

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili



**Politecnico
di Torino**

Tesi di Laurea Magistrale

Studio della cristallizzazione del
cloridrato di tiamina e dei suoi idrati:
caratterizzazione e analisi

Relatori

Prof.ssa Elena SIMONE

Dott. Emmanuele PARISI

Dott.ssa Cecilia FIORE

Candidato

Fabio ZINGALE

Marzo 2024

Abstract

Le molecole organiche allo stato solido possono esibire diverse forme polimorfiche o anche idrate, se queste incorporano nel reticolo cristallino molecole d'acqua, a seconda delle condizioni con cui viene condotto il processo di cristallizzazione. Le diverse forme polimorfiche degli ingredienti farmaceutici attivi (API) possono differire in alcune caratteristiche cruciali come la solubilità in un dato solvente, il punto di fusione, la velocità di dissoluzione e la stabilità.

È importante quindi conoscere le diverse strutture cristalline esistenti per uno specifico composto e come queste strutture si trasformano. Inoltre, è necessario sapere quale sia la forma stabile in determinate condizioni e come isolare le altre diverse forme polimorfiche.

In questo lavoro di tesi è stato studiato il processo di cristallizzazione del cloridrato di tiamina (THCL), comunemente conosciuto come vitamina B1, un API utilizzato come integratore per soggetti deboli che, a causa di problemi di salute, non sono in grado di assorbirne una quantità adeguata tramite una dieta equilibrata. Si presenta come una polvere fine dal colore che varia dal bianco al giallo pallido.

Il cloridrato di tiamina può avere diversi idrati, in questa tesi si è focalizzata l'attenzione sullo studio delle forme monoidrato (MH) ed emiidrato (HH). Il primo passo di questo lavoro è stato quello di ottenere la curva di solubilità del materiale di partenza in un solvente 20% H₂O - 80% EtOH (w/w) tramite un metodo termogravimetrico a temperatura controllata.

Il secondo passo è stata la ricerca della zona metastabile utilizzando due velocità di raffreddamento differenti. Per questo step è stata monitorata la variazione di trasmittanza di un fascio di luce, e conseguentemente anche di assorbanza, per trovare il preciso momento di inizio del processo di cristallizzazione e la corrispondente temperatura. Per ogni esperimento le forme cristalline ottenute

sono state caratterizzate attraverso diffrazione di raggi X da polveri (PXRD) e spettroscopia Raman.

Per l'ultimo step del lavoro sono stati ripetuti gli esperimenti del precedente passo, per poi effettuare dei prelievi di cristalli dal cristallizzatore. Tramite l'osservazione dei campioni al microscopio a luce polarizzata sono state ricavate una serie di immagini, da cui è stato possibile ottenere una distribuzione di dimensioni dei cristalli. Considerando la forma aghiforme dei cristalli, le distribuzioni sono state prodotte considerando sia il lato lungo che quello corto. Anche in questo caso i risultati ottenuti con le due diverse velocità di raffreddamento sono stati messi a confronto.

I diffrattogrammi ottenuti al PXRD e gli spettri Raman sono stati confrontati con quelli trovati in letteratura ed è stata trovata un'ottima corrispondenza con strutture di tiamina esistenti, inoltre con questo lavoro di tesi è stata confermata anche l'emiidrato come forma termodinamicamente stabile, mentre la monoidrato come la forma cineticamente favorita durante la cristallizzazione da soluzione.

Dalle distribuzioni delle dimensioni sono stati ottenuti risultati dotati di senso fisico.

*“Verso il cielo è rivolto il mio sguardo
sei sempre insieme a me,
in ogni mio traguardo.”
A mio padre*

Indice

Elenco delle tabelle	X
Elenco delle figure	XI
Abbreviazioni	XVIII
1 Introduzione	1
1.1 Obiettivo della tesi	2
2 Stato dell'arte	3
2.1 Cristallizzazione e zona metastabile	3
2.1.1 Metodologie per la cristallizzazione	6
2.1.2 Limite metastabile	8
2.1.3 Nucleazione	8
2.1.4 Crescita dei cristalli	14
2.2 Polimorfismo	18
2.2.1 Definizione di polimorfismo	18
2.2.2 Cristallizzazione dei polimorfi	19
2.3 Cloridrato di Tiamina	21
2.3.1 Descrizione del cloridrato di tiamina	21
2.3.2 Forme polimorfiche	21
2.3.3 Transizione delle forme idrate	22
2.3.4 Dati cristallografici della tiamina	25
2.4 Tecniche di analisi e caratterizzazione dei cristalli	27
2.4.1 Diffrazione ai raggi X per polveri (PXRD)	27

