CD lo scambio di calore avviene con alcuni *vial* dello strato esterno e con alcuni della seconda fila, ma per le ipotesi precedenti tutti i flaconi della seconda fila sono alla stessa temperatura.

Una quantificazione precisa implicherebbe l'utilizzo degli opportuni fattori di vista, complicando notevolmente l'approccio al sistema. È però interessante notare che tutti i 6 flaconi della fila centrale (13-18) scambiano calore nella stessa maniera: il ragionamento formalizzato sul flacone 14 può infatti essere ripetuto per gli altri cinque, ottenendo sempre gli stessi risultati. Alla luce di ciò, è possibile descrivere il trasporto di calore mediante coefficienti di scambio termico "effettivi".

La Figura 2.16 mette in evidenza tutti i quantitativi di calore presenti nel sistema in esame. Nello specifico:

- i termini in rosso rappresentano il calore scambiato tra il ripiano e i singoli *layer*;
- il termine in viola indica il calore scambiato tra LyoSim® e strato esterno (a diretto contatto con il LyoSim®);
- il termine in verde rappresenta lo scambio termico *inter-layer* (lo strato esterno è più caldo rispetto a quello interno, pertanto nello schema la freccia è rivolta verso destra);
- i termini in azzurro indicano il calore di sublimazione.

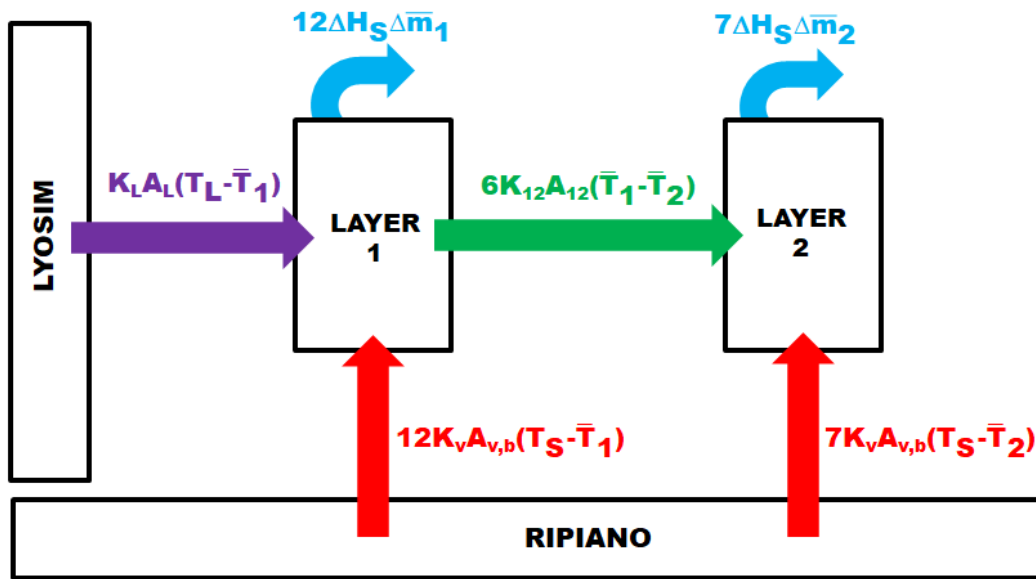


Figura 2.16: schematizzazione dei quantitativi di calore presenti nella configurazione adottata

Tutti i termini di calore sensibile sono stati esplicitati come prodotto tra l'opportuno coefficiente di scambio termico, la superficie di scambio e la relativa forza spingente (intesa come differenza di temperatura). Il calore di sublimazione (latente) è stato invece espresso come prodotto tra entalpia di sublimazione e quantitativo di ghiaccio sublimato. In entrambi i contributi si è ovviamente tenuto conto del numero di flaconi coinvolti, in modo da ottenere i quantitativi di calore complessivi. A tal proposito, è importante sottolineare che nello scambio termico *inter-layer* sono coinvolti solamente 6 dei 7 flaconi appartenenti allo stato interno (dal numero 13 al numero 18, ovvero quelli a diretto contatto con lo strato esterno).

Come si può notare dalla Figura 2.15 e dal ragionamento effettuato in precedenza sugli "spicchi", la determinazione delle aree di scambio  $A_L$  (LyoSim® – Layer 1) e  $A_{12}$  (*inter-layer*) sarebbe molto complicata. Per ovviare al problema, nei calcoli sono stati utilizzati i coefficienti di scambio termico effettivi  $K_L^* = K_L A_L$  e  $K_{12}^* = K_{12} A_{12}$ .

Sfruttando la ragionevole ipotesi che il coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$  sia lo stesso in entrambe le apparecchiature, sono stati utilizzati i valori di  $K_V$  ottenuti nelle Prove A, B e C per calcolare tutti i termini presentati in Figura 2.16 e i coefficienti di scambio termico effettivi ( $K_L^*$  e  $K_{12}^*$ ). Per maggior chiarezza si riporta l'ordine di esecuzione dei calcoli:

- si è determinato il calore di sublimazione dello strato interno con l'espressione 2.9:

$$Q_{int} = 7 \Delta \bar{m}_2 \Delta H_S \quad (2.9)$$

- si è calcolato il calore scambiato tra ripiano e strato interno utilizzando la 2.10:

$$Q_{BASE,int} = 7 K_{V,REVO} A_{V,b} \int_0^{t_{test}} (T_S - \bar{T}_2) dt \quad (2.10)$$

- si è ottenuto il calore laterale sottraendo i due contributi appena ricavati:

$$Q_{LAT,int} = Q_{int} - Q_{BASE,int} \quad (2.11)$$

- si è determinato il calore di sublimazione dello strato esterno con l'espressione 2.12:



$$Q_{est} = 12\Delta\bar{m}_1\Delta H_S \quad (2.12)$$

- mediante la 2.13 è stato possibile ottenere il calore scambiato tra ripiano e strato interno

$$Q_{BASE,est} = 12K_{V,REVO}A_{V,b} \int_0^{t_{test}} (T_S - \bar{T}_1)dt \quad (2.13)$$

- si è individuato l'ultimo contributo (il calore scambiato tra LyoSim® e stato esterno) con la 2.14:

$$Q_{LyoSim} = Q_{est} - Q_{BASE,est} + Q_{LAT,int} \quad (2.14)$$

- avendo esplicitato tutti i termini sopra elencati (oltre a poterli criticamente confrontare) è possibile esplicitare i coefficienti di scambio termico effettivi ( $K_{12}^*$  con la 2.15 e  $K_L^*$  con la 2.16):

$$K_{12}^* = \frac{Q_{LAT,int}}{6 \int_0^{t_{test}} (\bar{T}_1 - \bar{T}_2)dt} \quad (2.15)$$

$$K_L^* = \frac{Q_{LyoSim}}{\int_0^{t_{test}} (\bar{T}_L - \bar{T}_1)dt} \quad (2.16)$$

### 2.3.2.2 Stima del coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto $K_V$ nel MicroFD

Nella sezione precedente, il calcolo dei quantitativi di calore scambiati non sarebbe stato possibile senza i valori di  $K_V$  ottenuti nel REVO. Si è pertanto deciso di stimare  $K_V$  (il contributo *shelf*-prodotto) partendo anche dai dati sperimentali del MicroFD. A tal scopo, però, è stato necessario introdurre nuove equazioni e adottare un nuovo approccio.

In virtù dell'elevata conducibilità del ghiaccio (rispetto alle soluzioni zuccherine) e del basso spessore, il ghiaccio in ogni flacone è stato assunto isoterma ed ad una temperatura pari a quella misurata dalla termocoppia.

Per calcolare il flusso di sublimazione  $\dot{m}_w$  senza conoscere  $K_V$  si è utilizzata la seguente relazione:

$$J_w = K(p_o - p_c) \quad (2.17)$$

In essa  $p_o$  è la tensione di vapore all'interfaccia di sublimazione (calcolabile partendo dalle misurazioni di temperatura con l'espressione 2.1),  $p_c$  è la pressione in camera e  $K$  è da intendersi come un coefficiente di scambio di materia effettivo.  $K$  è stato assunto costante: tale ipotesi è da considerarsi ragionevole, siccome le variazioni di temperatura e di flusso di sublimazione sono molto contenute (nelle condizioni operative adottate) nel corso di ogni prova. La costante  $K$  è stata calcolata considerando l'intera durata dell'essiccamento primario: in altri termini, è stato adottato un approccio "globale", utilizzando le variazioni di massa misurate e integrando la forza spingente nel tempo. L'espressione ottenuta è la 2.18:

$$K = \frac{\Delta m}{\int_0^{t_{test}} (p_o - p_c)dt} \quad (2.18)$$

L'esecuzione di questa procedura su differenti flaconi dello stesso test ha permesso di confermare l'ipotesi sulla costanza di  $K$ .

Avendo determinato  $K$ , per ogni intervallo di tempo è stato possibile calcolare il flusso di sublimazione  $\dot{m}_w$  (con l'espressione 2.17) e il calore di sublimazione (moltiplicando la 2.17 per l'entalpia di sublimazione). Si è inoltre potuto determinare la massa di ghiaccio contenuto nel flacone al generico istante  $t$  (2.19) e, partendo da essa, lo spessore del ghiaccio al medesimo istante di tempo (2.20).

$$m_{ice}(t) = m_{ice}(0) - \int_0^t J_w dt \quad (2.19)$$

$$L_f(t) = \frac{m_{ice}(t)}{\rho_{ice} A_{v,b}} \quad (2.20)$$

Il profilo ottenuto nella 2.20 è stato utilizzato per introdurre un contributo di calore aggiuntivo (rispetto a quelli considerati nella sezione precedente e riepilogati nella Figura 2.16), ovvero il termine di accumulo  $Q_{acc}$ :

$$Q_{acc} = \int_0^{t_{test}} \left[ \frac{d}{dt} (m_{ice} c_{p_{ice}} T_{ice}) \right] dt \quad (2.21)$$

Esplicitando  $m_{ice}$  dalla 2.20 e sviluppando il differenziale si è ottenuta la seguente espressione:

$$Q_{acc} = \rho_{ice} c_{p_{ice}} A_{v,b} \left[ \int_0^{t_{test}} L_f(t) dT_{ice} + \int_0^{t_{test}} T_{ice}(t) dL_f \right] \quad (2.22)$$

Ragionando sulla Figura 2.16, considerando il termine di accumulo (espressione 2.22) e adottando la notazione semplificativa riportata nella 2.23, si è potuto scrivere il bilancio di energia al *layer* interno (2.24).

$$I_{xy} \equiv \int_0^{t_{test}} (T_x - T_y) dt \quad (2.23)$$

$$7K_V A_{v,b} I_{S2} + 6K_{12}^* I_{12} = 7\Delta H_S \Delta m_2 + 7Q_{acc} \quad (2.24)$$

Qualora  $K_V$  sia noto, la 2.24 permette di calcolare  $K_{12}^*$  utilizzando i dati sperimentali.

Anziché utilizzare i valori di  $K_V$  ricavati nel REVO, l'introduzione del termine di accumulo ha permesso di sviluppare un nuovo approccio, sfruttando unicamente i dati del MicroFD. Ragionando sul singolo flacone, è stata eseguita una procedura di “*best-fit*” tra la temperatura del ghiaccio misurata e quella calcolata: in altri termini, si è individuato il valore di  $K_V$  in grado di minimizzare lo scarto quadratico medio tra le due temperature. A tal proposito è stata utilizzata la *function* MATLAB *fminsearch*, abbinata alla risoluzione del seguente sistema di equazioni differenziali:

- il bilancio di materia su un singolo flacone dello strato interno (2.25):

$$\frac{dL_f}{dt} = - \frac{K(p_o - p_c)}{\rho_{ice} A_{v,b}} \quad (2.25)$$

- il bilancio di energia su un singolo flacone dello strato interno (2.26):

$$\rho_{ice} c_{p_{ice}} A_{v,b} \left[ L_f \frac{dT_{ice}}{dt} + T_{ice} \frac{dL_f}{dt} \right] = K_V A_{v,b} (T_S - T_{ice}) + K_{12}^* (T_1 - T_{ice}) - \Delta H_S J_w \quad (2.26)$$

Terminata la procedura di “*best-fit*”, si è infine utilizzato il  $K_V$  appena ottenuto per risolvere nuovamente il sistema di equazioni differenziali e verificare l’entità dello scostamento tra la temperatura del ghiaccio misurata e quella calcolata. I passaggi appena descritti sono stati ripetuti utilizzando i dati di tutti i test gravimetrici condotti nel MicroFD, in modo da confrontare tra loro i risultati.



### 3. Risultati e discussione

In questo Capitolo sono riportati i risultati delle prove effettuate in entrambe le parti del lavoro di Tesi. Per maggior chiarezza, verranno inizialmente presentati e discussi i dati sperimentali: trattandosi di misurazioni dirette, esse sono affette unicamente dall'incertezza sperimentale. Successivamente verranno presentati e discussi i risultati dei calcoli descritti nel Capitolo 2. Adottando la logica appena descritta (un grado di rielaborazione dei dati via via crescente), il presente capitolo è suddiviso nelle tre seguenti parti:

- la prima parte consiste in una discussione critica dei dati sperimentali ottenuti nelle Prove 1-10, nello studio delle durate del processo, nel confronto tra i valori di  $K_V$  ottenuti e nell'analisi della resistenza al flusso di vapore (espressa sotto forma di  $R_p$  e di rapporto  $r_e/\tau$ );
- dopo aver commentato i dati sperimentali dei vari test gravimetrici, nella seconda parte si analizzeranno i flussi termici nel MicroFD e si confronteranno tra loro i valori di  $K_V$  ottenuti con l'algoritmo MATLAB, in modo da individuare quali dati sia più opportuno utilizzare.
- nella terza parte (conclusiva) si sfrutteranno i  $K_V$  appena ricavati per ragionare ulteriormente sui principali aspetti discussi nella prima parte del Capitolo, in un'ottica di scalabilità del processo.

#### 3.1 Prima parte

##### 3.1.1 Dati sperimentali

Come spiegato nel Capitolo 1, il rapporto tra la pressione misurata con la sonda Pirani ( $P_i$ ) e quella ottenuta tramite il manometro capacitivo Baratron® ( $Ba$ ) è utile per valutare la durata dell'essiccamento primario e l'omogeneità del lotto. In Figura 3.1 sono rappresentate le curve  $P_i/Ba$  per le prove condotte con soluzioni di saccarosio al 5% w/w nel MicroFD (Prove 1-7). Ciascuna curva si interrompe nell'istante in cui la differenza tra  $P_i$  e  $Ba$  diventa, per la prima volta, pari a 5 mTorr: per maggior chiarezza, in Tabella 3.1 sono riportate le durate delle Prove 1-10 determinate adottando questo criterio.

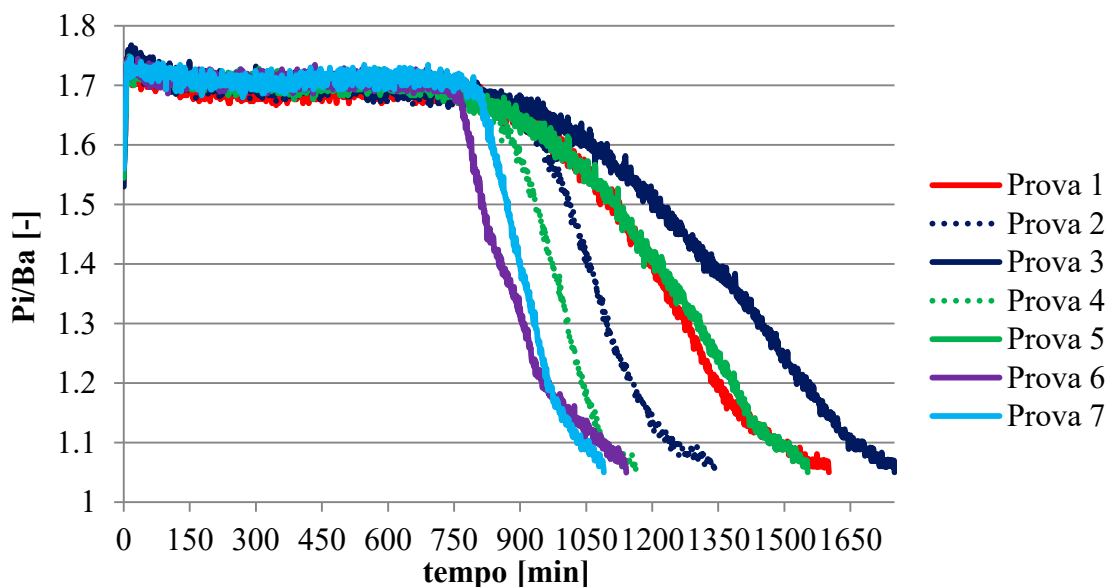


Figura 3.1: rapporto  $P_i/Ba$  per le prove condotte con soluzioni di saccarosio al 5% w/w nel MicroFD

**Tabella 3.1:** durate dell'essiccamento primario nelle Prove 1-10, calcolate mediante il criterio *Pi-Ba*

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Durata</b>	1601	1342	1750	1163	1553	1141	1090	1191	1142	1226
<b>min</b>										

Per praticità, conviene iniziare la discussione ragionando sulle prove condotte con *annealing*. L'*annealing* lungo (Prova 2) risulta estremamente più vantaggioso dell'*annealing* breve (Prova 3). La curva blu tratteggiata, infatti, presenta una decrescita più ripida rispetto alla curva blu continua: ciò implica una miglior omogeneità del lotto nella Prova 2. Allo stesso tempo, la curva blu tratteggiata si interrompe prima di quella continua: ciò comporta una minor durata dell'essiccamento primario in seguito all'*annealing* lungo. I comportamenti appena descritti sono dovuti alle differenti modalità con cui si verifica la maturazione di Ostwald: nella Prova 2 il ripiano viene portato da  $-50^{\circ}\text{C}$  a  $-10^{\circ}\text{C}$  e la temperatura di *annealing* viene mantenuta per 6 ore, mentre nella Prova 3 il ripiano viene portato a  $-20^{\circ}\text{C}$  e tale temperatura viene mantenuta per 2 ore. Nella Prova 2, la maggior forza spingente e il maggior tempo di permanenza del lotto alla temperatura di *annealing* favoriscono un maggior accrescimento dei cristalli più grandi a scapito di quelli più piccoli. La maturazione di Ostwald, ovviamente, avviene anche nella Prova 3, ma le condizioni operative rendono tale fenomeno meno marcato. Alla luce di ciò, nella Prova 2 si ottengono cristalli di ghiaccio di dimensione maggiore, una miglior omogeneità del lotto e, di conseguenza, un processo di sublimazione più breve e uniforme.