2.4.2	Spettroscopia Raman	28
2.4.3	Microscopia ottica a luce polarizzata	31
2.4.4	Analisi della torbidità	31
3	Materiali e metodi sperimentali	33
3.1	Materiali	33
3.2	Curva di solubilità	33
3.3	Zona metastabile	35
3.4	Tecniche di caratterizzazione dei cristalli	38
3.4.1	Diffrazione ai raggi X per polveri (PXRD)	38
3.4.2	Spettroscopia Raman	38
3.5	Distribuzioni di dimensioni	39
4	Discussione dei risultati	41
4.1	Risultati curva di solubilità	41
4.2	Risultati zone metastabili	46
4.3	Risultati prove di riscaldamento	49
4.4	Risultati prove di caratterizzazione	52
4.4.1	Diffrattogrammi ottenuti al PXRD	52
4.4.2	Spettri ottenuti al Raman	55
4.5	Risultati distribuzioni di dimensioni	58
5	Conclusioni e sviluppi futuri	66
A	Grafici zone metastabili	68
B	Grafici prove di riscaldamento	72
C	Grafici distribuzioni di dimensioni	76
	Bibliografia	83

Elenco delle tabelle

2.1	Informazioni cristallografiche dei due idrati del THCL	26
3.1	Quantità di soluto necessario per raggiungere la saturazione a diverse temperature	35
4.1	Misure dei pesi per il calcolo delle concentrazioni di saturazione alle varie temperature	42
4.2	Valori medi e deviazioni standard del fattore di forma e delle dimensioni dei cristalli ottenuti dai vari esperimenti	64

Elenco delle figure

2.1	Curve di solubilità di vari composti in 100 g di H ₂ O [1]	4
2.2	Rappresentazione grafica della zona metastabile (tratto da [2] e modificato)	5
2.3	Rappresentazione grafica del percorso per passare dalla zona stabile alla zona labile (tratto da [4] e modificato)	7
2.4	Variazione dell'energia libera di Gibbs in funzione della dimensione della fase dispersa (tratto da [3] e modificato)	10
2.5	Velocità di nucleazione omogenea ed eterogenea in funzione del grado di sovrasaturazione (tratto da [2] e modificato)	13
2.6	Variazione di concentrazione di particelle solide nel liquido in funzione della distanza dalla superficie del cristallo (tratto da [6] e modificato)	15
2.7	Regola delle fasi di Ostwald: dalla soluzione (S) cristallizza solo la forma meno stabile (4), che si trasforma sequenzialmente nelle forme via via più stabili [8]	19
2.8	Teoria classica della nucleazione e della crescita: dalla soluzione (S) si formano parallelamente tutte le forme, dalla meno stabile (4) alla più stabile (1) [8]	20
2.9	Molecola di tiamina monoidrato [12]	22
2.10	Molecola di tiamina emiidrato [13]	22
2.11	Rappresentazioni schematica delle condizioni a cui avvengono le transizioni tra le tre forme cristalline considerate	23
2.12	Fascio di raggi X incidente e diffratto che segue la Legge di Bragg [18]	28
2.13	Illustrazione di un'onda elettromagnetica (luce monocromatica) [20]	29

2.14	Rappresentazione grafica della diffusione della luce nei casi elastico e anelastici [21]	30
2.15	Sensore ad inserzione: (1) Cammino ottico, (2) Ottiche in zaffiro, (3) Sensore di misura, (4) Filtro luce ambiente, (5) Sorgente luce LED [24]	32
3.1	Reattore Radleys da 1L con sonda di temperatura (bianca) e sonda ASD12-N Optek	36
3.2	Esempio di binarizzazione e approssimazione dei cristalli con un'ellisse tramite la funzione <i>Fit Ellipse</i>	40
4.1	Curva di solubilità del materiale di partenza	44
4.2	Grafico di Van't Hoff della solubilità	45
4.3	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di raffreddamento di -1°C/min	47
4.4	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di raffreddamento di -0.5°C/min	47
4.5	Rappresentazione grafica della zona metastabile al variare della velocità di raffreddamento, rispetto alla curva di solubilità	48
4.6	Confronto tra la curva ottenuta con il metodo termo-gravimetrico statico e la curva ottenuta con il metodo dinamico	49
4.7	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di riscaldamento di 0.5°C/min, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a -1°C/min	50
4.8	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di riscaldamento di 0.5°C/min, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a -0.5°C/min	50
4.9	Confronto tra il diffrattogramma ricavato con il materiale di partenza e i diffrattogrammi delle rispettive forme idrate ottenuti dalla banca dati del CCDC	52
4.10	Confronto tra il diffrattogramma ricavato dal campione a 15°C della curva di solubilità i diffrattogrammi delle rispettive forme idrate ottenuti dalla banca dati del CCDC	53