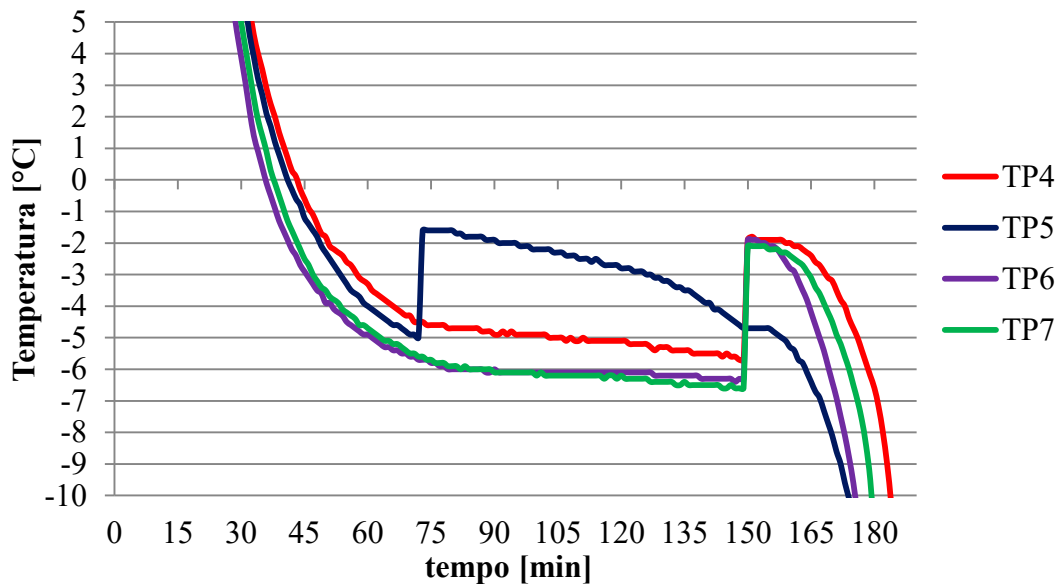
Il raffreddamento diretto a  $-50^{\circ}\text{C}$  risulta meno conveniente dell'*annealing* lungo: l'assenza della maturazione di Ostwald impedisce ai cristalli più piccoli di essere eliminati dalla distribuzione dimensionale dei cristalli stessi. Nonostante la maggior durata della fase di congelamento, la maturazione di Ostwald rende quindi la Prova 2 più efficace della Prova 1 in termini di essiccamento primario. Il confronto tra Prova 1 e Prova 3 rafforza ulteriormente quanto esposto nel paragrafo precedente: la bassa forza spingente e il basso tempo di permanenza alla temperatura di *annealing* rendono la sublimazione più lunga e meno omogenea.

Come si può notare dalle Prove 4, 6 e 7, indipendentemente dalla temperatura di nucleazione, l'impiego della tecnica *IceFog* rende l'essiccamento primario più breve e uniforme rispetto alle Prove 1, 2 e 3: le curve, infatti, sono maggiormente spostate a sinistra e il cambio di pendenza è più repentino.

Nella Prova 4 e nella Prova 5 la nucleazione è stata condotta alla temperatura di  $-3^{\circ}\text{C}$ , ma solo nella 4 è stata utilizzata la tecnica *IceFog*. La differenza tra le due curve verdi (tratteggiata e continua) è molto accentuata, sia in termini di forma sia di punto terminale: l'essiccamento primario nella Prova 4, infatti, è decisamente più breve e omogeneo. Inoltre, è interessante notare che le curve della Prova 1 e della Prova 5 sono pressoché sovrapposte, nonostante siano state adottate due modalità di congelamento differenti.

Il confronto diretto tra le Prove 4, 6 e 7 permette di approfondire l'effetto della temperatura di nucleazione in presenza della tecnica *IceFog*. Nella Prova 4 la nucleazione è stata effettuata impostando il ripiano a  $-3^{\circ}\text{C}$ , nella Prova 6 a  $-5^{\circ}\text{C}$  e nella 7 a  $-7^{\circ}\text{C}$ . Come spiegato nel Capitolo 1, a temperature di nucleazione più basse corrisponde la formazione di tanti cristalli di piccole dimensioni. In queste condizioni ci aspetteremmo un essiccamento primario progressivamente più lungo, in seguito alle maggiori resistenze incontrate dal vapore acqueo per abbandonare lo strato secco e raggiungere la camera. Alla luce di ciò, la maggior durata della Prova 7 rispetto alla 6 è concorde alle aspettative, ma non lo è il fatto che entrambe siano più brevi della Prova 4. Per approfondire questa incongruenza si è deciso di

eseguire due prove (la 8 e la 9) con una soluzione al 10% w/w di saccarosio: più precisamente, nella Prova 8 la nucleazione è stata condotta impostando lo *shelf* a  $-3^{\circ}\text{C}$  (analogamente alla 4), mentre nella Prova 9 a  $-7^{\circ}\text{C}$  (analogamente alle 7). Prima di procedere con ulteriori commenti, è fondamentale precisare che in uno dei 4 flaconi monitorati nella Prova 9 (più precisamente, quello contenente TP5), la nucleazione è avvenuta prima dell'attivazione del *FreezeBooster*®. Anziché escludere tale prova, si è deciso di considerarla valida ai fini della presente trattazione, in quanto questo inconveniente permette di effettuare considerazioni aggiuntive interessanti. Per completezza, in Figura 3.2 sono rappresentati i profili termici durante la fase di congelamento della Prova 9.



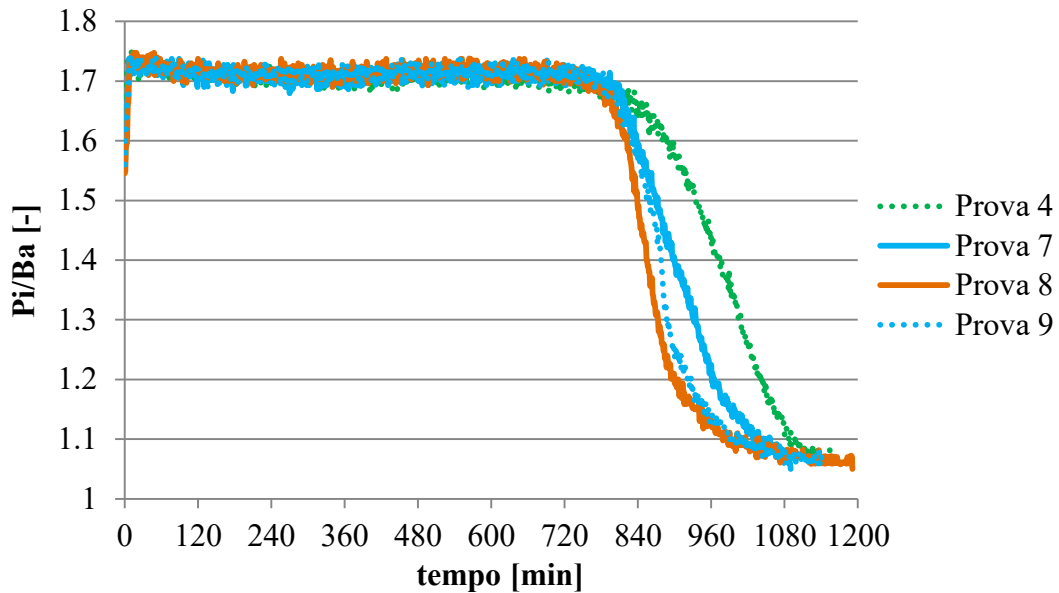
**Figura 3.2:** profili termici (tratti dalla Prova 9) nella prima parte del congelamento

Si possono notare due principali aspetti:

- la nucleazione nel flacone contenente TP5 ha inizio intorno ai 75 minuti; dopo l'introduzione della nebbia di ghiaccio in camera, avvenuta tra 120 e 150 minuti, il profilo di TP5 è monotono decrescente (ormai la nucleazione si è già verificata);
- la temperatura in ogni flacone si avvicina a  $-7^{\circ}\text{C}$ , senza però raggiungere mai tale valore: la nucleazione, quindi, non avviene esattamente a  $-7^{\circ}\text{C}$ , ma lievemente al di sopra di tale temperatura.

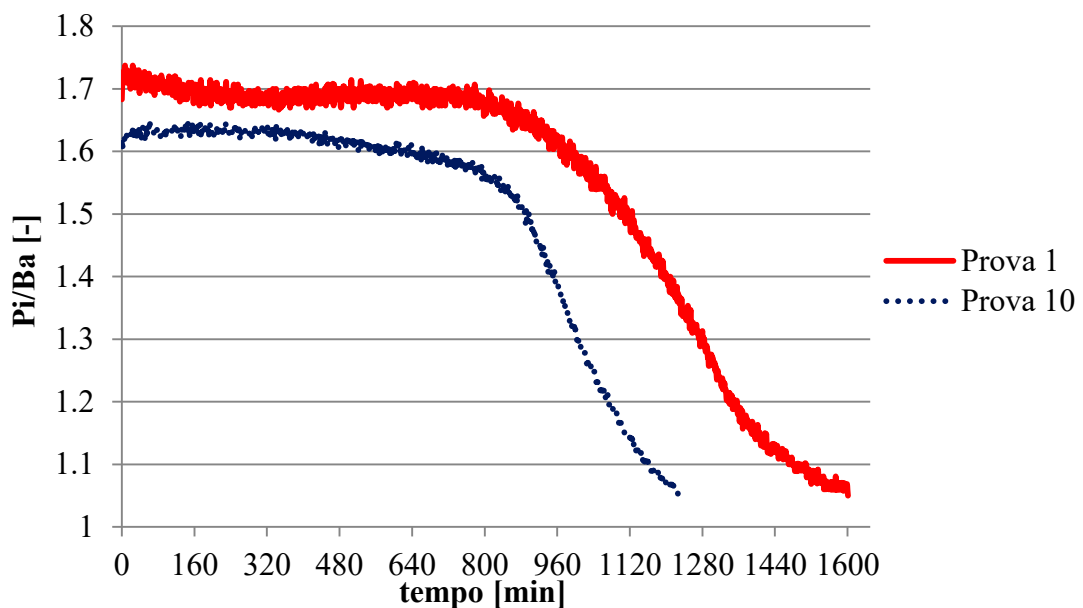
Le curve *Pi/Ba* relative alle Prove 8 e 9 sono rappresentate in Figura 3.3 (affiancate a quelle delle Prove 4 e 7, per confronto). Una maggior concentrazione di eccipiente implica una riduzione della porosità dello strato secco: tenendo conto di ciò, la durata dell'essiccamento primario dovrebbe aumentare. Le 4 curve presenti in Figura 3.3 si sovrappongono nella parte finale e perciò risulta complesso comprendere in quale istante le prove si interrompono. Come si può osservare nella Tabella 3.1 (basata sul criterio " $Pi-Ba = 5$  mTorr"), la Prova 7 è più breve della 4 (di 73 minuti) e la Prova 9 è più breve della 8 (di 50 minuti circa). I risultati sono contrari alle aspettative, ma per completezza è importante precisare che tali differenze sono estremamente contenute, rispetto alla durata complessiva delle fasi di *Primary Drying*. Analogamente ai precedenti confronti, le curve nel loro complesso forniscono indicazioni sull'omogeneità del lotto: a tal proposito, il comportamento nelle Prove 8 e 9 è molto simile, siccome le due curve sono pressoché sovrapposte. Allo stesso tempo, però, esse mostrano una progressiva diminuzione di pendenza nella porzione finale: tale variazione può essere interpretata come una lieve riduzione dell'omogeneità del

lotto. Se la sublimazione, ad esempio, risulta conclusa solo in alcuni flaconi, i cambiamenti nella composizione del gas in camera (responsabili dello scostamento tra  $P_i$  e  $B_a$ ) sono dovuti unicamente ai flaconi rimanenti: la camera, quindi, si arricchirà di vapore acqueo più lentamente. Alla luce di quanto esposto in merito alle prove condotte con *IceFog*, al di là dell'incertezza e della variabilità sperimentale, l'intervallo di valori considerati può non essere tale da indurre una variazione apprezzabile di durata al variare della temperatura di nucleazione.



**Figura 3.3:** rapporto  $P_i/B_a$  per le prove condotte in modalità *IceFog* con nucleazione a  $-3^{\circ}\text{C}$  e a  $-7^{\circ}\text{C}$  al variare della concentrazione di saccarosio (5% o 10% w/w)

Un ulteriore confronto può essere effettuato tra Prova 1 e Prova 10 (Figura 3.4). La modalità di congelamento adottata è la stessa (rampa a  $-50^{\circ}\text{C}$ ), ma le apparecchiature utilizzate sono diverse (MicroFD nella 1, REVO nella 10).



**Figura 3.4:** rapporto  $P_i/B_a$  per le Prove 1 (MicroFD) e 10 (REVO), eseguite con rampa a  $-50^{\circ}\text{C}$



In Figura 3.4 si può osservare che:

- il valore asintotico iniziale del rapporto  $Pi/Ba$  è diverso (in tutte le Prove 1-9 era invariato);
- nel tratto discendente le due curve sono all'incirca parallele, lasciando presupporre un'omogeneità confrontabile;
- la prova condotta nel REVO si è rivelata più breve rispetto a quella eseguita nel MicroFD.

Nel confrontare le due curve, però, bisogna tener conto del fatto che tali prove sono state condotte in due apparecchiature diverse. Nel presente lavoro di Tesi non sono state eseguite prove mirate ad approfondire la scalabilità del processo in termini di durata ed omogeneità, pertanto il confronto tra le curve in Figura 3.4 è puramente qualitativo.

In Figura 3.5 sono rappresentati i profili termici del LyoSim® nelle Prove 1-9 (più precisamente, si tratta solo dei primi 450 minuti di essiccamento primario). Le curve in essa presenti hanno una duplice funzione:

- mostrare l'effettiva temperatura del LyoSim® in funzione del tempo;
- ricavare, indirettamente, la media delle temperature misurate dalle 4 termocoppie utilizzate: l'offset del LyoSim® è stato impostato a  $-3^{\circ}\text{C}$ , pertanto la differenza tra temperatura media e temperatura del LyoSim® è pari a  $3^{\circ}\text{C}$ .

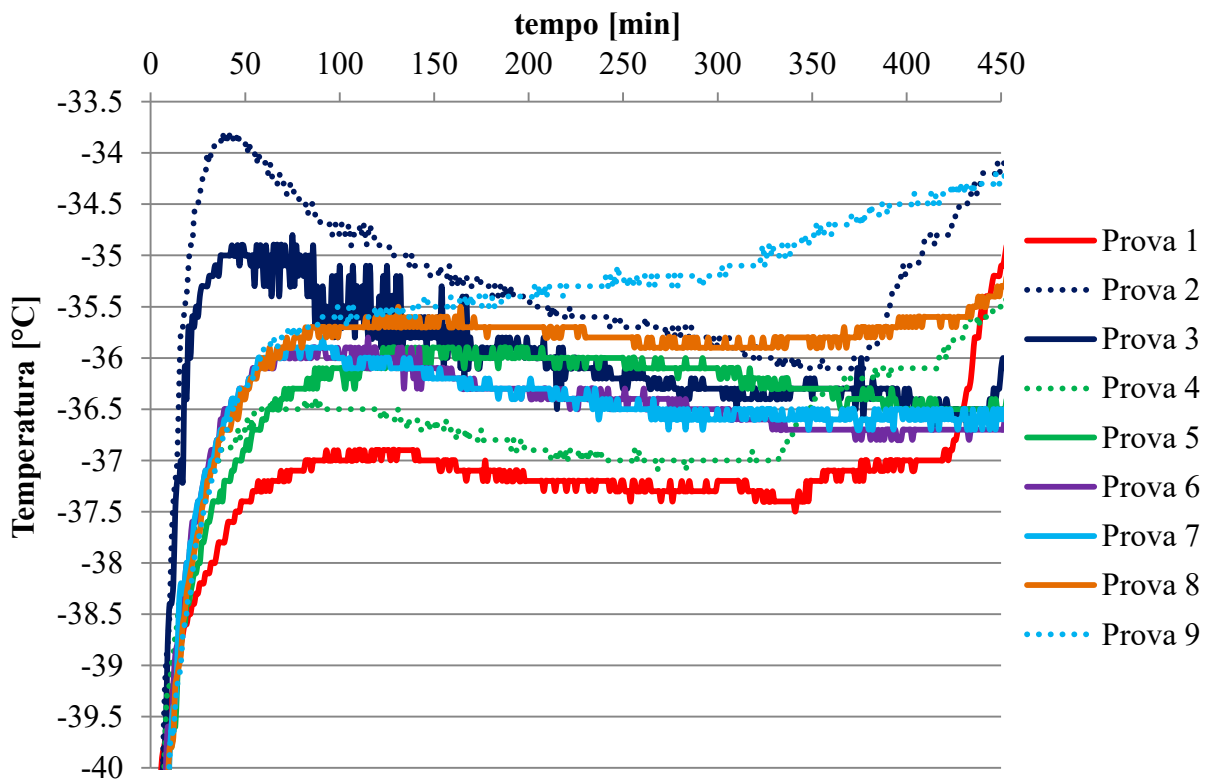


Figura 3.5: profili termici del LyoSim® nelle Prove 1-9

Come si può osservare in Figura 3.5, i *plateau* dei profili termici sono pressoché sovrapposti: alla luce di ciò, si può dedurre che in tutte le prove il contributo del LyoSim® ai fenomeni di scambio termico è all'incirca lo stesso.

Nella Tabella 3.2 sono riportati i valori asintotici di temperatura in ciascuno dei flaconi monitorati, per ognuna delle Prove 1-9. Come si potrà constatare nei paragrafi successivi,

ragionare sui valori asintotici semplifica i calcoli e permette di comprendere ciò che avviene nel sistema in modo più immediato. Sempre in quest'ottica, essendo lo *shelf* impostato a  $-10^{\circ}\text{C}$  per tutta la durata dell'essiccamento primario (ad eccezione solo dei primissimi minuti), sfruttando i valori presenti in Tabella 3.2 è possibile calcolare le forze spingenti asintotiche ripiano-prodotto: i risultati sono consultabili in Tabella 3.3. In merito alla Prova 10, le stesse informazioni (temperature e forze spingenti asintotiche) sono contenute in Tabella 3.4.

**Tabella 3.2:** valori asintotici di temperatura per le 4 termocoppie nelle prove 1-9

<b><i>T</i> asintotica</b>		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>TP4</b>	<b>°C</b>	-36.1	-32.7	-34.2	-35.3	-33.7	-34.1	-33.8	-32.8	-32.2
<b>TP5</b>		-33.4	-33.0	-33.4	-33.1	-33.3	-32.9	-32.9	-32.8	-32.6
<b>TP6</b>		-34.4	-34.0	-32.3	-34.6	-33.1	-33.9	-33.7	-32.2	-31.5
<b>TP7</b>		-34.0	-33.9	-33.5	-33.7	-33.6	-33.9	-33.5	-32.2	-31.6

**Tabella 3.3:** valori asintotici di forza spingente (tra ripiano e prodotto) nelle prove 1-9

<b><math>\Delta T</math> asintotica</b>		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>TP4</b>	<b>°C</b>	26.1	22.7	24.2	25.3	23.7	24.1	23.8	22.8	22.2
<b>TP5</b>		23.4	23.0	23.4	23.1	23.3	22.9	22.9	22.8	22.6
<b>TP6</b>		24.4	24	22.3	24.6	23.1	23.9	23.7	22.2	21.5
<b>TP7</b>		24.0	23.9	23.5	23.7	23.6	23.9	23.5	22.2	21.6
<b>Durata</b>	<b>min</b>	<b>1601</b>	<b>1342</b>	<b>1750</b>	<b>1163</b>	<b>1553</b>	<b>1141</b>	<b>1090</b>	<b>1191</b>	<b>1142</b>

**Tabella 3.4:** valori asintotici di temperatura e di forza spingente per le 3 termocoppie nella Prova 10

		<b>TP1</b>	<b>TP2</b>	<b>TP3</b>
<b><i>T</i> asintotica</b>	<b>°C</b>	-32.2	-32.6	-32.5
<b><math>\Delta T</math> asintotica</b>		22.2	22.6	22.5
<b>Durata</b>	<b>min</b>	<b>1226</b>		

Tenendo conto dell'incertezza di misura delle termocoppie (all'incirca pari a  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), le temperature e le forze spingenti asintotiche sono da considerarsi relativamente uniformi. Come si potrà constatare nelle sezioni successive, però, differenze apparentemente trascurabili nelle misurazioni possono tradursi in incertezze di maggior entità nell'esecuzione dei calcoli.

### 3.1.2 Rielaborazione dei dati

#### 3.1.2.1 Ulteriore analisi delle durate del processo

Partendo dalle curve  $P_i/B_a$  (presenti nelle Figure 3.1, 3.3 e 3.4) è possibile determinare la durata dell'essiccamento primario individuando i punti di *onset*, *middle point* e *offset*. I risultati sono riportati in Tabella 3.5.

**Tabella 3.5:** calcolo della durata dell'essiccamento primario mediante i criteri di *Onset*, *Offset*, *Middle Point* e differenza *Pi-Ba*

		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Onset</b>	<b>min</b>	981	909	1089	859	940	754	801	798	807	815
<b>Middle point</b>		1209	1066	1476	978	1222	879	906	861	872	985
<b>Offset</b>		1438	1222	1863	1097	1504	1005	1011	924	937	1155
<b>Pi-Ba</b>		1601	1342	1888	1163	1553	1141	1090	1191	1142	1226

È importante precisare che ognuno dei valori riportati in Tabella 3.5 è soggetto ad un'incertezza non trascurabile: i punti di *onset*, *middle point* e *offset*, infatti, sono individuati attraverso una procedura puramente grafica. Inoltre, il rumore di misura rende ancora più complessa l'individuazione degli asintoti orizzontali (a inizio e fine curva) e della retta tangente alla curva stessa. Nonostante le incertezze appena descritte, confrontare tali durate permette un'analisi ancora più attenta delle prove effettuate. I valori presenti in Tabella 3.5 permettono una trattazione maggiormente quantitativa del concetto di uniformità del lotto: in ciascuna prova, infatti, minore è la distanza tra *onset*, *middle point* e *offset* e maggiore è l'omogeneità del *batch*. Si può riscontrare quanto appena descritto soprattutto nelle Prove 6, 7, 8 e 9, tutte condotte con tecnica *IceFog*. Nelle Prove 8 e 9 si può anche osservare una considerevole distanza tra *offset* e durata calcolata mediante il criterio " $P_i-B_a = 5$  mTorr": come spiegato nella sezione 3.1.1, essa può essere dovuta al fatto che in alcuni flaconi il processo di sublimazione si conclude in tempi più celeri.

#### 3.1.2.2 Confronto tra i valori di $K_V$

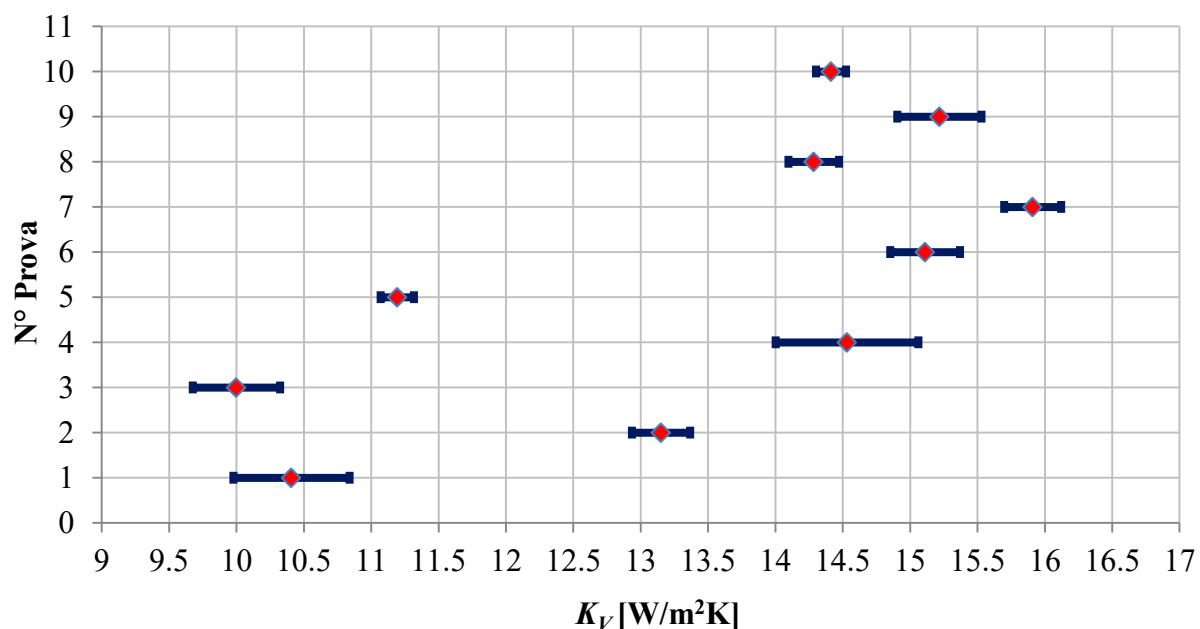
Le prove 1-9 sono state eseguite nel MicroFD impostando la pressione in camera a 100 mTorr. Come ampiamente spiegato nel Capitolo 1, il coefficiente di scambio termico  $K_V$  dipende principalmente dalla pressione  $p_c$ . Allo stesso tempo, il suo valore non è influenzato dal prodotto che viene processato o dalla sua concentrazione. Alla luce di ciò, è presumibile ottenere valori di  $K_V$  molto simili nelle varie prove effettuate. Adottando la metodologia di calcolo descritta nel Capitolo 2, si è giunti ai risultati riportati in Tabella 3.6. Si è utilizzata la stessa procedura anche per la Prova 10, condotta nel REVO: i risultati sono consultabili in Tabella 3.7. Per maggior chiarezza, i valori medi di  $K_V$  sono rappresentati graficamente (affiancati dalle rispettive barre d'errore) in Figura 3.6. Prima di analizzare tali risultati, è importante precisare che i valori calcolati relativamente alla Prova 10 sono solo preliminari: i dati sperimentali di tale Prova verranno ulteriormente rielaborati nella parte finale del Capitolo, dopo aver effettuato uno studio più accurato su  $K_V$  e sulla sua scalabilità.

**Tabella 3.6:**  $K_V$  per ogni termocoppia, valori medi e deviazioni standard per le prove condotte nel MicroFD (dalla Prova 1 alla Prova 9)

	$K_V$ (TP4)	$K_V$ (TP5)	$K_V$ (TP6)	$K_V$ (TP7)	$K_V$ medio	DevSt%
	W/m <sup>2</sup> K					%
<b>Prova 1</b>	9.70	10.86	10.50	10.57	<b>10.41</b>	4.15%
<b>Prova 2</b>	13.45	13.26	12.98	12.91	<b>13.15</b>	1.65%
<b>Prova 3</b>	9.62	9.95	10.51	9.92	<b>10.00</b>	3.24%
<b>Prova 4</b>	13.74	15.15	14.40	14.84	<b>14.53</b>	3.64%
<b>Prova 5</b>	11.04	11.30	11.33	11.10	<b>11.19</b>	1.10%
<b>Prova 6</b>	14.88	15.54	15.09	14.93	<b>15.11</b>	1.71%
<b>Prova 7</b>	15.74	16.27	15.78	15.85	<b>15.91</b>	1.33%
<b>Prova 8</b>	14.07	14.13	14.44	14.50	<b>14.29</b>	1.32%
<b>Prova 9</b>	15.04	14.81	15.63	15.39	<b>15.22</b>	2.05%

**Tabella 3.7:**  $K_V$  per ogni termocoppia,  $K_V$  medio e deviazione standard per le prove svolta nel REVO

	$K_V$ (TP1)	$K_V$ (TP2)	$K_V$ (TP3)	$K_V$ medio	DevSt%
	W/m <sup>2</sup> K				%
<b>Prova 10</b>	14.54	14.27	14.43	<b>14.41</b>	0.78%



**Figura 3.6:** rappresentazione dei  $K_V$  medi presenti nelle Tabella 3.6-3.7 e delle relative barre d'errore

Come si può facilmente constatare, contrariamente alle aspettative e ai fenomeni fisici coinvolti, i valori di  $K_V$  ottenuti sono molto diversificati tra loro. Analizzare con attenzione tali risultati è di estrema importanza per le successive analisi: partendo da  $K_V$  è infatti

possibile ottenere  $R_p$ . Per comprendere al meglio i risultati, è necessario analizzare con più attenzione l'espressione 2.2. In essa:

- la quantità di ghiaccio sublimata è sempre pari alla quantità di acqua inizialmente presente (2.85 g o 2.7 g, a seconda della concentrazione di saccarosio);
- l'entalpia di sublimazione e l'area di base del flacone sono costanti non modificabili;
- l'integrale, per semplicità, può essere approssimato al prodotto tra la forza spingente ( $T_S - T_B$ ) e la durata dell'essiccamento primario.

Come approfondito nella sezioni 3.1.1 e 3.1.2.1, la determinazione della durata è estremamente complessa: possono infatti essere utilizzati vari criteri e ognuno di essi, a sua volta, presenta un'incertezza più o meno ampia. L'utilizzo del criterio " $Pi-Ba = 5$  mTorr" è cautelativo: la durata, infatti, non viene mai sottostimata, ma sovrastimata. Una sovrastima della durata, però, può comunque compromettere il calcolo di  $K_V$ : l'aumento del valore dell'integrale implica una riduzione del valore del coefficiente di scambio  $K_V$  calcolato. Nel calcolo, anche la forza spingente ha un ruolo importante: a differenza della durata, però, essa viene misurata istante per istante tramite le termocoppie. L'eventuale disomogeneità del lotto, il rumore di misura, l'incertezza sperimentale della termocoppia e la correzione dei profili termici (la determinazione dei valori asintotici) sono inevitabilmente fonte d'errore e di disomogeneità. Le deviazioni standard nelle singole prove sono relativamente contenute: si può quindi affermare che in ciascuna prova i valori di  $K_V$  ottenuti sono coerenti tra loro. Le incongruenze emergono nel momento in cui si confrontano  $K_V$  ottenuti in prove diverse. Il confronto tra i dati riportati nelle Tabelle 3.3-3.4 con quelli presenti nella Tabelle 3.6-3.7 permette di chiarire quanto spiegato sul connubio "durata - forza spingente". A titolo di esempio, si possono considerare i coefficienti ricavati nelle Prove 5 e 6: le forze spingenti sono molto simili tra loro, ma la grande diversità tra le loro durate (stimate con il criterio " $Pi-Ba = 5$  mTorr") determina valori di  $K_V$  che differiscono di  $4$  W/m<sup>2</sup>K. L'obiettivo della seconda parte di Tesi consiste proprio nell'indagare più a fondo le motivazioni di tale variabilità, sviluppando strumenti per ovviare a questo problema.

### 3.1.2.3 Confronto tra $R_p$ e diffusività effettive

Per praticità, il confronto tra le resistenze ai flussi di vapore  $R_p$  verrà effettuato ragionando sui valori asintotici. Trattandosi di valori asintotici, essi non possono essere rappresentativi del micro-collasso verificatosi nella maggior parte delle prove nei primi istanti dell'essiccamento: a titolo di esempio, nella Figura 3.7 è possibile osservare la resistenza  $R_p$  al variare dello spessore dello strato secco  $L_d$  nei 4 flaconi monitorati durante la Prova 4.

Nella Tabella 3.8 sono riportate le resistenze al flusso di vapore asintotiche per le 9 prove condotte nel MicroFD, mentre in Tabella 3.9 sono presenti gli analoghi risultati per la Prova 10, condotta nel REVO. Per maggior chiarezza, oltre alle resistenze medie, in essa sono riportati anche i valori ottenuti nei singoli flaconi monitorati. Un confronto ancora più immediato può essere osservato in Figura 3.8.

Le curve sperimentali " $R_p$  vs  $L_d$ " possono essere ricondotte all'espressione 1.7, determinando i parametri  $R_{p,0}$ ,  $A$  e  $B$  in modo da minimizzare lo scarto quadratico medio tra  $R_p$  sperimentale ed  $R_p$  teorico. In assenza di micro-collasso lo scostamento tra le due curve è minimo; qualora tale fenomeno sia presente, questa procedura può essere eseguita ugualmente, ma la qualità del *fitting* è inevitabilmente inferiore, soprattutto nella parte iniziale della curva. Nonostante la presenza del micro-collasso, in tutte le prove della prima parte di Tesi i parametri  $R_{p,0}$ ,  $A$  e  $B$  sono stati calcolati, in modo da ricondursi all'espressione 1.8 e ragionare sulle rapporto tra raggio medio dei pori  $r_e$  e tortuosità  $\tau$ . Per brevità e praticità, i

parametri  $R_{p,0}$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $a_0$  e  $a_1$  sono consultabili in apposite tabelle presenti nell'Appendice. Il rapporto  $r_e/\tau$  in funzione dello spessore dello strato secco per le Prove 1-7 è riportato in Figura 3.9, per le Prove 8-9 (confrontate con la 4 e la 7) in Figura 3.10 e per il parallelismo tra la 1 e la 10 in Figura 3.11.

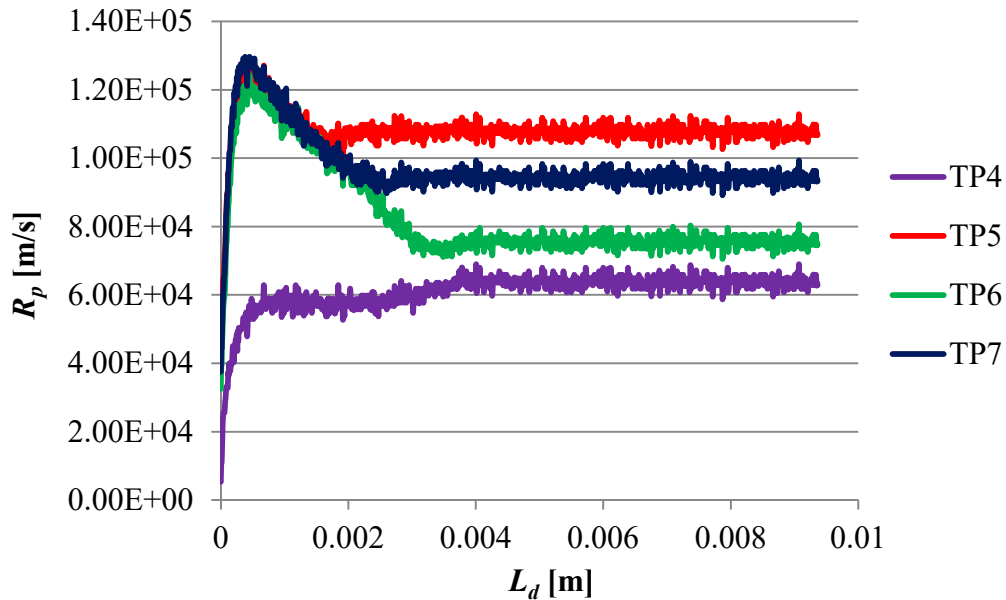


Figura 3.7:  $R_p$  in funzione di  $L_d$  nei 4 flaconi monitorati nella Prova 4

Tabella 3.8:  $R_p$  di ciascun flacone monitorato,  $R_p$  medie e deviazioni standard per le Prove 1-9

	$R_p$ (TP4)	$R_p$ (TP5)	$R_p$ (TP6)	$R_p$ (TP7)	$R_p$ medio	DevSt	DevSt%
	$10^5$ m/s						%
<b>Prova 1</b>	0.69	1.39	1.10	1.22	<b>1.10</b>	0.26	23.7%
<b>Prova 2</b>	1.34	1.26	0.99	1.03	<b>1.16</b>	0.15	12.9%
<b>Prova 3</b>	1.27	1.52	1.89	1.49	<b>1.54</b>	0.22	14.4%
<b>Prova 4</b>	0.64	1.08	0.76	0.94	<b>0.85</b>	0.17	19.8%
<b>Prova 5</b>	1.27	1.37	1.44	1.29	<b>1.34</b>	0.07	5.1%
<b>Prova 6</b>	0.84	1.10	0.88	0.89	<b>0.93</b>	0.10	11.1%
<b>Prova 7</b>	0.87	1.06	0.89	0.93	<b>0.93</b>	0.07	7.9%
<b>Prova 8</b>	1.25	1.25	1.41	1.40	<b>1.33</b>	0.08	5.9%
<b>Prova 9</b>	1.35	(1.25)*	1.53	1.52	<b>1.46</b>	0.08	5.5%

Tabella 3.9:  $R_p$  di ciascun flacone monitorato,  $R_p$  media e deviazione standard per la Prova 10

	$R_p$ (TP1)	$R_p$ (TP2)	$R_p$ (TP3)	$R_p$ medio	DevSt	DevSt%
	$10^5$ m/s					%
<b>Prova 10</b>	1.38	1.28	1.29	<b>1.32</b>	0.04	3.36%

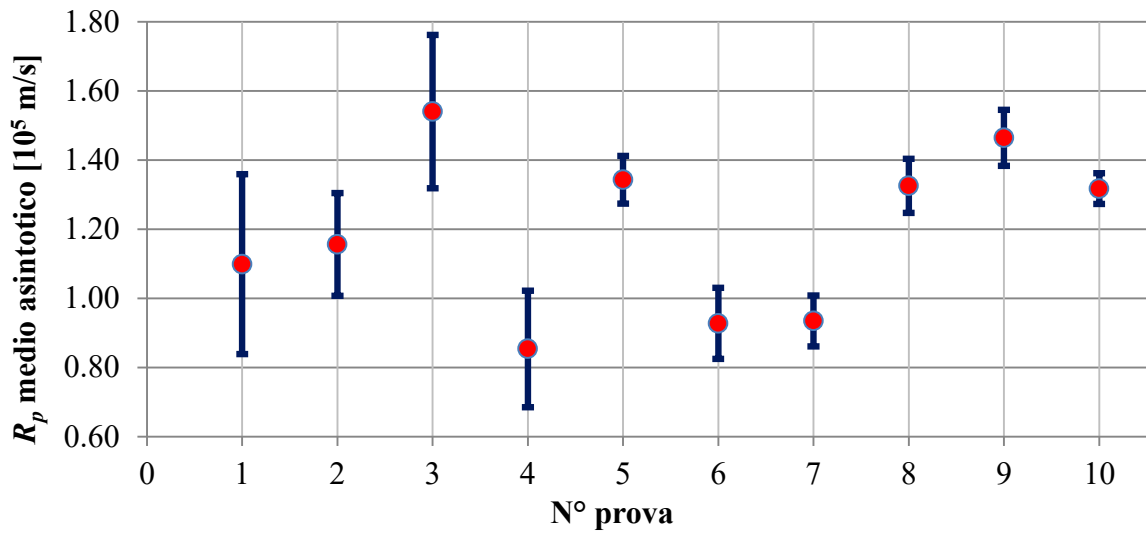


Figura 3.8: resistenze al flusso di vapore medie asintotiche e relative barre d'errore per le Prove 1-10