4.11	Confronto tra il diffrattogramma ricavato dal campione a $45^{\circ}C$ della curva di solubilità i diffrattogrammi delle rispettive forme idrate ottenuti dalla banca dati del CCDC	54
4.12	Diffrattogrammi relativi agli idrati MH (B) e HH (C), tratto da [25] e modificato	55
4.13	Spettri Raman della forma HH (in alto) e MH (in basso) nel range di numero d'onda $200-1700\text{ cm}^{-1}$	56
4.14	Confronto tra HH e MH nel range di numero d'onda $1580-1690\text{ cm}^{-1}$	57
4.15	Confronto tra HH e MH nel range di numero d'onda $1580-1690\text{ cm}^{-1}$, tratto da [26] e modificato	57
4.16	Fotografia ottenuta con la camera dello spettrometro Raman utilizzando la lente 10x	58
4.17	Fotografia ottenuta con la camera dello spettrometro Raman utilizzando la lente 50x	59
4.18	Fotografia di un campione di cristalli prelevato dall'esperimento con la concentrazione di saturazione relativa alla temperatura di $40^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento pari a $-1^{\circ}C/min$	60
4.19	Fotografia di un campione di cristalli prelevato dall'esperimento con la concentrazione di saturazione relativa alla temperatura di $40^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento pari a $-0.5^{\circ}C/min$	60
4.20	Esempio di processo di ricalcatura e binarizzazione delle immagini dei cristalli al microscopio	61
4.21	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	62
4.22	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	62

4.23	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	63
4.24	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	63
A.1	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $35^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	69
A.2	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $35^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	69
A.3	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $45^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	70
A.4	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $45^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	70
A.5	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $50^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	71
A.6	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $50^{\circ}C$ e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	71
B.1	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $35^{\circ}C$ e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}C/min$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}C/min$	73
B.2	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $35^{\circ}C$ e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}C/min$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}C/min$	73
B.3	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $45^{\circ}C$ e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}C/min$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}C/min$	74
B.4	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $45^{\circ}C$ e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}C/min$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}C/min$	74

B.5	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $50^{\circ}C$ e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}C/min$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}C/min$	75
B.6	Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a $50^{\circ}C$ e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}C/min$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}C/min$	75
C.1	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	77
C.2	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	77
C.3	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	78
C.4	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	78
C.5	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	79
C.6	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	79

C.7	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperienza con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	80
C.8	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperienza con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	80
C.9	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperienza con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	81
C.10	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperienza con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$	81
C.11	Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperienza con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	82
C.12	Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperienza con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$	82

Abbreviazioni

API Active Pharmaceutical Ingredient

CCDC Cambridge Crystallographic Data Centre

CNT Classical Nucleation Theory

DSC Differential Scanning Calorimetry

ID Isomorphic Desolvate

HH Hemihydrate

MH Monohydrate

ORS Ostwald Rule of Stages

PLM Polarized Light Microscopy

PXRD Powder X-Ray Diffraction

THCL Thiamine Hydrochloride

Capitolo 1

Introduzione

Molti composti chimici possono esistere, quando sono allo stato solido, in diverse forme cristalline a seconda di alcuni parametri a cui sono soggetti durante il processo di cristallizzazione, come temperatura, pressione, umidità e solvente utilizzato durante la cristallizzazione. Questo fenomeno è chiamato polimorfismo ed è molto importante nella cristallizzazione degli ingredienti farmaceutici attivi (API), poiché ogni forma può essere caratterizzata da diverse proprietà fondamentali, quali la solubilità in un dato solvente, la velocità di dissoluzione ma soprattutto la stabilità in determinate condizioni.

Gli idrati, un sottotipo di solvati solidi, differiscono dai polimorfi per la presenza nel reticolo cristallino di molecole d'acqua. Questi possiedono una struttura che potrebbe differire da quella dell'equivalente anidra e quindi avere diverse caratteristiche chimico-fisiche.

Quando si tratta di API è interessante, oltre che significativo nell'industria farmaceutica, essere in grado di prevedere e saper descrivere con precisione le diverse strutture cristalline esistenti per uno specifico composto chimico, oltre che conoscere dettagliatamente come ed in quali condizioni avvengano le trasformazioni tra le varie forme dei cristalli. Inoltre, è di vitale importanza comprendere come isolare una forma idrata piuttosto che un'altra.

1.1 Obiettivo della tesi

In questo lavoro di tesi viene studiato il processo di cristallizzazione del cloridrato di tiamina (THCL), conosciuto come vitamina B1, un API commercializzato come integratore alimentare. I cristalli di tiamina possono presentarsi in diverse forme idrate ma in questo lavoro vengono studiate due forme in particolare: la monoidrata (MH) e l'emiidrata (HH).

L'obiettivo è quello di studiare la stabilità di queste due forme idrate durante il processo di cristallizzazione e di caratterizzarne e comprenderne i comportamenti al variare dei parametri operativi del processo di cristallizzazione.

Questa tesi è composta da 4 capitoli:

- Capitolo 2: viene riportata la teoria riguardante i processi di cristallizzazione ed il polimorfismo. In aggiunta, viene offerta una panoramica sulle caratteristiche del cloridrato di tiamina e dei suoi idrati, delle sue proprietà e dei suoi utilizzi. Infine, è descritta brevemente la teoria dietro le tecniche di caratterizzazione dei solidi cristallini utilizzate in questo lavoro di tesi.
- Capitolo 3: sono illustrate le metodologie ed i materiali utilizzati nello svolgimento degli esperimenti sostenuti in laboratorio.
- Capitolo 4: vengono presentati e discussi i risultati ottenuti negli esperimenti.
- Capitolo 5: sono esposte le conclusioni legate al lavoro svolto in laboratorio e vengono introdotti i possibili sviluppi futuri.

Capitolo 2

Stato dell'arte

2.1 Cristallizzazione e zona metastabile

La cristallizzazione è una tecnologia utilizzata in processi di purificazione e separazione per una larga gamma di materiali, che spaziano dai prodotti chimici a prodotti farmaceutici. L'interesse per la tecnologia di cristallizzazione è aumentato notevolmente negli anni ed ha raggiunto nuovi campi di applicazione, come ad esempio la cristallizzazione delle proteine o la cristallizzazione utilizzata nell'industria alimentare.

Durante una cristallizzazione si ha una transizione di fase da uno stato liquido o di soluzione, ad uno stato solido, con una disposizione delle molecole in una struttura cristallina e quindi ordinata.

La cristallizzazione da una soluzione è un processo molto usato, per la cui applicazione e sviluppo è richiesta un'ottima conoscenza degli equilibri in soluzione ed allo stato solido. Si ottiene una soluzione combinando un soluto solido con un solvente. Ad una data temperatura, esiste una quantità massima di soluto che può dissolversi all'interno del solvente che prende il nome di solubilità, quando questa condizione viene raggiunta si dice che la soluzione è satura. La solubilità è solitamente una funzione della temperatura ed in molti casi aumenta con l'aumentare di essa, disegnando quella che viene definita curva di solubilità.

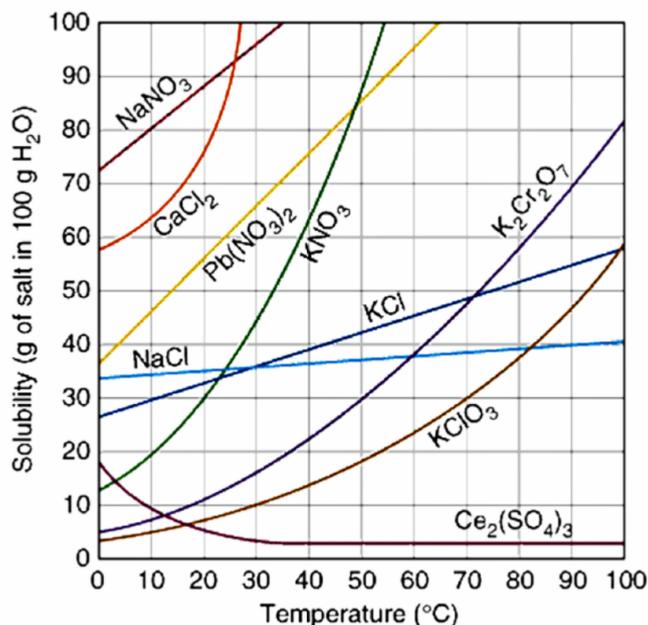


Figura 2.1: Curve di solubilità di vari composti in 100 g di H₂O [1]

Le curve di solubilità descrivono quindi la quantità massima di soluto che è possibile dissolvere all'interno di una data quantità di solvente al variare della temperatura. Più è alta la curva di solubilità e più è alta la concentrazione di solido che posso dissolvere, viceversa quando la curva è più bassa. Degli esempi sono mostrati in figura 2.1, in cui sono rappresentate le curve per alcune specie chimiche.