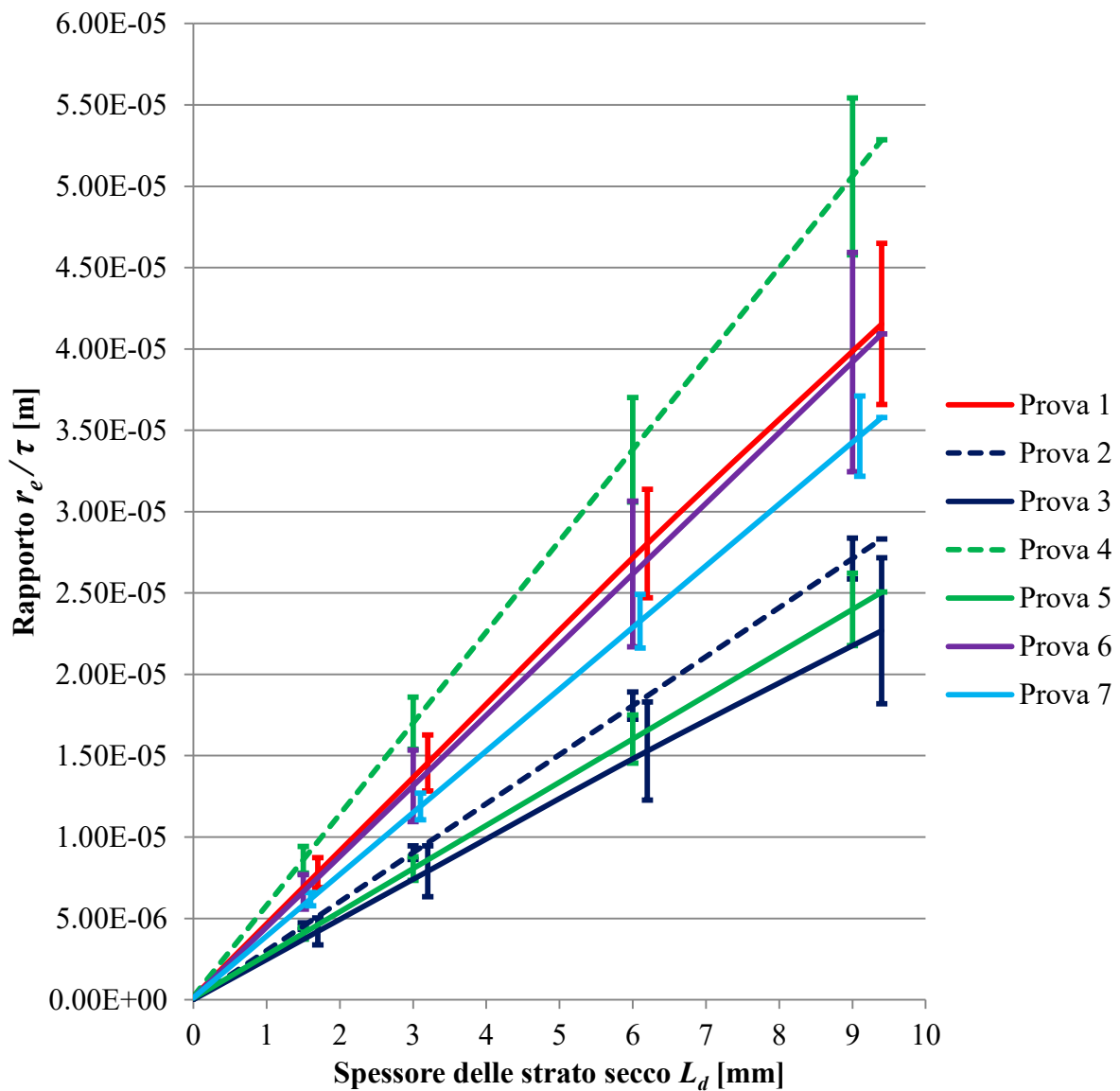


Figura 3.9: rapporto  $r_e/\tau$  in funzione di  $L_d$  per le Prove 1-7

Le resistenze al flusso di vapore  $R_p$  e il rapporto  $r_e/\tau$  (correlato alla diffusività effettiva  $D_e$ , in accordo all'espressione 2.8) sono strettamente connessi tra loro. Proprio per questo motivo, le Tabelle 3.8-3.9 e le Figure 3.8-3.9-3.10-3.11 verranno commentate parallelamente: come si potrà notare, in generale entrambi gli approcci porteranno alle stesse conclusioni, ma in altri casi sarà necessario effettuare considerazioni differenti.

Prima di confrontare criticamente tutti i risultati è necessario precisare che ognuno di essi è soggetto ad un'incertezza derivante dalla metodologia di calcolo: l'indeterminazione sulla durata implica un'incertezza nel valore di  $K_V$ , la quale a sua volta determina una sovrastima/sottostima di  $R_p$ . Inoltre, come appena spiegato, la presenza del micro-collasso fa diminuire l'attendibilità dei parametri  $R_{p,0}$ ,  $A$  e  $B$ , con conseguente ripercussione sulla stima di  $a_0$  e  $a_1$ , nonché sul rapporto  $r_e/\tau$ .

Contrariamente alle aspettative, la resistenza media al flusso di vapore nella Prova 1 è minore rispetto alla Prova 2. Confrontando le curve  $Pi/Ba$  in Figura 3.1, si è osservato che l'*annealing* lungo contribuisce a diminuire la durata dell'essiccamento primario e a rendere la sublimazione più uniforme nel lotto. Siccome nella Prova 2 si verifica la maturazione di Ostwald, i cristalli di ghiaccio sono mediamente più grandi rispetto a quelli presenti nella Prova 1: ciò implica un raggio medio dei pori più elevato e una minor tortuosità dello strato secco. Alla luce di ciò, nella Prova 1 ci si aspetterebbe una maggior resistenza al flusso di vapore e una minor diffusività effettiva. Come si può osservare, però, i risultati ottenuti sono contrari alle aspettative:  $R_p$  medio nella Prova 1 è minore rispetto alla Prova 2 e la pendenza della retta " $r_e/\tau$  vs  $L_d$ " è maggiore. Analizzando con più attenzione i risultati si può però osservare una banda d'errore relativamente ampia: in Figura 3.8 emerge chiaramente che i due *range* sono pressoché sovrapposti. Questa incongruenza tra i risultati e le aspettative (basate sui fenomeni fisici in gioco) fornisce lo spunto per un'importante osservazione, utile a confrontare ancora più criticamente tutte le prove effettuate. La forma delle curve  $Pi/Ba$  dipende dal comportamento dei flaconi costituenti l'intero lotto: la pressione misurata dalla sonda Pirani si discosta, infatti, da quella ottenuta col manometro capacitivo Baratron® in relazione alla quantità di vapore acqueo complessivamente presente in camera. I valori di  $R_p$  ed  $r_e/\tau$  (o  $D_e$ ) calcolati, invece, si riferiscono solo ai 4 flaconi per i quali è stata monitorata la temperatura: in altri termini, con i dati a disposizione non è possibile determinare tali parametri negli altri 15 flaconi. È dunque importante essere consapevoli che i risultati presenti nelle Tabelle 3.8-3.9 e nelle Figure 3.8-3.9-3.10-3.11 vengono considerati come rappresentativi dell'intero lotto, senza però esserlo a tutti gli effetti: si tratta, appunto, di un'approssimazione. Al contrario, invece, le curve presenti nelle Figure 3.1-3.3-3.4 sono effettivamente rappresentative del *batch* nel suo complesso.

Il confronto tra Prova 2 e Prova 3 è coerente su tutti i fronti analizzati (durata,  $R_p$  e  $D_e$ ). Rispetto alla Prova 2, nella Prova 3 la minor forza spingente e il minor tempo di permanenza alla temperatura di *annealing* implicano la presenza di cristalli mediamente più piccoli, dai quali si originano pori di dimensioni ridotte e uno strato secco ad elevata tortuosità. Nelle condizioni appena descritte, la fuoriuscita del vapore acqueo dallo strato secco è ostacolata, pertanto la resistenza  $R_p$  media è maggiore e la diffusività effettiva è minore (la pendenza della retta  $r_e/\tau$  in Figura 3.9 è più bassa, a fronte di pori più piccoli e tortuosità più marcata). Seppur la deviazione standard percentuale sia simile, dalla Tabella 3.8 e dalla Figura 3.8 è possibile notare che l'*annealing* lungo permette di ottenere un lotto più uniforme: questa osservazione, inoltre, trova riscontro nelle curve  $Pi/Ba$  commentate in precedenza. Utilizzando l'approccio delle diffusività effettive, le barre d'errore nella Prova 3 sono maggiori (Figura 3.9), determinando così una parziale sovrapposizione con la retta della Prova 2: nonostante questo, come già detto i valori medi rispecchiano le aspettative.



Contrariamente ai confronti effettuati finora, le differenze tra Prova 4 e Prova 5 sono nette. In entrambi i casi la nucleazione è stata condotta a  $-3^{\circ}\text{C}$ , pertanto si ragiona a parità di temperatura di nucleazione. Come spiegato in precedenza, la differenza consiste nella modalità utilizzata: la Prova 4, infatti, è stata eseguita con tecnica *IceFog*, la Prova 5 no. Analizzando  $R_p$  ed  $r_e/\tau$  si può affermare che la tecnica *IceFog* permette di ottenere cristalli di maggiori dimensioni, una minor tortuosità dello strato secco e, di conseguenza, una sublimazione più celere, una resistenza  $R_p$  minore e una diffusività effettiva maggiore. Le deviazioni standard di  $R_p$  e  $r_e/\tau$  sono più elevate nella Prova 4, in apparente contrasto a quanto affermato commentando le curve  $Pi/Ba$ : in questo caso è utile ricordare che tali curve sono rappresentative dell'intero lotto (formato da 19 flaconi), mentre  $R_p$  ed  $r_e/\tau$  si riferiscono solo a 4 di essi. Le due rette in Figura 3.9 sono nettamente distinte tra loro, senza alcuna sovrapposizione.

Le Prove 4, 6 e 7 permettono di confrontare l'effetto della temperatura di nucleazione (rispettivamente pari a  $-3^{\circ}\text{C}$ ,  $-5^{\circ}\text{C}$  e  $-7^{\circ}\text{C}$ ) utilizzando la tecnica *IceFog*. All'aumentare del grado di sottoraffreddamento (al diminuire della temperatura di nucleazione), si formano cristalli di ghiaccio più numerosi ma più piccoli, con conseguente incremento della resistenza al flusso di vapore e diminuzione della diffusività effettiva. Ragionando unicamente sui valori medi in Tabella 3.8, in accordo alle aspettative si nota un aumento di  $R_p$  dalla Prova 4 alla Prova 6; allo stesso tempo, però, non si notano cambiamenti passando dalla 6 alla 7. Per comprendere meglio ciò che accade può essere utile confrontare tra loro i singoli flaconi: passando dalla Prova 4 alla Prova 6, l'unico flacone in cui  $R_p$  diminuisce è quello in cui è inserita TP7, mentre passando dalle Prova 6 alla Prova 7  $R_p$  si riduce solamente nel flacone contenente TP5. In alcuni flaconi, inoltre, l'aumento è più marcato, in altri più contenuto: alle incertezze descritte in precedenza, si unisce un grado di disuniformità insita nel sistema. Le deviazioni standard percentuali delle Prove 6 e 7 sono tendenzialmente inferiori (rispetto, ad esempio, alle Prove 1, 2 e 3): come già ribadito, questa informazione riguarda unicamente i 4 flaconi monitorati, non l'intero lotto. L'approccio delle diffusività effettive, invece, fornisce risultati diversi: all'aumentare del grado di sottoraffreddamento si ha una progressiva riduzione della pendenza della retta " $r_e/\tau$  vs  $L_d$ ", associata a pori sempre più piccoli e tortuosità più elevate. Le barre d'errore sono abbastanza ampie: in particolare, il *range* della Prova 7 è sovrapposto a quello della 6, ma nonostante ciò i valori medi sono in linea con le aspettative.

Le Prove 8 e 9 sono state condotte, rispettivamente, nelle medesime condizioni operative delle Prove 4 e 7, utilizzando però una soluzione di saccarosio al 10% w/w. Una maggior concentrazione di saccarosio implica, a parità di volume di riempimento, una minor quantità di acqua presente in ogni flacone. Tale differenza comporta la formazione di un minor volume di ghiaccio e, di conseguenza, una minor porosità dello strato secco. Alla luce di ciò, in queste condizioni si prevede un aumento della resistenza media  $R_p$ . I risultati mostrati in Tabella 3.8 e in Figura 3.8 sono dunque concordi alle aspettative: più precisamente, si osserva un incremento di  $R_p$  nella Prova 8 rispetto alla sua omologa 4 e, analogamente, nella Prova 9 rispetto alle 7. In accordo a ciò, in Figura 3.10 si può constatare che la pendenza della retta " $r_e/\tau$  vs  $L_d$ " si riduce all'aumentare della concentrazione di saccarosio.

Come descritto nella sezione 3.1.1, nella Prova 9 si è verificata un'anomalia: nel flacone contenente TP5 la nucleazione ha avuto inizio prima dell'avvio del *FreezeBooster*<sup>®</sup>. In linea di principio, la stessa situazione può essersi verificata in altri flaconi (non monitorati): i dati a disposizione non sono sufficienti per stabilirlo. Per non falsare la discussione su  $R_p$  e sulla diffusività effettiva, il flacone contenente TP5 non è stato considerato ai fini della resistenza media (l'asterisco in Tabella 3.8 indica l'esclusione del flacone in questione). Allo stesso tempo, però, è interessante soffermarsi sul valore di  $R_p$  asintotico del flacone escluso. Come

mostrato in Figura 3.2, in esso la nucleazione è avvenuta a temperature più elevate rispetto ai flaconi contenenti TP6 e TP7: per i principi fisici ripetutamente descritti, si hanno pori più grandi e una minor resistenza al flusso di vapore. Il confronto tra il flacone “escluso” e gli altri è, dunque, un’ulteriore conferma di questo fenomeno.

Per quanto riguarda il confronto diretto tra la Prova 8 e la Prova 9, si può affermare che tutti i risultati sono concordi alle aspettative: al diminuire della temperatura di nucleazione si osserva, infatti, un incremento di  $R_p$  e una riduzione del rapporto  $r_e/\tau$ .

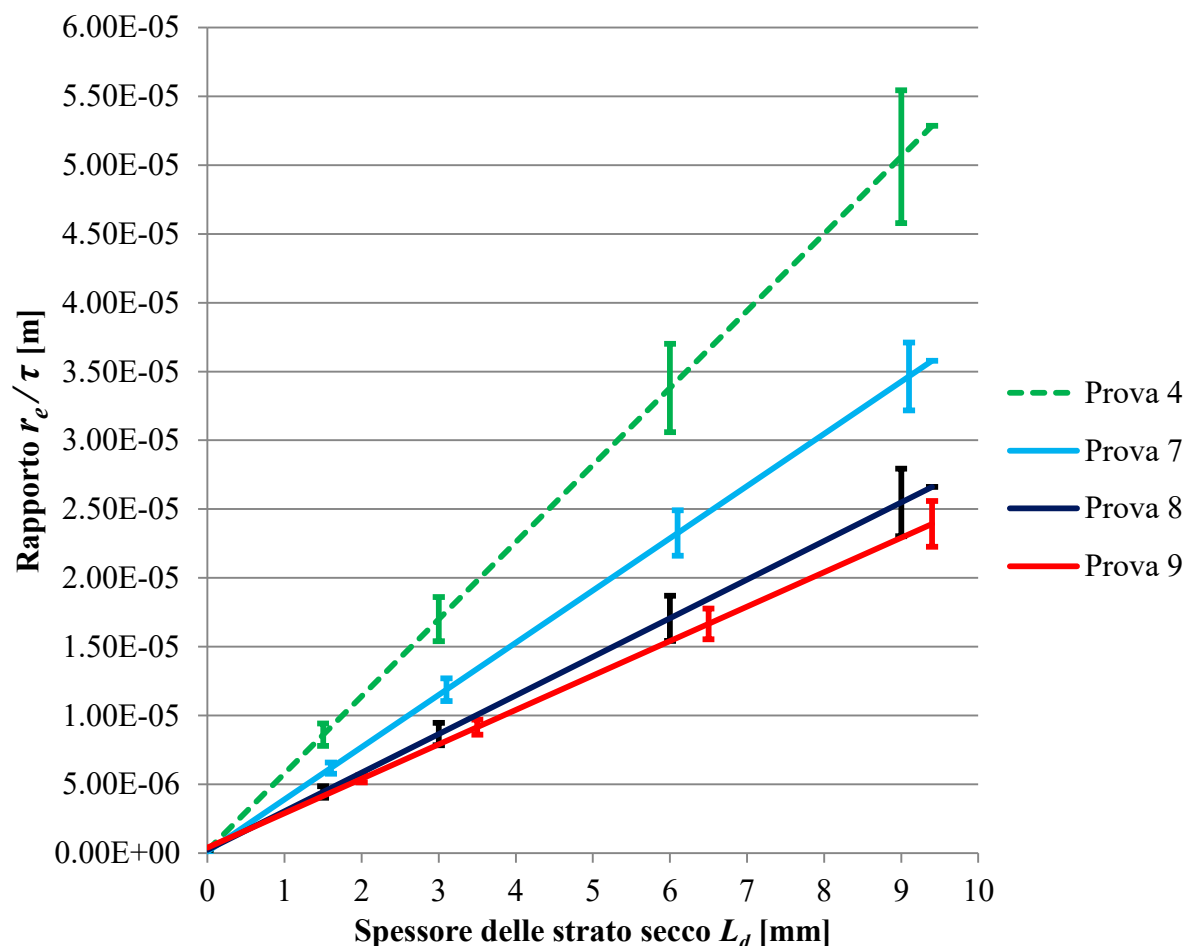
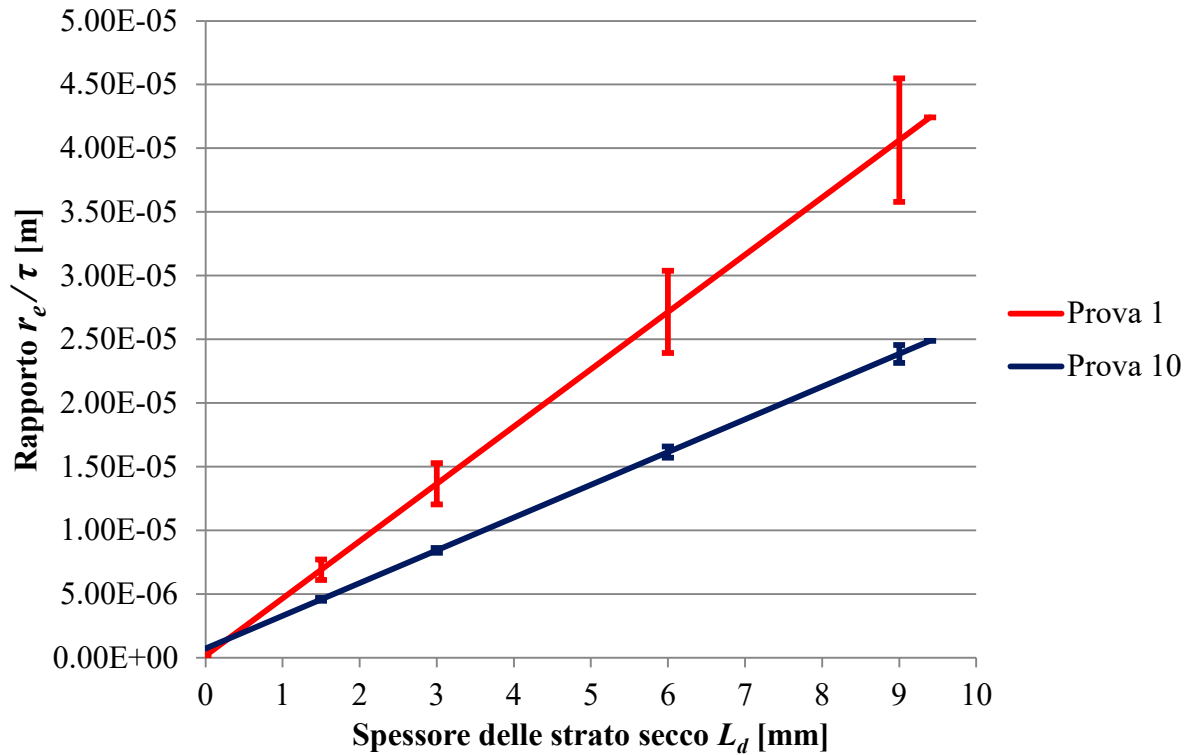


Figura 3.10: rapporto  $r_e/\tau$  in funzione di  $L_d$  per le Prove 4, 7, 8 e 9

In conclusione, è interessante soffermarsi sul confronto tra Prova 1 e Prova 10: la modalità di congelamento è la stessa, ma l’apparecchiatura è differente. Analizzando i risultati presenti in Tabella 3.8 e visualizzandoli graficamente in Figura 3.8, si può notare che la resistenza media asintotica è maggiore all’interno dei flaconi processati nel REVO. Allo stesso tempo, però, la barra d’errore nei prodotti ottenuti nel REVO è estremamente ridotta (in seguito all’uniformità del lotto), mentre l’incertezza sui risultati della Prova 1 è molto elevata. Limitatamente ai due test eseguiti, i risultati della Prova 10 sono compatibili con quelli della Prova 1, a parità di modalità di congelamento, ma operando su scale differenti. Le due rette in Figura 3.11, invece, sono in contrasto con quanto appena descritto: esse, infatti, sono nettamente separate. Alla luce dei risultati esposti nella prossima sezione (3.2), nella parte conclusiva di questo Capitolo si ragionerà ulteriormente su questi concetti, fornendo spunti di riflessioni per nuovi studi.