Tramite le curve di solubilità si può dunque descrivere lo stato della soluzione: se ad esempio, ad una data temperatura, si ha una concentrazione per cui ci si trova sotto la curva di solubilità, la soluzione sarà sottosatura, ovvero conterrà meno soluto di quello che potrebbe contenere. Se nelle stesse condizioni di temperatura si ha una concentrazione per cui ci si trova sopra la curva di solubilità, la soluzione sarà sovrasatura, ovvero conterrà più soluto di quello che può dissolvere.

Tuttavia, la soluzione può mantenere la condizione di sovrasaturazione in un certo range di concentrazioni senza la formazione di cristalli per un certo periodo. Questa regione del diagramma di fase è chiamata zona metastabile ed il periodo che intercorre tra la creazione della sovrasaturazione e la formazione dei primi cristalli è chiamato tempo di induzione. Questo tempo può essere più o meno lungo a

seconda del sistema studiato.

La figura 2.2 mostra il caratteristico andamento della concentrazione di soluto durante una cristallizzazione per raffreddamento.

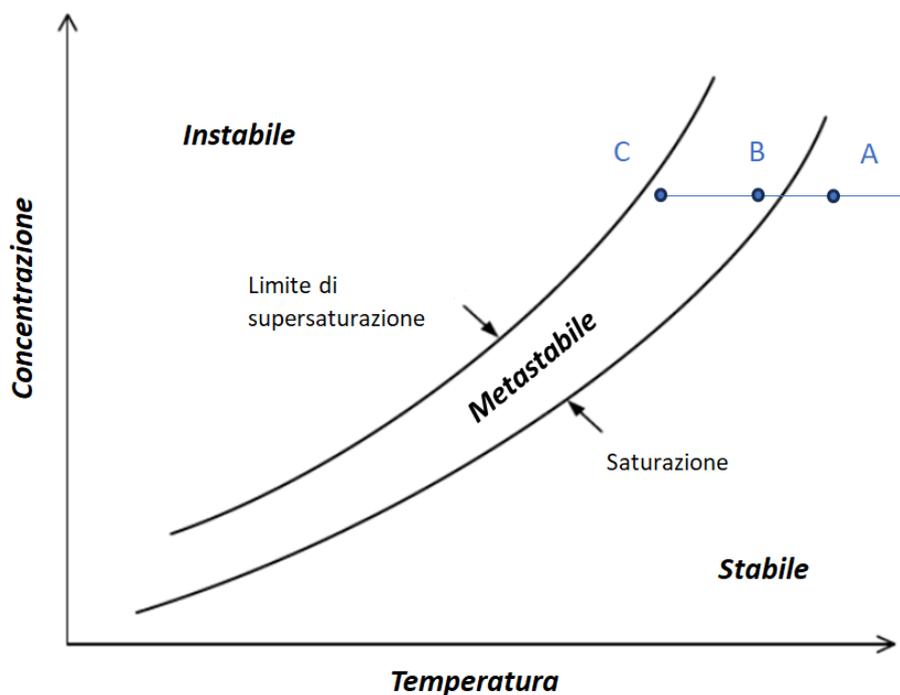


Figura 2.2: Rappresentazione grafica della zona metastabile (tratto da [2] e modificato)

Partendo dal punto A, punto all'interno della zona stabile del sistema dove la cristallizzazione non può avvenire, si inizia a raffreddare la soluzione muovendosi orizzontalmente verso valori di temperatura inferiori, attraversando la curva di solubilità fino ad arrivare al punto B, dove ci si trova dentro la zona metastabile e quindi con un certo grado di sovrasaturazione. In questo punto per vedere cristallizzare la soluzione sarà necessario attendere per un tempo di induzione I_1 . Raffreddando ancora fino ad arrivare al punto C si andrà a variare il grado di saturazione, che in questo caso sarà più alto. Per vedere cristallizzare la soluzione bisognerà attendere per un altro tempo di induzione I_2 , differente dal precedente. Nel secondo caso, avendo un grado di sovrasaturazione più alto rispetto al primo caso, si avrà un tempo di induzione più basso: $I_2 < I_1$. Con l'aumentare della forza spingente ci si avvicina sempre di più a una situazione di instabilità, fino

al superamento del limite di metastabilità (zona labile o instabile) in cui ci si trova in condizioni lontane dall'equilibrio termodinamico. In queste condizioni il sistema tende quindi a riportarsi all'equilibrio tramite la cristallizzazione del soluto, diminuendo la concentrazione dello stesso in soluzione.

Il grado di sovrasaturazione può essere descritto come *differenza di concentrazioni*:

$$\Delta S = C - C^* \quad (2.1)$$

come *rapporto tra concentrazioni*:

$$S = \frac{C}{C^*} \quad (2.2)$$

oppure come *sovrasaturazione relativa*:

$$\sigma = \frac{\Delta S}{C^*} = S - 1 \quad (2.3)$$

dove C rappresenta la concentrazione di sovrasaturazione mentre C^* la concentrazione di equilibrio o di solubilità [3]. La sovrasaturazione è definita come la forza spingente per i processi di cristallizzazione.

2.1.1 Metodologie per la cristallizzazione

Ci sono molte procedure che possono essere sfruttate per creare e mantenere le condizioni necessarie per il processo di cristallizzazione. Queste procedure servono ad indurre una sovrasaturazione nella soluzione e vengono classificate in base al metodo che utilizzano per generarla. Questi metodi sono principalmente quattro:

- *Raffreddamento*: diminuendo la temperatura, come è possibile notare dalla figura 2.3, diminuisce la quantità di soluto che la soluzione può contenere al suo interno. Di conseguenza passando dal punto A al punto B si passa dalla zona stabile alla zona labile, il che instaura il processo di cristallizzazione per riportare la soluzione all'equilibrio.
- *Evaporazione del solvente*: è il secondo metodo più utilizzato per generare sovrasaturazione. Rimuovendo il solvente tramite evaporazione si va a concentrare la soluzione. Considerando di mantenere la temperatura costante, come

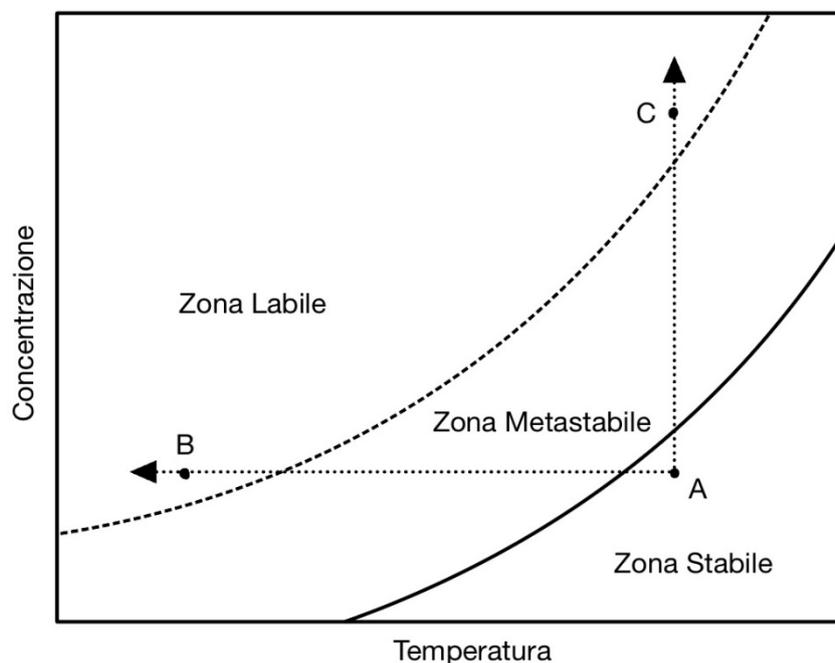


Figura 2.3: Rappresentazione grafica del percorso per passare dalla zona stabile alla zona labile (tratto da [4] e modificato)

è possibile notare dalla figura 2.3, si passa dal punto A al punto C e come nel caso precedente si giunge nella zona labile che instaura il fenomeno della cristallizzazione.

- *Variazione della composizione del solvente:* questo metodo consiste nell'aggiungere al sistema un altro solvente, chiamato antisolvente, per creare un mix di solventi in cui la solubilità del soluto sia ridotta. In questo caso è importante avere un buon mixing per non avere zone più o meno sovrasature nel cristallizzatore.
- *Reazione chimica:* in questo caso, due materiali solubili vengono aggiunti insieme in soluzione e reagiscono per formare un prodotto con una bassa solubilità. Poiché la solubilità del prodotto viene presto superata, la soluzione diventa sovrasatura ed il materiale cristallizza. Come nel caso precedente è necessario avere una buona miscelazione per evitare profili di concentrazione elevati all'interno del cristallizzatore [4].

2.1.2 Limite metastabile

Come discusso precedentemente, affinché la cristallizzazione avvenga è necessaria una soluzione sovrasatura. Questa è lontana dall'equilibrio, per cui per riportarsi in condizioni stabili la soluzione inizia a cristallizzare mediante due processi che possono avvenire in contemporanea chiamati nucleazione e crescita dei cristalli.