**Figura 3.11:** rapporto  $r_e/\tau$  in funzione di  $L_d$  per le Prove 1 e 10

### 3.2 Seconda parte

#### 3.2.1 Dati sperimentali

In Tabella 3.10 sono riportati i principali dati sperimentali dei 3 test gravimetrici condotti nel REVO all'inizio della seconda parte di Tesi.

**Tabella 3.10:** principali dati sperimentali delle Prove A, B e C (eseguite nel REVO)

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
$p_c$	<b>mTorr</b>	50	100	200
<i>durata</i>	<b>min</b>	194	186	140
$\Delta m$	<b>g</b>	0.6158	0.6802	0.5624
<b>TP1 asintotica</b>	<b>°C</b>	-42.4	-37.6	-32.3
<b>TP2 asintotica</b>		-43.1	-38.4	-31.9
<b>TP3 asintotica</b>		-42.4	-37.5	-31.8

L'aumento di pressione implica un incremento della conducibilità termica del gas presente in camera: in altri termini, a pressioni più elevate si ha un maggior trasporto di calore, nonché una sublimazione più intensa. Come si può constatare dalla Tabella 3.10, a fronte di un aumento di pressione di 50 mTorr, la variazione media di massa aumenta (da 0.6158 g a 0.6802 g). I valori di  $\Delta m$ , però, devono sempre essere relazionati alla durata del test

gravimetrico: mentre le Prove A e B hanno durata molto simile, a 200 mTorr il test è più breve e, di conseguenza, anche la variazione media di massa è più contenuta.

All'aumentare della pressione in camera, la temperatura a cui si verifica la sublimazione aumenta, in accordo con la dipendenza della tensione di vapore dalla temperatura. Seppur non rappresentati, i profili termici in questione raggiungono celermente il valore asintotico.

Per quanto riguarda i test gravimetrici svolti nel MicroFD, in Tabella 3.11 sono riportate le variazioni di massa utili per i successivi calcoli (quelle medie nei due *layer* e quelle in alcuni flaconi singoli). Allo stesso modo, in Tabella 3.12 è possibile consultare le temperature asintotiche (quelle medie e quelle dei flaconi per i quali è stata monitorata).

**Tabella 3.11:**  $\Delta m$  dei flaconi monitorati,  $\Delta \bar{m}$  e relativa deviazione standard %, per i test nel MicroFD

	$\Delta \bar{m}_1$	$\Delta \bar{m}_2$	$\Delta m_1$	$\Delta m_{15}$	$\Delta m_{18}$	$\Delta m_{19}$	$DvSt_1\%$	$DvSt_2\%$	Durata
	g						%	%	min
<b>A1</b>	<b>1.0652</b>	<b>0.7603</b>	1.1474	0.7413	0.7870	0.7586	8.71	2.82	<b>195</b>
<b>A2</b>	<b>1.0524</b>	<b>0.7437</b>	1.1002	0.7423	0.7692	0.7441	6.64	1.82	<b>195</b>
<b>A3</b>	<b>1.0821</b>	<b>0.7474</b>	1.2152	0.7396	0.7853	0.7354	7.24	3.02	<b>195</b>
<b>B1</b>	<b>1.2027</b>	<b>0.8880</b>	1.3122	0.9218	0.8791	0.8188	7.20	4.30	<b>195</b>
<b>B2</b>	<b>1.2584</b>	<b>0.9193</b>	1.2489	0.9349	0.9565	0.9755	6.92	4.62	<b>195</b>
<b>B3</b>	<b>0.9276</b>	<b>0.6055</b>	1.0015	0.6014	0.6296	0.6221	8.12	4.00	<b>135</b>
<b>C1</b>	<b>1.2785</b>	<b>0.9556</b>	1.3923	0.9523	0.9782	0.9417	7.17	1.48	<b>189</b>
<b>C2</b>	<b>0.9877</b>	<b>0.6565</b>	1.0734	0.6273	0.6898	0.6428	9.56	3.83	<b>135</b>
<b>C3</b>	<b>1.0310</b>	<b>0.6199</b>	1.1229	0.6219	0.6757	0.5594	6.49	6.88	<b>135</b>

**Tabella 3.12:** temperature asintotiche dei flaconi monitorati e dei due *layer* (medie)

	TP3 (7)	TP7 (1)	TP4 (15)	TP5 (19)	TP6 (18)	$\bar{T}_1$	$\bar{T}_2$
	°C						
<b>A1</b>	-43.0	-41.0	-43.1	-42.6	-42.4	<b>-42.0</b>	<b>-42.7</b>
<b>A2</b>	-41.9	-41.7	-43.1	-42.7	-42.3	<b>-41.8</b>	<b>-42.7</b>
<b>A3</b>	-42.0	-41.2	-43.5	-42.6	-42.4	<b>-41.6</b>	<b>-42.8</b>
<b>B1</b>	-37.8	-36.5	-38.0	-37.7	-37.6	<b>-37.1</b>	<b>-37.8</b>
<b>B2</b>	-37.1	-36.4	-38.3	-37.4	-37.4	<b>-36.8</b>	<b>-37.7</b>
<b>B3</b>	-36.9	-36.2	-37.9	-37.3	-37.3	<b>-36.6</b>	<b>-37.5</b>
<b>C1</b>	-31.7	-30.8	-32.5	-31.3	-31.5	<b>-31.3</b>	<b>-31.8</b>
<b>C2</b>	-32.1	-30.9	-32.9	-31.2	-31.6	<b>-31.5</b>	<b>-31.9</b>
<b>C3</b>	-32.3	-30.8	-32.6	-32.2	-31.4	<b>-31.6</b>	<b>-32.1</b>

Anche in questo caso, per una corretta interpretazione dei risultati è fondamentale associare le durate alle variazioni di massa. Adottando questo approccio, a fronte di un aumento di pressione, si riscontra un incremento della quantità di ghiaccio sublimata. In accordo alla fisica del sistema, a parità di pressione, un aumento dell'*offset* del LyoSim® dovrebbe implicare un incremento di temperatura nei flaconi esterni e, di conseguenza, una variazione di massa superiore. Osservando le Tabelle 3.11 e 3.12 si può però notare che i dati spesso non rispecchiano tali aspettative. A titolo di esempio è possibile confrontare le Prove C2 e C3 (entrambe condotte a 200 mTorr e aventi la stessa durata). Nello specifico:

- le temperature medie di entrambi i *layer* nella Prova C3 sono lievemente più basse rispetto a quelle nella Prova C2, nonostante un maggior *offset* del LyoSim®;
- aumentando la temperatura del LyoSim® si nota una certa disuniformità nei flaconi monitorati: i *vial* 1, 15 e 18 (seppur debolmente) si riscaldano, mentre i flaconi 7 e 19 si raffreddano. In alcuni casi le variazioni sono minime (es: 0.20 °C), mentre in altri sono più consistenti (es: 1°C). La presenza del rumore di misura, unita all'incertezza sperimentale delle termocoppie, complica inevitabilmente l'interpretazione dei risultati;
- il flacone 18, nonostante subisca un lieve aumento di temperatura, manifesta una riduzione di  $\Delta m$ . Anche in questo caso, il rumore di misura e le incertezze sperimentali hanno un ruolo importante.

Nei 9 test gravimetrici eseguiti, la temperatura del flacone 7 risulta sempre essere più simile a quelle del blocco centrale, rispetto alla temperatura del flacone 1.

Ragionamenti analoghi (in accordo o contrari alle aspettative) possono essere eseguiti combinando altre prove presenti nelle Tabelle 3.11 e 3.12. L'analisi di questi dati (condotta seguendo l'approccio spiegato) è fondamentale per valutare la fattibilità di studi che implicino l'utilizzo contemporaneo di dati ottenuti mediante prove diverse.

## 3.2.2 Rielaborazione dei dati

### 3.2.2.1 Quantificazione dei flussi termici nel MicroFD

In Tabella 3.13 sono riportati i coefficienti di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$  ricavati nelle Prove A, B e C (ottenuti adottando le metodologie di calcolo descritte nel Capitolo 2).

**Tabella 3.13:** coefficienti di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$  ottenuti dalle prove A, B e C

		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>TP1</b>	<b>W/m<sup>2</sup>K</b>	14.57	18.76	25.70
<b>TP2</b>		14.14	18.26	25.64
<b>TP3</b>		14.56	18.88	26.09
<b><math>K_V</math> medio</b>		<b>14.42</b>	<b>18.63</b>	<b>25.81</b>
<b>DevSt</b>		0.20	0.27	0.20
<b>DevSt%</b>		<b>%</b>	1.40%	1.44%

I 22 flaconi per i quali si è misurata la variazione di massa e i 3 flaconi nei quali sono state collocate le termocoppie sono in posizione centrale: le deviazioni standard estremamente

contenute denotano un'elevata uniformità della parte centrale del lotto. All'aumentare della pressione si può osservare un incremento di  $K_V$ , in accordo a quanto affermato in precedenza sull'efficienza dello scambio termico.

Utilizzando i risultati presenti in Tabella 3.13, è possibile ricondursi all'espressione 1.6 e ottenere l'espressione 3.1: inserendo in essa le pressioni in  $\mu\text{bar}$ , si ricavano i valori di  $K_V$  in  $\text{W/m}^2\text{K}$ .

$$K_V(p_c) = 9.6957 + \frac{(7.5201 \cdot 10^{-2})p_c}{1 + (9.1635 \cdot 10^{-4})p_c} \quad (3.1)$$

Sfruttando i valori di  $K_V$  medi presenti in Tabella 3.13 è stato possibile calcolare le quantità di calore scambiate nel MicroFD, in ciascun test gravimetrico, considerando che il calore trasferito dal ripiano al prodotto al fondo del flacone, a parità di flacone e di pressione, sia il medesimo. Per completezza, in Tabella 3.14 sono riportate le quantità di calore totali. In Tabella 3.15, invece, sono rappresentati i flussi termici, ottenuti rapportando le quantità di calore alla durata dei singoli test: siccome le prove hanno durate differenti, il confronto tra i flussi è più significativo.

**Tabella 3.14** quantità di calore scambiate nel MicroFD, in ciascun test gravimetrico

	$Q_{int}$	$Q_{BASE,int}$	$Q_{LAT,int}$	$Q_{est}$	$Q_{BASE,est}$	$Q_{LyoSim}$
	<b>J</b>					
<b>A1</b>	14302	11382	2919	34353	19089	18183
<b>A2</b>	13990	11258	2733	33938	18821	17850
<b>A3</b>	14059	11196	2864	34896	18551	19209
<b>B1</b>	16706	12944	3762	38785	21690	20856
<b>B2</b>	17294	12827	4467	40582	21317	23732
<b>B3</b>	11391	8535	2856	29914	14204	18566
<b>C1</b>	17977	13765	4212	41231	23119	22324
<b>C2</b>	12350	9814	2537	31852	16496	17892
<b>C3</b>	11661	9695	1966	33249	16239	18977

**Tabella 3.15:** flussi termici in ciascun test gravimetrico condotto nel MicroFD

		<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>
<b>W</b>	$\dot{Q}_{int}$	1.22	1.20	1.20	1.43	1.48	1.41	1.59	1.52	1.44
	$\dot{Q}_{BASE,int}$	0.97	0.96	0.96	1.11	1.10	1.05	1.21	1.21	1.20
	$\dot{Q}_{LAT,int}$	0.25	0.23	0.24	0.32	0.38	0.35	0.37	0.31	0.24
	$\dot{Q}_{est}$	2.94	2.90	2.98	3.31	3.47	3.69	3.64	3.93	4.10
	$\dot{Q}_{BASE,est}$	1.63	1.61	1.59	1.85	1.82	1.75	2.04	2.04	2.00
	$\dot{Q}_{LyoSim}$	1.55	1.53	1.64	1.78	2.03	2.29	1.97	2.21	2.34

Riferendosi alla Tabella 3.15 si può constatare che:

- in linea generale, i flussi di calore legati al processo di sublimazione ( $\dot{Q}_{int}$  e  $\dot{Q}_{est}$ ) e i flussi alla base ( $\dot{Q}_{BASE,int}$  e  $\dot{Q}_{BASE,est}$ ) aumentano all'aumentare della pressione, in seguito all'aumento della conducibilità termica del gas in camera;
- i flussi alla base non sono influenzati dalla temperatura del LyoSim®: a parità di pressione, l'aumento di tale temperatura non ha effetti significativi su  $\dot{Q}_{BASE,int}$  e  $\dot{Q}_{BASE,est}$ . Al contrario, si riscontra un progressivo incremento di  $\dot{Q}_{LyoSim}$  (ad eccezione delle prime due prove condotte a 50 mTorr, ovvero A1 e A2);
- per separare l'effetto del LyoSim® da quello della pressione, può essere utile ragionare sui flussi termici  $\dot{Q}_{LyoSim}$  a parità di temperatura del LyoSim®. A titolo di esempio, confrontando i flussi ottenuti nelle prove A1-B1-C1 si nota un loro progressivo aumento, dovuto unicamente alla pressione. Lo stesso ragionamento è valido anche per le terne A2-B2-C2 e A3-B3-C3;
- analizzando i flussi *inter-layer* ( $\dot{Q}_{LAT,int}$ ) non si coglie alcun andamento specifico: in alcuni casi si riscontra un aumento, in altri casi una diminuzione, in accordo o in opposizione alle aspettative. È importante ricordare che  $\dot{Q}_{LAT,int}$  viene calcolato mediante l'espressione 2.11 (sottrazione tra  $\dot{Q}_{int}$  e  $\dot{Q}_{BASE,int}$ ): è ragionevole pensare che su tale flusso, calcolato per ultimo nel *layer* interno, emergano e si riversino le limitazioni delle ipotesi effettuate.

In Tabella 3.16, anziché soffermarsi sulle quantità di calore totali o sui flussi termici, si ragiona in termini relativi. Nello specifico, per ogni *layer* si rapporta ciascun flusso entrante a quello complessivamente uscente.

**Tabella 3.16:** calori laterali e di base rapportati ai calori di sublimazione, in termini percentuali

		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
$\dot{Q}_{LAT,int}/\dot{Q}_{int}$	%	20%	20%	20%	23%	26%	25%	23%	21%	17%
$\dot{Q}_{BASE,int}/\dot{Q}_{int}$		80%	80%	80%	77%	74%	75%	77%	79%	83%
$\dot{Q}_{LyoSim}/(\dot{Q}_{est} + \dot{Q}_{LAT,int})$		49%	49%	51%	49%	53%	57%	49%	52%	54%
$\dot{Q}_{BASE,est}/(\dot{Q}_{est} + \dot{Q}_{LAT,int})$		51%	51%	49%	51%	47%	43%	51%	48%	46%

Indipendentemente dalla pressione e dalla temperatura del LyoSim®, si può notare che (a meno di qualche punto percentuale):

- all'incirca il 20% del calore di sublimazione del *layer* interno proviene dallo strato esterno; il rimanente 80% viene fornito dal ripiano;
- il calore complessivamente entrante nel *layer* esterno proviene in egual misura dal ripiano e dal LyoSim®.

Sfruttando le espressioni 2.15 e 2.16 è possibile calcolare i coefficienti di scambio termico effettivi  $K_{12}^*$  e  $K_L^*$ . I risultati sono riportati in Tabella 3.17.

Sebbene le superfici di scambio non siano state esplicitate, è importante specificare nuovamente le aree a cui fanno riferimento tali coefficienti. Nello specifico:

- $K_{12}^*$  si riferisce alla superficie di scambio *inter-layer* di un singolo flacone con quelli circostanti;

- $K_L^*$  tiene in considerazione l'estensione dell'intero LyoSim® e non l'effetto su ciascun *vial*.

**Tabella 3.17:** coefficienti di scambio termico effettivi  $K_{12}^*$  e  $K_L^*$

	$K_{12}^*$	$K_L^*$
	W/K	
<b>A1</b>	6.25E-02	5.22E-02
<b>A2</b>	5.17E-02	4.45E-02
<b>A3</b>	4.04E-02	4.22E-02
<b>B1</b>	8.81E-02	6.79E-02
<b>B2</b>	7.78E-02	6.59E-02
<b>B3</b>	7.82E-02	6.61E-02
<b>C1</b>	1.43E-01	9.44E-02
<b>C2</b>	1.26E-01	8.58E-02
<b>C3</b>	8.37E-03	7.71E-02

Ad eccezione di  $K_{12}^*$  nel test C3, anche in questo caso si nota un progressivo aumento dei coefficienti di scambio all'aumentare della pressione. Non si riscontrano particolari relazioni tra tali coefficienti e la temperatura del LyoSim®. È importante notare che  $K_{12}^*$  è affetto da un'elevata incertezza: in accordo all'espressione 2.15, per calcolarlo è necessario dividere  $Q_{LAT,int}$  per la forza spingente  $\bar{T}_1 - \bar{T}_2$  (integrata nel tempo). Tale differenza di temperatura, però, è tendenzialmente prossima ad 1°C: trattandosi di una forza spingente estremamente ridotta (se paragonata a quella tra ripiano e prodotto, o tra LyoSim® e prodotto), una sua minima variazione implica un cambiamento considerevole di  $K_{12}^*$ .