Nella zona metastabile la nucleazione primaria solitamente non è spontanea. Aumentando il grado di sovrasaturazione si raggiunge una forza motrice abbastanza elevata da far avvenire la nucleazione spontaneamente (zona labile, limite della zona metastabile). La misura della zona metastabile in laboratorio è importante perché su questa vengono definite le zone di lavoro per i processi di cristallizzazione industriale, nello specifico la larghezza della zona metastabile aiuta a comprendere il comportamento di nucleazione di un sistema.

La larghezza della zona metastabile è influenzata da alcuni fattori e dalla storia della soluzione: ad esempio da come questa è stata prodotta o da come è stata conservata, dalla velocità di raffreddamento che è stata utilizzata e da eventuali impurità presenti in soluzione, tra cui polvere e contaminanti. Di conseguenza la sua misura non è semplice [3].

2.1.3 Nucleazione

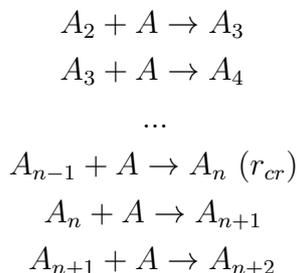
La nucleazione è il processo di formazione di piccole particelle della nuova fase, che successivamente crescono diventando particelle più grandi. Può essere distinta in primaria o secondaria in relazione alla presenza o meno di cristalli della stessa natura nella fase liquida primitiva (ovvero la fase prima dell'inizio della cristallizzazione). La nucleazione primaria può essere distinta in nucleazione omogenea e nucleazione eterogenea: il primo fenomeno è spontaneo, attivato e controllato dalla sola sovrasaturazione, ed avviene in soluzioni prive di particelle sospese, mentre il secondo è un fenomeno facilitato dalla presenza di superfici solide estranee al sistema che possono essere particelle solide preesistenti, polvere o pareti del contenitore che fungono da sito di nucleazione [3].

Nucleazione omogenea

La nucleazione omogenea, come detto in precedenza, è un processo spontaneo attivato e controllato dalla sola supersaturazione che si avvia soltanto in assenza totale di impurità o corpi estranei in soluzione, motivo per cui è un processo idealizzato che si verifica raramente nella pratica. Nonostante questo, è la base di alcune teorie sulla nucleazione come, ad esempio, la teoria della nucleazione classica e la teoria della nucleazione in due fasi. Nella teoria classica si considera un sistema inizialmente formato da un numero di molecole, che ad un certo tempo possono formare un cluster. La formazione del cluster inizia quando due molecole collidono formando un dimero:



Questo processo è reversibile in quanto il dimero può andare incontro ad una rottura tornando allo stato iniziale. Secondo la termodinamica questo processo è sfavorito quindi in via teorica la rottura del dimero è più veloce della sua formazione. È comunque possibile che il dimero collida con un'altra molecola per formare un cluster formato da tre unità, dando il via ad una sequenza che porta ad un cluster sempre più grande:



Ad un certo punto di questa sequenza si formerà un cluster di dimensione critica di n elementi. Al di sotto di questa dimensione critica le reazioni di aggiunta di molecole sono sfavorite termodinamicamente, per cui ci si aspetta che queste reazioni si verifichino con meno frequenza rispetto alle reazioni inverse di rottura. In ogni caso, statisticamente, si riesce a formare un nucleo critico che continuerà a crescere con altre reazioni di addizione irreversibili.

Si assume che i cluster possano reagire unicamente con altre molecole singole, ma non tra di loro.

La velocità con cui si formano i nuclei è data da una legge di tipo Arrhenius:

$$J_0 = A \exp\left(-\frac{\Delta G_{cr}}{kT}\right) \quad (2.4)$$

Dove A è il fattore pre-esponenziale, k è la costante di Boltzman, T è la temperatura in gradi Kelvin ed infine ΔG_{cr} è l'energia libera di Gibbs necessaria per formare un nucleo critico.

Per spiegare il perché le prime reazioni, che portano alla formazione del nucleo critico, sono termodinamicamente sfavorite bisogna valutare la differenza di energia libera di Gibbs tra lo stato iniziale e finale. Questa variazione per la formazione della nuova fase è la somma tra la variazione di energia libera per la formazione della superficie del nucleo ΔG_s (quantità positiva), e la variazione di energia libera utile per la formazione del volume ΔG_v (quantità negativa).

$$\Delta G = \Delta G_v + \Delta G_s = (\Delta g_v)V + (\Delta g_s)S = \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta g_v + 4\pi r^2 \sigma \quad (2.5)$$

dove σ è la tensione superficiale, r il raggio del cluster di molecole.