### 3.2.2.2 Utilizzo dell'algoritmo MATLAB

Terminata la quantificazione dei flussi termici sfruttando i valori di  $K_V$  ottenuti nel REVO, si è utilizzato l'algoritmo MATLAB (descritto nel Capitolo 2) per valutare se possibile ottenere  $K_V$  nel MicroFD ed utilizzarlo su scala maggiore.

In prima battuta, la procedura di “*best-fit*” è stata eseguita considerando un generico flacone appartenente al *layer* centrale, con temperatura  $\bar{T}_2$  e variazione di massa  $\Delta\bar{m}_2$ . Come si nota dalla Tabella 3.11, le deviazioni standard percentuali su  $\Delta m$  sono maggiori nel *layer* esterno: il blocco centrale, quindi, risulta essere generalmente più uniforme. Analizzando con più attenzione la procedura di calcolo descritta nel Capitolo 2, si può notare che non è necessario conoscere la variazione di massa nel *layer* esterno per eseguire l'algoritmo: alla luce di quanto appena descritto sulla disomogeneità, non utilizzare  $\Delta\bar{m}_1$  risulta quindi vantaggioso. Tramite l'algoritmo MATLAB sono stati calcolati  $K_V$  e  $K_{12}^*$ ; a partire da essi,  $K_L^*$  è stato ricavato mediante l'espressione 2.16. Per facilitare i confronti con i coefficienti effettivi,  $K_V$  è stato anche moltiplicato per l'area di base del singolo flacone. Sfruttando i valori di  $K_V$  e  $K_{12}^*$  appena ottenuti, il sistema di equazioni differenziali è stato risolto nuovamente, in modo da quantificare lo scostamento tra temperatura calcolata e temperatura



sperimentale  $\bar{T}_2$  (per praticità si indicherà con *ErrMax* lo scostamento massimo percentuale). I risultati sono riportati in Tabella 3.18.

**Tabella 3.18:**  $K_V, K_V^*, K_{12}^*, K_L^*$  ed *ErrMax* ottenuti tramite l'algoritmo MATLAB usando  $\bar{T}_1, \bar{T}_2$  e  $\Delta\bar{m}_2$

	$K_V$	$K_V^*$	$K_{12}^*$	$K_L^*$	<i>ErrMax</i>
	W/m <sup>2</sup> K	W/K			%
<b>A1</b>	<u>10.04</u>	3.15E-03	1.37E-01	7.88E-02	0.65%
<b>A2</b>	<u>12.72</u>	4.00E-03	7.68E-02	5.33E-02	1.03%
<b>A3</b>	<u>14.09</u>	4.43E-03	4.41E-02	4.38E-02	1.17%
<b>B1</b>	<u>20.62</u>	6.48E-03	5.57E-02	5.59E-02	1.57%
<b>B2</b>	<u>21.00</u>	6.60E-03	4.93E-02	5.39E-02	1.27%
<b>B3</b>	<u>11.64</u>	3.66E-03	1.66E-01	9.65E-02	1.43%
<b>C1</b>	<u>19.04</u>	5.98E-03	2.65E-01	1.35E-01	2.13%

Come si può notare, non sono presenti i risultati relativi alle Prove C2 e C3: in esse, infatti, sono stati ottenuti valori di  $K_V$  negativi. Trattandosi di un coefficiente di scambio termico, tale soluzione è ovviamente priva di significato fisico ed è necessario indagarne i possibili motivi. Un risultato di questo tipo potrebbe essere giustificato da dati sperimentali che non rispecchiano le ipotesi di partenza: ad esempio, se il *layer* esterno fosse più freddo di quello interno, le forze spingenti avrebbero segno opposto (rispetto alle ipotesi iniziali) e un valore di  $K_V$  negativo permetterebbe di soddisfare le equazioni. Nelle Prove C2 e C3, però, questa incongruenza non si verifica, quindi la motivazione è di natura differente.

Un'altra possibile spiegazione potrebbe esser connessa alle approssimazioni adottate. Nel sistema in esame, infatti:

- nessun flacone del *layer* esterno si trova esattamente alla temperatura  $\bar{T}_1$ ;
- nessun flacone del *layer* centrale si trova esattamente alla temperatura  $\bar{T}_2$ ;
- in nessuno dei flaconi 13-19 la quantità di ghiaccio sublimata è esattamente pari a  $\Delta\bar{m}_2$ .

Si è deciso di approfondire ogni punto di tale elenco, con l'obiettivo di individuare i dati sperimentali più appropriati per l'algoritmo. Prima di far ciò, è interessante notare che la media dei valori di  $K_V$  ottenuti per le prove a 50 mTorr (**12.28 W/m<sup>2</sup>K**) si avvicina al  $K_V$  di riferimento e che un ragionamento analogo può essere effettuato anche per le prove a 100 mTorr (**17.75 W/m<sup>2</sup>K**). Nell'ultima colonna della Tabella 3.18 sono riportati i massimi errori percentuali commessi nell'approssimare  $\bar{T}_2$  con la temperatura calcolata attraverso MATLAB: come si può notare, l'errore più elevato è 2.13%, pertanto l'accettabilità dei risultati ottenuti è ulteriormente confermata.

Durante l'esecuzione dell'algoritmo MATLAB viene risolto il sistema di equazioni differenziali che descrive la dinamica del processo in esame: le due equazioni che lo compongono (2.25 e 2.26) sono riferite ad un singolo flacone del *layer* centrale, non all'intero *layer*. Come ampiamente descritto nel Capitolo 2, i flaconi 13-19 in Figura 2.15 sono considerati omogenei: in particolare, si suppone che ciascuno di essi abbia una temperatura pari a  $\bar{T}_2$  e una variazione di massa pari a  $\Delta\bar{m}_2$ . In accordo a questa ipotesi, i flaconi 13-18 ricevono calore dal ripiano e dal *layer* esterno, mentre il flacone 19 riceve calore unicamente

dallo *shelf*. Alla luce di questa osservazione, risulta chiaro che il flacone 19 non può avere la stessa temperatura del blocco 13-18: tale approssimazione, estremamente utile per semplificare la descrizione del sistema, è stata adottata in quanto la differenza tra la temperatura del *vial* centrale e quella dei flaconi 13-18 rientra nell'incertezza di misura della termocoppia. Quanto appena descritto permette di capire che è possibile eseguire l'algoritmo MATLAB in condizioni differenti, focalizzandosi su flaconi diversi. Alla luce di queste considerazioni, si possono approfondire i punti dell'elenco precedente.

Come osservato in precedenza, mentre la temperatura del flacone 1 si discosta dal blocco centrale, il flacone 7 sembra essere in linea con esso. Si è pertanto deciso di calcolare nuovamente  $K_V$  e  $K_{12}^*$  (ottenuti direttamente tramite l'algoritmo MATLAB) lasciando tutti i parametri invariati, ma supponendo che il *layer* esterno sia isoterma ad una temperatura pari a  $T_1$  (non  $\bar{T}_1$ ). Per maggior chiarezza, quindi, nella nuova analisi si risolve il sistema di equazioni differenziali e si esegue la procedura di “*best-fit*” considerando:

- un generico flacone appartenente al blocco 13-19, avente una temperatura pari a  $\bar{T}_2$  e una variazione di massa pari a  $\Delta\bar{m}_2$ ;
- tutti i flaconi del *layer* esterno isotermi a temperatura  $T_1$ .

I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 3.19.

**Tabella 3.19:**  $K_V$  e  $K_{12}^*$  ottenuti tramite l'algoritmo MATLAB usando  $T_1$ ,  $\bar{T}_2$  e  $\Delta\bar{m}_2$

	$K_V$	$K_{12}^*$
	W/m <sup>2</sup> K	W/K
<b>A1</b>	<u>12.25</u>	4.48E-02
<b>A2</b>	<u>11.59</u>	6.74E-02
<b>A3</b>	<u>13.05</u>	3.99E-02
<b>B1</b>	<u>23.89</u>	1.16E-03
<b>B2</b>	<u>21.66</u>	2.94E-02
<b>B3</b>	<u>11.46</u>	1.14E-01
<b>C1</b>	<u>25.26</u>	7.61E-02
<b>C2</b>	<u>14.64</u>	1.46E-01

Sostituendo  $T_1$  al posto di  $\bar{T}_1$ , si ottengono differenze non trascurabili nei risultati finali: sebbene la media dei valori di  $K_V$  ottenuti per le prove a 50 mTorr sia pressoché invariata (**12.29 W/m<sup>2</sup>K** anziché 12.28 W/m<sup>2</sup>K), a 100 mTorr ci si avvicina maggiormente al valore di riferimento (**19.00 W/m<sup>2</sup>K** anziché 17.75 W/m<sup>2</sup>K). Utilizzando  $T_1$ ,  $K_V$  nella Prova C1 (prima pari a 19.04 W/m<sup>2</sup>K) è ora prossimo al valore di riferimento; allo stesso tempo si è riusciti a concludere con successo il “*best-fit*” per la Prova C2: il valore di  $K_V$  ottenuto, però, si discosta parecchio da quello ricavato nel REVO. Nella Prova C3 si è nuovamente ottenuto un valore di  $K_V$  negativo, pertanto privo di significato fisico.

Alla luce dei risultati appena ottenuti, si è deciso di apportare ulteriori modifiche al sistema e ai dati ad esso forniti. L'equazione 2.26 comprende il termine  $K_{12}^*(T_1 - T_{ice})$ : esso è rappresentativo della quantità di calore scambiata tra *layer* esterno e *layer* interno. Come descritto in precedenza, considerando i flaconi 13-19 isotermi, il bilancio di energia al flacone

centrale (19) non contiene il termine  $K_{12}^*(T_1 - T_{ice})$ . Dopo aver opportunamente modificato l'equazione, si può pertanto risolvere il sistema di equazioni differenziali ed eseguire la procedura di “best-fit” considerando il solo flacone 19. Sono state testate differenti “combinazioni” di dati:

- 1) flacone 19 a temperatura  $\bar{T}_2$ , con variazione di massa  $\Delta\bar{m}_2$  e *layer* esterno a  $T_1$ ;
- 2) flacone 19 a temperatura  $T_{19}$  (misurata direttamente dalla termocoppia TP5), con variazione di massa  $\Delta\bar{m}_2$  e *layer* esterno a  $T_1$ ;
- 3) flacone 19 a temperatura  $T_{19}$ , con variazione di massa  $\Delta m_{19}$  (la quantità di ghiaccio effettivamente sublimata in quel flacone) e *layer* esterno a  $T_1$ ;

I risultati ottenuti in tutti e 3 i casi sono molto simili tra loro: nello specifico, in Tabella 3.20 sono riportati i valori di  $K_V$  calcolati nelle condizioni descritte nel punto 2 dell'elenco.

**Tabella 3.20:**  $K_V$  ottenuti tramite l'algoritmo MATLAB usando  $T_1, T_{19}$  e  $\Delta\bar{m}_2$

		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
$K_V$	W/m <sup>2</sup> K	18.30	18.13	18.38	24.14	25.43	25.30	34.35	33.44	31.08

In questo caso tutti i valori di  $K_V$  ottenuti hanno significato fisico (sono infatti tutti positivi). I corrispondenti valori di  $K_{12}^*$  non sono riportati in tabella, in quanto pari a 0: il termine  $K_{12}^*(T_1 - T_{ice})$  è stato infatti eliso dall'equazione. Si può notare che, per ciascuna pressione, i valori di  $K_V$  sono molto vicini tra loro, ma allo stesso tempo lontani dai valori di riferimento: l'approccio basato sullo studio del flacone centrale non può quindi essere utilizzato per ottenere una stima adeguata di  $K_V$ . Il fatto che tutti i 9 valori siano abbondantemente superiori a quelli di riferimento ha però una motivazione fisica precisa. Supponendo valida l'ipotesi che l'intero blocco centrale sia uniforme, ogni flacone riceve la stessa quantità di calore dal ripiano ( $K_V A_{V,b} I_{S2}$ ) e perde la stessa quantità di calore per sublimazione ( $\Delta\bar{m}_2 \Delta H_S$ ). Ciascuno dei flaconi 13-18 riceve anche il calore trasportato *inter-layer* ( $K_{12}^* I_{12}$ ), mentre il bilancio al flacone 19 non include questo termine. Affinché l'ipotesi di uniformità venga rispettata, nella risoluzione del sistema è necessario compensare il contributo mancante: essendo però  $\Delta\bar{m}_2 \Delta H_S$  fissato ( $\Delta\bar{m}_2$  proviene da misurazioni sperimentali), i bilanci possono essere soddisfatti solo incrementando il calore fornito dal ripiano. Più precisamente, essendo  $A_{V,b}$  una caratteristica geometrica dei flaconi utilizzati e  $I_{S2}$  frutto di misurazioni sperimentali, l'unico parametro “adattabile” è  $K_V$ .

In conclusione, sono state testate altre due possibili alternative. Nello specifico, si è deciso di ragionare su un singolo flacone del blocco 13-18 (i flaconi del *layer* interno a contatto con il *layer* esterno): l'equazione 2.26 è stata implementata e risolta nella sua interezza. I nuovi tentativi, però, non hanno portato a risultati generalizzabili. A titolo di esempio, considerando il flacone 15 a temperatura  $T_{15}$  (misurata direttamente dalla termocoppia TP4) con variazione di massa  $\Delta\bar{m}_2$  e *layer* esterno a  $T_1$ , si è osservato che:

- utilizzando i dati della Prova A1, si ottiene un valore di  $K_V$  perfettamente in linea con quello di riferimento (14.56 anziché 14.42 W/m<sup>2</sup>K);
- utilizzando i dati della Prova B1 si ottiene un valore di  $K_V$  eccessivamente elevato (attorno a 27 W/m<sup>2</sup>K) e  $K_{12}^*$  negativo, quindi senza significato fisico.

Al contrario, eseguendo la stessa procedura sul flacone 18 sono stati ottenuti ottimi risultati riferendosi alla Prova B1 (19.44 anziché 18.63 W/m<sup>2</sup>K), ma privi di significato fisico con la Prova A1.

Qualora i dati sperimentali di partenza rispecchino le ipotesi effettuate, la motivazione alla base di tali incongruenze può essere di natura matematica. È ovviamente necessario accertarsi che ogni risultato sia ottenuto mediante convergenza dell'algoritmo: a tal proposito nel presente lavoro di Tesi ci si è avvalsi degli *exitflag* di MATLAB. La convergenza, però, non è sufficiente a garantire una soluzione univoca e certa. Più precisamente, la funzione *fminsearch* di MATLAB individua l'ascissa in corrispondenza della quale la funzione in esame presenta un punto di minimo. Se tale ascissa è collocata in un'ampia porzione di funzione la cui derivata prima è pressoché nulla, l'incertezza sul risultato finale sarà molto elevata.

In conclusione si può affermare che i risultati migliori sono stati ottenuti a 50 e 100 mTorr, considerando:

- un generico flacone appartenente al blocco 13-19, avente una temperatura pari a  $\bar{T}_2$  e una variazione di massa pari a  $\Delta\bar{m}_2$ ;
- tutti i flaconi del *layer* esterno isotermi a temperatura  $T_1$ .

L'approccio individuato nel presente lavoro di Tesi è quindi estremamente promettente, ma necessita di ulteriori approfondimenti e studi, in modo da individuare una soluzione ottimale ai problemi rimasti irrisolti.

### 3.3 Terza parte: process transfer MicroFD-REVO

Come accennato all'interno delle sezioni precedenti, nella parte conclusiva di questo Capitolo si sfruttano i risultati appena ottenuti per approfondire ulteriormente il confronto tra MicroFD e REVO.

Il test gravimetro B ha permesso di determinare il coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$  nel REVO, ad una pressione di 100 mTorr: nello specifico,  $K_V = 18.63 \text{ W/m}^2\text{K}$ . L'unico ciclo di liofilizzazione completo eseguito nel REVO è la Prova 10. Anziché determinare la durata dell'operazione con il criterio "*Pi-Ba* = 5 mTorr" ed ottenere  $K_V$ , è possibile:

- utilizzare  $K_V = 18.63 \text{ W/m}^2\text{K}$  e risalire alla durata;
- calcolare nuovamente la resistenza  $R_p$  e valutare la differenza dovuta al cambiamento del coefficiente di scambio termico.

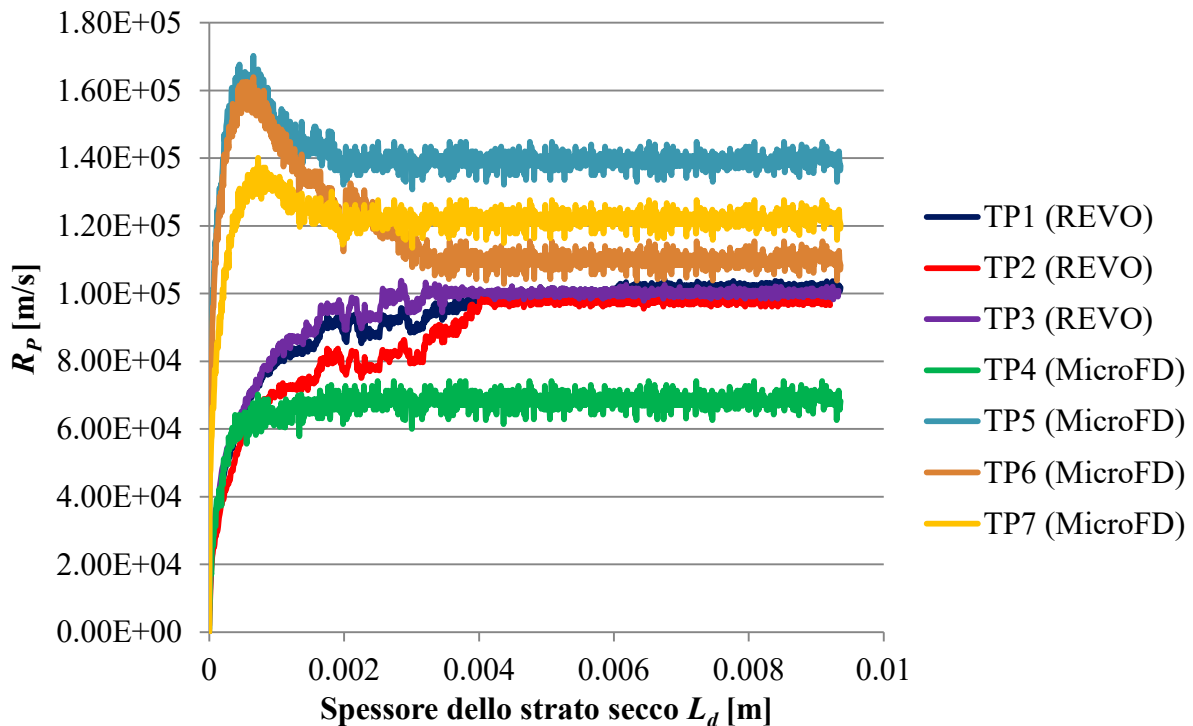
La durata dell'essiccamento primario può essere determinata sfruttando l'espressione 2.4: l'istante di tempo in cui  $m_{H_2O}^*$  coincide con la quantità di acqua inizialmente presente nel flacone è da intendersi come punto di fine dell'essiccamento primario. Un approccio simile può essere adottato utilizzando anche l'espressione 2.5: la sublimazione è da considerarsi conclusa nel momento in cui  $L_d^*$  coincide con l'altezza iniziale del riempimento. Utilizzando l'espressione 2.4 e la media delle temperature misurate dalle 3 termocoppie nella Prova 10, la durata del *Primary Drying* risulta essere pari a 945 minuti: tale valore è prossimo al *middle point* riportato in Tabella 3.5. Il risultato appena ottenuto si riconduce a quanto affermato da Patel *et. al* (2010), secondo cui il *middle point* rappresenta il criterio più efficace per determinare la durata dell'essiccamento primario.

In Tabella 3.21 sono riportati gli stessi valori presenti nella Tabella 3.9, ma in questo caso essi sono affiancati da quelli calcolati a partire dal  $K_V$  di riferimento. Come si può notare, la sovrastima della durata implica una sottostima di  $K_V$  e la conseguente sovrastima di  $R_p$ . Le espressioni 2.2 e 2.3 formalizzano tale concetto a livello quantitativo.

**Tabella 3.21:** confronto tra  $R_p$  nella Prova 10, al variare del coefficiente di scambio termico

	Durata	$R_p$ (TP1)	$R_p$ (TP2)	$R_p$ (TP3)	$R_p$ medio	DevSt	DevSt%
	min	$10^5$ m/s					%
$K_V$ <i>incognito</i>	1226	1.38	1.28	1.29	<b>1.32</b>	0.04	3.36%
$K_V$ <i>riferimento</i>	945	1.02	0.98	1.00	<b>1.00</b>	0.02	1.64%

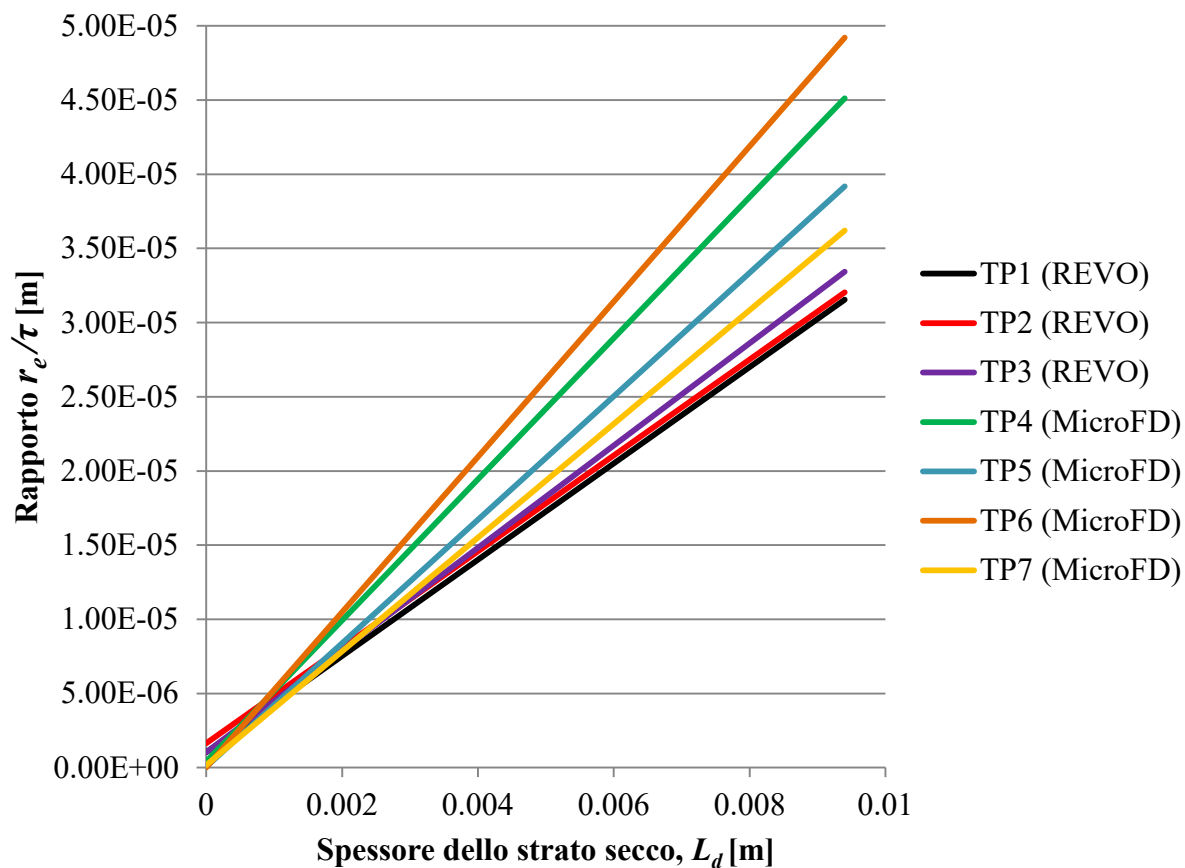
Una volta ricavate le resistenze al flusso di vapore nel REVO (utilizzando  $K_V$  di riferimento), è possibile confrontare tali valori con quelli ottenuti nel MicroFD. A tal proposito, è possibile soffermarsi sulle Prove 1 e 10, siccome in esse è stata adottata la stessa modalità di congelamento. A differenza della sezione 3.1.2.3, trattandosi unicamente di 2 prove, in questo caso si riportano le curve complete " $R_p$  vs  $L_d$ " (Figura 3.12).



**Figura 3.12:**  $R_p$  in funzione di  $L_d$ , per ciascun flacone monitorato nelle Prove 1 e 10

Osservando la Figura 3.12 si nota la presenza di micro-collasso in 3 delle 4 flaconi monitorati nel MicroFD; nel REVO, invece, tale fenomeno non si manifesta (le irregolarità nella parte crescente delle curve sono minime). La maggior uniformità del REVO è facilmente constatabile dalla quasi perfetta sovrapposizione dei profili. Nonostante tutte le differenze elencate finora, le 3 curve associate al REVO sono pienamente comprese tra quelle ottenute nel MicroFD: questo aspetto è di fondamentale importanza, siccome aumenta notevolmente le potenzialità del MicroFD stesso.

In conclusione si può effettuare un confronto in merito alla diffusività effettiva (direttamente proporzionale al rapporto  $r_e/\tau$ ). I profili in esame sono rappresentati in Figura 3.13: per completezza, anche in questo caso si ragiona sui singoli flaconi monitorati.



**Figura 3.13:** rapporto  $r_e/\tau$  in funzione di  $L_d$  per tutti i flaconi monitorati nelle Prove 1 e 10

Anche in Figura 3.13 è possibile constatare l'omogeneità del REVO: le tre rette corrispondenti sono, infatti, estremamente vicine tra loro. La lieve riduzione di  $R_p$  (presentata quantitativamente in Tabella 3.21) causa un lieve incremento di pendenza delle 3 rette in Figura 3.13: le differenze tra Prova 1 e Prova 10 subiscono quindi una minima riduzione. Essendo le differenze relativamente contenute, il fascio di rette rappresentate in Figura 3.13 indica che, nelle due prove, il rapporto tra raggio medio dei pori e tortuosità dello strato secco è molto simile. In altri termini, si è constatato che i prodotti finali presentano caratteristiche fisiche tra loro confrontabili, indipendentemente dalla scala. Questa conclusione ha un'importanza fondamentale circa l'impiego del MicroFD: la sua efficacia, infatti, è stata nuovamente confermata e, allo stesso tempo, è possibile porre solide basi per successivi studi di *scale-up* del processo.

## 4. Conclusioni

Per garantire gli elevati standard qualitativi dei prodotti liofilizzati, è necessario condurre appositi studi (teorici e sperimentali) volti ad individuare le condizioni operative ottimali, principalmente in termini di durata, pressione, temperatura e tutto ciò che ad esse si collega (come, ad esempio, la diffusività effettiva). Il presente lavoro di Tesi si colloca proprio in questo contesto, soffermandosi sulle modalità di congelamento e sui fenomeni di scambio termico.

Le prove sperimentali sono state condotte utilizzando due apparecchiature prodotte dalla Millrock Technology: il MicroFD (un micro-liofilizzatore, impiegato nella maggior parte delle prove) e il REVO (su scala maggiore). Trattandosi di un liofilizzatore su scala di laboratorio, il MicroFD viene impiegato a scopi di ricerca ed è estremamente vantaggioso in termini logistici ed economici: i tempi necessari per la preparazione del *batch* sono ridotti e la quantità di principio attivo destinato alla messa a punto delle condizioni operative ottimali è minimizzata. Allo stesso tempo, però, quando si opera su scala ridotta bisogna tener conto del fatto che le informazioni ottenute non sono sempre direttamente utilizzabili nei liofilizzatori industriali.

Nella prima parte di Tesi sono stati valutati gli effetti di differenti modalità di congelamento sulla durata dell'essiccamento primario, sull'omogeneità del lotto e sulla diffusività effettiva. In tutte le prove condotte nel MicroFD lo *shelf* è stato impostato a  $-10^{\circ}\text{C}$ , la pressione in camera a 100 mTorr e sono stati utilizzati 19 flaconi 6R contenenti 3 mL di soluzione zuccherina. Alla luce dei risultati ottenuti in tali prove, si può concludere che:

- la modalità di congelamento più conveniente è la nucleazione controllata con tecnica *IceFog*. Essa, infatti, presenta numerosi vantaggi rispetto alle altre modalità testate (rampe, *annealing*):
  - permette di concludere il processo di sublimazione in tempi più brevi, risparmiando 4-7 ore in base alle specifiche condizioni adottate;
  - consente di incrementare l'omogeneità del lotto, riducendo così le disuniformità tra flaconi;
  - riduce la resistenza al flusso di vapore, con conseguente incremento della diffusività effettiva (si ottengono pori mediamente più grandi e, di conseguenza, uno strato secco a minor tortuosità). Tale effetto risulta essere massimizzato adottando un basso grado di sottoraffreddamento (impostando la nucleazione, ad esempio, a  $-3^{\circ}\text{C}$  o  $-5^{\circ}\text{C}$ ).
- qualora non sia possibile applicare la tecnica *IceFog*, l'*annealing* può essere considerato una valida alternativa, purché si tenga conto dei seguenti aspetti:
  - conviene impostare una temperatura d'*annealing* sufficientemente maggiore della temperatura critica di formulazione: a titolo di esempio, nella presente Tesi i risultati migliori sono stati ottenuti eseguendo l'*annealing* a  $-10^{\circ}\text{C}$ , garantendo così una distanza di  $22^{\circ}\text{C}$  dalla soglia critica;
  - è preferibile mantenere il ripiano alla temperatura d'*annealing* per tempi lunghi (ad esempio, 6 ore), in modo da accentuare gli effetti della maturazione di Ostwald;
  - la minor durata dell'essiccamento primario viene compensata da una fase di congelamento inevitabilmente più lunga.

Nella seconda parte di Tesi ci si è soffermati sull'approfondimento dei fenomeni di scambio termico. Nello specifico, i 3 test gravimetrici condotti nel REVO hanno permesso di determinare i valori di riferimento del coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$ ; allo stesso tempo, i 9 test gravimetrici eseguiti nel MicroFD (a pressioni e temperature del

LyoSim® differenti) hanno consentito di quantificare i flussi termici e avviare uno studio di *scale-up* relativo a  $K_V$ . Per raggiungere entrambi gli obiettivi, i flaconi del lotto sono stati suddivisi in due *layer* (quelli periferici nel *layer* esterno e quelli centrali nel *layer* interno). Per quanto concerne i flussi termici, sono stati utilizzati i valori di  $K_V$  di riferimento e al termine dello studio si è concluso che:

- a parità di pressione, il flusso di calore proveniente dal ripiano non è influenzato dalla temperatura del LyoSim®. Questo aspetto è estremamente importante, in quanto permette di individuare un valore di  $K_V$  ripiano-prodotto valido per tutti i flaconi del lotto (indipendentemente dalla loro posizione e dall'*offset* del LyoSim®);
- all'aumentare della pressione si osserva un incremento dei singoli flussi termici, dovuto all'aumento della conducibilità termica del gas presente in camera;
- indipendentemente dalla pressione e dalla temperatura del LyoSim®, è possibile individuare le seguenti relazioni:
  - all'incirca il 20% del calore di sublimazione del *layer* interno proviene dallo strato esterno, mentre il rimanente 80% viene fornito dal ripiano;
  - il calore complessivamente entrante nel *layer* esterno proviene in egual misura dal ripiano e dal LyoSim®.

Per quanto concerne lo studio di *scale-up*, è stata messa a punto una nuova metodologia per calcolare il coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto  $K_V$  nel MicroFD e poter utilizzare tale valore in apparecchiature su scala maggiore. A tal scopo è stato concepito un algoritmo MATLAB in grado di individuare il valore di  $K_V$  che minimizza lo scarto quadratico medio tra la temperatura del ghiaccio misurata e quella calcolata. Tale procedura di "*best-fit*" è accoppiata alla risoluzione del sistema di equazioni differenziali che descrive la dinamica del processo (più precisamente, riferendosi ad un singolo flacone del *layer* interno). Affinché tale strumento venga utilizzato al meglio delle sue possibilità, è fondamentale individuare le "combinazioni" ottimali di dati da fornire all'algoritmo. Alla luce dei risultati ottenuti impiegando varie combinazioni, si suggerisce di adottare il seguente protocollo:

- eseguire 3 test gravimetrici a differenti pressioni, collocando almeno 3 termocoppie nel *layer* interno e almeno 3 nel *layer* esterno;
- qualora i dati sperimentali lo consentano, ipotizzare che in ciascun flacone:
  - la temperatura sia pari alla media delle temperature misurate nel *layer* di appartenenza;
  - la quantità di acqua sublimata sia pari alla media delle variazioni di massa misurate nel *layer* di appartenenza;
- eseguire l'algoritmo per ognuno dei test gravimetrici condotti;
- calcolare la media dei valori di  $K_V$  ottenuti.

In conclusione, un'ulteriore rielaborazione dei dati ottenuti in alcune prove della prima parte di Tesi (sulla base delle nuove informazioni acquisite), ha permesso di constatare che:

- il criterio più efficace per determinare la durata dell'essiccamento primario è il *middle point* (confermando sperimentalmente quanto reperito in letteratura);
- la resistenza al flusso di vapore e la diffusività effettiva nel REVO sono confrontabili con quelle ottenute nel MicroFD. Questo aspetto è di fondamentale importanza, in quanto conferma ulteriormente l'efficacia e l'utilità del MicroFD nello *scale-up* del processo.

I risultati a cui si è giunti nel presente lavoro di Tesi sono promettenti sotto molteplici punti di vista. A tal proposito, per sfruttare al meglio le potenzialità delle conclusioni ottenute, può essere utile soffermarsi sui seguenti possibili sviluppi futuri:



- indagare ulteriormente circa l'uniformità dello scambio termico tra LyoSim® e stato esterno;
- ottimizzare l'algoritmo a livello numerico e matematico, incrementandone l'affidabilità;
- condurre ulteriori prove nel MicroFD e nel REVO a parità di modalità di congelamento, ponendo quindi le basi per ulteriori studi circa lo *scale-up* del processo.



## Lista dei simboli

Simbolo	Descrizione	Unità di misura (SI)
$A$	Secondo parametro di regressione nella relazione “resistenza al flusso di vapore vs spessore dello strato secco”	1/s
$a_0$	Intercetta della retta “raggio medio dei pori / tortuosità vs spessore dello strato secco”	m
$a_1$	Pendenza della retta “raggio medio dei pori / tortuosità vs spessore dello strato secco”	-
$A_{12}$	Superficie di scambio termico tra <i>layer</i> esterno e <i>layer</i> interno	m <sup>2</sup>
$A_L$	Superficie di scambio termico tra LyoSim® e strato esterno	m <sup>2</sup>
$A_{v,b}$	Area di base di un singolo flacone	m <sup>2</sup>
$B$	Terzo parametro di regressione nella relazione “resistenza al flusso di vapore vs spessore dello strato secco”	1/m
$Ba$	Pressione misurata attraverso il manometro capacitivo Baratron®	Pa
$C_1$	Primo parametro nella relazione “coefficiente di scambio termico vs pressione in camera”	W/m <sup>2</sup> K
$C_2$	Secondo parametro nella relazione “coefficiente di scambio termico vs pressione in camera”	W/(Pa m <sup>2</sup> K)
$C_3$	Terzo parametro nella relazione “coefficiente di scambio termico vs pressione in camera”	1/Pa
$c_{p_{ice}}$	Calore specifico del ghiaccio	kJ/(kgK)
$D_e$	Diffusività effettiva del vapore acqueo nello strato secco	m <sup>2</sup> /s
$\Delta H_S$	Entalpia di sublimazione	kJ/kg
$J_q$	Flusso termico	W
$J_w$	Flusso di sublimazione	kg/s
$K$	Coefficiente di scambio di materia effettivo	kg/(Pa s)
$K_{12}$	Coefficiente di scambio termico <i>inter-layer</i>	W/m <sup>2</sup> K
$K_{12}^*$	Coefficiente di scambio termico <i>inter-layer</i> effettivo	W/K
$K_L$	Coefficiente di scambio termico LyoSim® – stato esterno	W/m <sup>2</sup> K
$K_L^*$	Coefficiente di scambio termico LyoSim® – stato esterno effettivo	W/K
$K_V$	Coefficiente di scambio termico	W/m <sup>2</sup> K
$K_V^*$	Coefficiente di scambio termico ripiano-prodotto effettivo	W/K
$L_d$	Spessore dello strato secco	m
$L_d^*$	Spessore dello stato secco al generico istante di tempo $t^*$	m
$L_f$	Spessore dello strato ghiacciato	m
$m_{H_2O}$	Quantità di acqua presente in un singolo flacone	kg
$m_{H_2O}^*$	Quantità di acqua presente in un singolo flacone al generico istante di tempo $t^*$	kg

$m_{ice}$	Massa di ghiaccio nel flacone	kg
$M_w$	Peso molecolare dell'acqua	kg/kmol
$\Delta m_n$	Quantità di ghiaccio sublimata nel flacone n-esimo	kg
$\Delta \bar{m}_n$	Quantità di ghiaccio mediamente sublimata in un flacone del <i>layer</i> n-esimo	kg
$P_i$	Pressione misurata attraverso la sonda Pirani	Pa
$p_0$	Tensione di vapore all'interfaccia di sublimazione	Pa
$p_{w,c}$	Pressione parziale di vapore acqueo in camera	Pa
$p_c$	Pressione in camera	Pa
$Q_{acc}$	Termine d'accumulo nel bilancio di energia	J
$Q_{BASE,int}$	Calore fornito dal ripiano al prodotto nel <i>layer</i> interno	J
$Q_{BASE,est}$	Calore fornito dal ripiano al prodotto nel <i>layer</i> esterno	J
$Q_{int}$	Calore sottratto per sublimazione nel <i>layer</i> interno	J
$Q_{est}$	Calore sottratto per sublimazione nel <i>layer</i> esterno	J
$Q_{LAT,int}$	Calore entrante lateralmente nello strato interno	J
$Q_{LyoSim}$	Calore scambiato tra LyoSim® e strato esterno	J
$r_e$	Raggio medio dei cristalli di ghiaccio (e dei pori)	m
$R_p$	Resistenza al flusso di vapore	m/s
$R_{p,0}$	Primo parametro di regressione nella relazione "resistenza al flusso di vapore vs spessore dello strato secco"	m/s
$t_{PD}$	Durata dell'essiccamento primario in un ciclo completo	s
$t_{test}$	Durata della fase di sublimazione in un test gravimetrico	s
$T_B$	Temperatura del prodotto sul fondo del flacone	K
$T_i$	Temperatura all'interfaccia di sublimazione	K
$T_{ice}$	Temperatura del ghiaccio in un generico flacone	K
$T_L$	Temperatura del LyoSim®	K
$T_n$	Temperatura del prodotto nel flacone n-esimo	K
$\bar{T}_n$	Temperatura media di ciascun flacone del <i>layer</i> n-esimo	K
$T_S$	Temperatura del ripiano (intesa come temperatura del fluido che scorre in esso)	K
$\varepsilon$	Porosità dello strato secco	-
$\lambda_f$	Conducibilità termica dello strato ghiacciato	W/mK
$\rho_d$	Densità dello strato secco	kg/m <sup>3</sup>
$\rho_f$	Densità dello strato ghiacciato	kg/m <sup>3</sup>
$\rho_{ice}$	Densità del ghiaccio (nei test gravimetrici)	kg/m <sup>3</sup>
$\tau$	Tortuosità dello strato secco	-

NB: sostituendo  $\dot{Q}$  a  $Q$  si ottengono i rispettivi flussi termici (in W)

## Bibliografia

- Fissore D., 2013, Freeze Drying of Pharmaceuticals. *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology, Fourth Edition*. 1723-1737.
- Fissore D. and Pisano R., 2015, Computer-aided framework for the design of freeze-drying cycles: optimization of the operating conditions of the primary drying stage. *Processes*. **3**(2), 406-421.
- Fissore D., Pisano R. and Barresi A.A., 2017, On the use of temperature measurement to monitor a freeze-drying process for pharmaceuticals. *2017 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC)*. Torino, Italy, 22-25 May 2017, 6pp.
- Fissore D., Gallo G., Ruggiero A.E. and Thompson T.N., 2019, On the use of a micro freeze-dryer for the investigation of the primary drying stage of a freeze-drying process. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **141**, 121-129.
- Fissore D., Pisano R. and Barresi A.A., 2020a, The freeze-drying of pharmaceutical products: Introduction and basic concepts, in “*Freeze Drying of Pharmaceutical Products*”, (D. Fissore, R. Pisano and A.A. Barresi, Eds.) Chap. 7. CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 1-10. [ISBN 978-0429-02207-4]
- Fissore D., Harguindeguy M., Ramirez D.V. and Thompson T.N., 2020b, Development of freeze-drying cycles for pharmaceutical products using a micro freeze-dryer. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **109**(1), 797-806.
- Geidobler R. and Winter G., 2013, Controlled ice nucleation in the field of freeze-drying: Fundamentals and technology review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **85**(2), 214-222.
- Geidobler R., Mannschedel S. and Winter G., 2012, A new approach to achieve controlled ice nucleation of supercooled solutions during the freezing step in freeze-drying. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **101**(12), 4409-4413.
- Goldman J.M., Chen X., Register J.T., Nesarikar V., Iyer L., Wu Y., Mugheirbi N. and Rowe J., 2019, Representative scale-down lyophilization cycle development using a seven-vial freeze-dryer (MicroFD®). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **108**(4), 1486-1495.
- Harguindeguy M. and Fissore D., 2021, Micro freeze-dryer and infrared-based PAT: novel tools for primary drying design space determination of freeze-drying processes. *Pharmaceutical Research*. **38**(4), 707-719.
- Ling W., 2013, *Using surface heat flux measurement to monitor and control a freeze drying process*. U.S. Patent US9121637B2
- Ling W., 2014, *Controlled nucleation during freezing step of freeze drying cycle using pressure differential ice crystals distribution from condensed frost*. U.S. Patent US8875413B2.
- Patel S.M., Doen T. and Pikal M.J., 2010, Determination of end point of primary drying in freeze-drying process control. *AAPS PharmSciTech*. **11**(1), 73-84.
- Pisano R., Fissore D. and Barresi A.A., 2011, Heat transfer in freeze-drying apparatus, in “*Developments in Heat Transfer*”, (M.A. Dos Santos Bernardes, Eds), Chap. 6. IntechOpen, pp. 91-114 [ISBN 978-953-307-569-3]

- Rambhatla S., Ramot R., Bhugra C. and Pikal M.J., 2004, Heat and mass transfer scale-up issues during freeze drying: II. control and characterization of the degree of supercooling. *AAPS PharmSciTech.* **5**(4), 54-62.
- Scutellà B., Plana-Fattori A., Passot S., Bourlès E., Fonseca F., Flick D. and Tréléa I.C., 2017, 3D mathematical modelling to understand atypical heat transfer observed in vial freeze-drying. *Applied Thermal Engineering.* **126**, 226–236.
- Searles J.A., Carpenter J.F. and Randolph T.W., 2001, Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freezing-induced drying rate heterogeneity, and determine  $T_g'$  in pharmaceutical lyophilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* **90**(7), 872-887.
- Thompson T.N. and Fissore D., 2019, Use of a micro freeze-dryer for developing a freeze-drying process, in “*Freeze Drying of Pharmaceutical Products*”, (D. Fissore, R. Pisano and A. Barresi, Eds.) Chap. 7. CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 131-143. [ISBN 978-0429-02207-4]
- Velardi S.A. and Barresi A.A., 2008, Development of simplified models for the freeze-drying process and investigation of the optimal operating conditions. *Chemical Engineering Research and Design.* **86**(1), 9-22.

## Appendice

Nella presente Appendice sono riportati i valori dei parametri  $K_v$ ,  $R_{p0}$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $a_0$  e  $a_1$  ottenuti in tutte le prove svolte nella Prima Parte di Tesi.

<b>PROVA 1</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>9.70</b>	<b>10.86</b>	<b>10.50</b>	<b>10.57</b>	<b>10.41</b>
$R_{p0}$	m/s	1.012E+03	6.254E+04	5.466E+04	3.836E+04	3.914E+04
$A$	1/s	7.927E+08	5.232E+09	2.517E+10	1.902E+09	8.273E+09
$B$	1/m	1.153E+04	6.624E+04	4.015E+05	2.220E+04	1.254E+05
$a_0$	m	4.124E-07	6.283E-08	1.304E-08	1.726E-07	1.652E-07
$a_1$	-	4.756E-03	4.162E-03	5.234E-03	3.833E-03	4.496E-03

<b>PROVA 2</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>13.45</b>	<b>13.26</b>	<b>12.98</b>	<b>12.91</b>	<b>13.15</b>
$R_{p0}$	m/s	2.553E+04	2.337E+04	5.192E+03	1.417E+04	1.707E+04
$A$	1/s	2.618E+10	2.348E+10	9.523E+10	1.022E+20	2.555E+19
$B$	1/m	2.301E+05	2.194E+05	8.320E+05	9.996E+14	2.499E+14
$a_0$	m	1.258E-08	1.401E-08	3.448E-09	3.213E-18	7.509E-09
$a_1$	-	2.894E-03	3.073E-03	2.868E-03	3.212E-03	3.012E-03

<b>PROVA 3</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>9.62</b>	<b>9.95</b>	<b>10.51</b>	<b>9.92</b>	<b>10.00</b>
$R_{p0}$	m/s	2.581E+04	2.494E+04	2.360E+04	3.647E+03	1.950E+04
$A$	1/s	6.136E+10	1.819E+10	7.864E+10	2.044E+10	4.465E+10
$B$	1/m	5.994E+05	1.407E+05	4.501E+05	1.381E+05	3.321E+05
$a_0$	m	5.349E-09	1.807E-08	4.190E-09	1.608E-08	1.092E-08
$a_1$	-	3.206E-03	2.544E-03	1.886E-03	2.221E-03	2.464E-03

<b>PROVA 4</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>13.74</b>	<b>15.15</b>	<b>14.40</b>	<b>14.84</b>	<b>14.53</b>
$R_{p0}$	m/s	5.340E+03	4.296E+04	3.248E+04	3.751E+04	2.957E+04
$A$	1/s	5.004E+08	3.259E+09	1.894E+10	8.553E+09	7.813E+09
$B$	1/m	8.518E+03	4.914E+04	3.723E+05	1.412E+05	1.428E+05
$a_0$	m	6.544E-07	1.009E-07	1.732E-08	3.841E-08	2.028E-07
$a_1$	-	5.574E-03	4.960E-03	6.448E-03	5.422E-03	5.601E-03

<b>PROVA 5</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>11.04</b>	<b>11.30</b>	<b>11.33</b>	<b>11.10</b>	<b>11.19</b>
$R_{p0}$	m/s	1.450E+04	2.884E+04	3.301E+03	5.486E+03	1.303E+04
$A$	1/s	2.876E+09	7.659E+09	2.648E+09	3.052E+09	4.059E+09
$B$	1/m	2.520E+04	6.709E+04	1.832E+04	2.400E+04	3.365E+04
$a_0$	m	1.142E-07	4.293E-08	1.242E-07	1.077E-07	9.727E-08
$a_1$	-	2.878E-03	2.881E-03	2.276E-03	2.584E-03	2.655E-03

<b>PROVA 6</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>14.88</b>	<b>15.54</b>	<b>15.09</b>	<b>14.93</b>	<b>15.11</b>
$R_{p0}$	m/s	<i>1.547E+04</i>	<i>2.020E+04</i>	<i>3.522E+04</i>	<i>3.654E+03</i>	<i>1.864E+04</i>
$A$	1/s	<i>3.255E+09</i>	<i>1.398E+09</i>	<i>3.147E+10</i>	<i>2.480E+09</i>	<i>9.652E+09</i>
$B$	1/m	<i>4.469E+04</i>	<i>1.522E+04</i>	<i>5.280E+05</i>	<i>2.844E+04</i>	<i>1.541E+05</i>
$a_0$	m	<i>1.008E-07</i>	<i>2.354E-07</i>	<i>1.043E-08</i>	<i>1.324E-07</i>	<i>1.198E-07</i>
$a_1$	-	<i>4.506E-03</i>	<i>3.584E-03</i>	<i>5.509E-03</i>	<i>3.767E-03</i>	<i>4.342E-03</i>

<b>PROVA 7</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>15.74</b>	<b>16.27</b>	<b>15.78</b>	<b>15.85</b>	<b>15.91</b>
$R_{p0}$	m/s	<i>1.134E+04</i>	<i>1.420E+04</i>	<i>6.583E+03</i>	<i>7.198E+02</i>	<i>8.213E+03</i>
$A$	1/s	<i>4.216E+09</i>	<i>1.986E+09</i>	<i>2.963E+09</i>	<i>2.420E+09</i>	<i>2.896E+09</i>
$B$	1/m	<i>5.395E+04</i>	<i>2.145E+04</i>	<i>3.502E+04</i>	<i>2.601E+04</i>	<i>3.411E+04</i>
$a_0$	m	<i>7.791E-08</i>	<i>1.657E-07</i>	<i>1.109E-07</i>	<i>1.358E-07</i>	<i>1.226E-07</i>
$a_1$	-	<i>4.203E-03</i>	<i>3.555E-03</i>	<i>3.884E-03</i>	<i>3.532E-03</i>	<i>3.794E-03</i>

<b>PROVA 8</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>14.07</b>	<b>14.13</b>	<b>14.44</b>	<b>14.50</b>	<b>14.29</b>
$R_{p0}$	m/s	<i>1.136E+04</i>	<i>1.132E+04</i>	<i>5.695E+03</i>	<i>2.291E+03</i>	<i>7.667E+03</i>
$A$	1/s	<i>1.178E+09</i>	<i>1.757E+09</i>	<i>1.385E+09</i>	<i>1.433E+09</i>	<i>1.438E+09</i>
$B$	1/m	<i>1.046E+04</i>	<i>1.549E+04</i>	<i>1.033E+04</i>	<i>1.020E+04</i>	<i>1.162E+04</i>
$a_0$	m	<i>2.950E-07</i>	<i>1.978E-07</i>	<i>2.513E-07</i>	<i>2.427E-07</i>	<i>2.467E-07</i>
$a_1$	-	<i>3.085E-03</i>	<i>3.064E-03</i>	<i>2.594E-03</i>	<i>2.475E-03</i>	<i>2.804E-03</i>

<b>PROVA 9</b>		<b>TP4</b>	<b>TP5 (*)</b>	<b>TP6</b>	<b>TP7</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>15.04</b>	<b>14.81</b>	<b>15.63</b>	<b>15.39</b>	<b>15.22</b>
$R_{p0}$	m/s	<i>5.836E+03</i>	<i>9.509E+03</i>	<i>2.016E+04</i>	<i>8.119E+02</i>	<i>8.936E+03</i>
$A$	1/s	<i>8.888E+08</i>	<i>6.353E+08</i>	<i>1.585E+09</i>	<i>5.713E+08</i>	<i>1.015E+09</i>
$B$	1/m	<i>6.840E+03</i>	<i>5.358E+03</i>	<i>1.179E+04</i>	<i>3.669E+03</i>	<i>7.433E+03</i>
$a_0$	m	<i>3.914E-07</i>	<i>5.471E-07</i>	<i>2.197E-07</i>	<i>6.097E-07</i>	<i>4.069E-07</i>
$a_1$	-	<i>2.677E-03</i>	<i>2.931E-03</i>	<i>2.591E-03</i>	<i>2.237E-03</i>	<i>2.502E-03</i>

(\*)  $R_{p,0}$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $a_0$  e  $a_1$  relativi al flacone contenente TP5 non sono stati considerati per il calcolo dei valori medi (in esso, infatti, la nucleazione è avvenuta prima dell'attivazione del FreezeBooster®)

<b>PROVA 10 (criterio Pi-Ba)</b>		<b>TP1</b>	<b>TP2</b>	<b>TP3</b>	<b>Valori medi</b>
$K_v$	W/m <sup>2</sup> K	<b>14.54</b>	<b>14.27</b>	<b>14.43</b>	<b>14.41</b>
$R_{p0}$	m/s	<i>1.027E+04</i>	<i>2.590E+03</i>	<i>1.241E+04</i>	<i>8.425E+03</i>
$A$	1/s	<i>5.143E+08</i>	<i>3.511E+08</i>	<i>5.534E+08</i>	<i>4.729E+08</i>
$B$	1/m	<i>3.936E+03</i>	<i>2.659E+03</i>	<i>4.529E+03</i>	<i>3.708E+03</i>
$a_0$	m	<i>6.408E-07</i>	<i>9.379E-07</i>	<i>5.951E-07</i>	<i>7.246E-07</i>
$a_1$	-	<i>2.522E-03</i>	<i>2.494E-03</i>	<i>2.695E-03</i>	<i>2.570E-03</i>



<b>PROVA 10 (<math>K_v</math> da REVO)</b>		<b>TP1</b>	<b>TP2</b>	<b>TP3</b>	<b>Valori medi</b>
$R_{p0}$	m/s	$8.017E+03$	$1.983E+03$	$9.620E+03$	$6.540E+03$
$A$	1/s	$3.197E+08$	$2.004E+08$	$3.180E+08$	$2.793E+08$
$B$	1/m	$3.149E+03$	$1.967E+03$	$3.325E+03$	$2.814E+03$
$a_0$	m	$1.031E-06$	$1.643E-06$	$1.036E-06$	$1.237E-06$
$a_1$	-	$3.246E-03$	$3.234E-03$	$3.446E-03$	$3.309E-03$

## Ringraziamenti

Questo lavoro segna la conclusione di un percorso lungo, intenso e stimolante, sotto tutti i punti di vista (formazione e crescita personale).

Ringrazio il mio relatore, Davide Fissore, per il costante supporto e per la passione che ha saputo comunicarmi e trasmettermi in tutto il corso del lavoro.

Un ringraziamento speciale va ovviamente ai miei genitori, Elena e Michele: grazie per avermi sostenuto, supportato (e anche sopportato) sempre: questo traguardo è anche vostro. Un grandissimo “grazie” è dedicato anche ai miei nonni, Pia e Vittorio e a mia zia Roberta, sempre presenti e al mio fianco in tutto.

Una particolare dedica va a tutto il gruppo del primo anno: Vincenzo, Cosimo, Ahmed, Natalia, Valeria, Niccolò, Edoardo, Fabiana, Miriana, Marco... avete avuto un ruolo chiave in quel famoso “salto nel vuoto” di inizio università... anche se, per forza di cose, le strade si sono divise, ricorderò con gioia ogni singolo momento passato insieme (e l’enorme numero di foto mi aiuterà sicuramente).

Non posso non fare una dedica speciale ad Ambra, collega (e grande amica) con cui sono riuscito a condividere l’intero percorso universitario, dal primissimo giorno della triennale fino alle prove sperimentali di questa Tesi: grazie per essere stata sempre presente, in ogni tappa. Un grandissimo “grazie” anche a Chiara, membro fondamentale del trio *Di tutto un po’*: condividere aiuti, consigli, risate, successi (e anche insuccessi) ha reso questi ultimi 2 anni ancora più belli.

Ringrazio tantissimo Silvia e Maria Lucia: i lunghi pranzi in mensa, tutte le lezioni, le battute, le risate, i pomeriggi a risolvere esercizi e “grattacapi”... anche in questo caso, le innumerevoli foto fissano ogni momento per sempre.

Ringrazio tutte le persone con cui ho avuto a che fare in questi anni tra le mura del Politecnico: con alcuni si è avuto modo di condividere poco, con altri tanto, ma ognuno ha avuto (e ha tuttora) la sua importanza in questa intensa esperienza.

Un enorme grazie va ai miei grandi amici di Extrepierez, in particolare Claudio, Annalisa e Giada: si può dire che siamo letteralmente cresciuti insieme e, nonostante la distanza geografica, siamo sempre uniti come ai tempi d’oro. Condividere con voi questo traguardo è quindi, per me, molto significativo.

Ringrazio anche tutti gli amici di Casale, con i quali ho condiviso varie tappe di questo percorso (tra pre-esame e post-esame) e tantissimi bei momenti di divertimento.

E infine ringrazio lei, Mary, la mia metà da 7 anni, la ragazza con cui ho condiviso e condivido tutto, dalla semplice quotidianità alle tappe finora più importanti della mia vita. Mi hai sempre supportato, sostenuto e incoraggiato, tirando fuori la parte migliore di me: questo traguardo è la fine di un percorso, ma allo stesso tempo è un grande nuovo inizio, tutto da vivere e condividere come abbiamo sempre fatto... questa è la nostra forza.