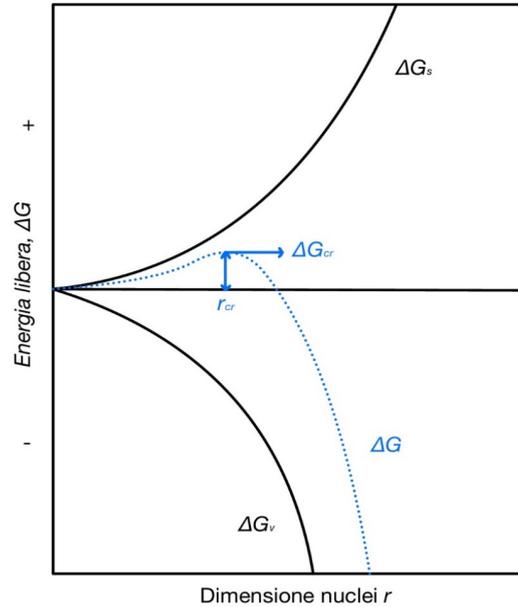


Figura 2.4: Variazione dell'energia libera di Gibbs in funzione della dimensione della fase dispersa (tratto da [3] e modificato)

Se si considera la variazione di energia libera in funzione della dimensione dei cluster si ottiene il grafico in figura 2.4: si notano i due contributi, uno di volume che è negativo e proporzionale a r^3 , l'altro di superficie che è positivo e proporzionale a r^2 . Sommando i due contributi si nota che per r piccoli prevale il contributo di superficie, mentre per r molto elevati prevale il contributo di volume. Il raggio critico r_{cr} può essere trovato minimizzando la funzione dell'energia libera e graficamente corrisponde al punto massimo dell'andamento:

$$\frac{d(\Delta G)}{dr} = 8\pi r_{cr}\sigma + 4\pi r_{cr}^2\Delta g_v = 0 \quad (2.6)$$

che diventa:

$$\Delta g_v = -\frac{2\sigma}{r_{cr}}. \quad (2.7)$$

Sostituendo l'equazione 2.7 nell'equazione 2.5, e considerando che la crescita dei cluster è governata dall'equazione di Gibbs-Thompson:

$$\Delta G_{cr} = \frac{16\pi\sigma^3\nu^2}{3(kT \ln S)^2} \quad (2.8)$$

si ottiene infine l'equazione finale della velocità di nucleazione:

$$J_0 = A \exp\left(-\frac{16\pi\sigma^3\nu^2}{3k^3T^3(\ln S)^2}\right) \quad (2.9)$$

dove ν è il volume molecolare ed S il grado di sovrasaturazione.

È importante notare dall'equazione 2.9 che al crescere della sovrasaturazione cresce la velocità di nucleazione. Anche la temperatura ha un effetto sulla velocità, anche se non direttamente. Infatti, la variazione della temperatura ha effetto sulla solubilità e quindi sulla sovrasaturazione [3].

Nucleazione eterogenea

La nucleazione eterogenea, come spiegato precedentemente, riguarda la formazione di nuclei favorita dalla presenza di fasi solide estranee che agiscono da catalizzatori per la nucleazione. È un processo molto più diffuso rispetto alla nucleazione omogenea, in quanto è complicato mantenere un sistema perfettamente limpido con assenza di impurità o contaminanti. Questa situazione normalmente non è

riproducibile per cui la descrizione è approssimativa.

Per capire in che modo l'eterogeneità influenza la velocità di nucleazione, si mettono a confronto i due meccanismi, in cui per entrambi i casi si ha un'equazione del tipo:

$$J_0 = A \exp\left(-\frac{\Delta G_{cr}}{kT}\right) \quad (2.10)$$

La velocità di nucleazione è data dal prodotto del fattore pre-esponenziale, che dipende dalla velocità di collisione tra le molecole ed il cluster critico, ed il termine esponenziale in cui è contenuta la variazione di energia libera critica ΔG_{cr} .

- Nel caso *omogeneo*: il fattore esponenziale è controllato dalla sola sovrasaturazione

$$J_0^{omo} = A \exp\left(-\frac{16\pi\sigma^3\nu^2}{3k^3T^3(\ln S)^2}\right) \quad (2.11)$$

- Nel caso *eterogeneo*: l'equazione precedente viene mantenuta ma il termine nell'esponenziale viene generalmente ridotto da un fattore $f(\theta)$ che deriva dalla tensione ed energia superficiale che varia rispetto al caso omogeneo

$$J_0^{ete} = A \exp\left(-\frac{16\pi\sigma^3\nu^2 f(\theta)}{3k^3T^3(\ln S)^2}\right) \quad (2.12)$$

Durante la nucleazione i due meccanismi avvengono in contemporanea, ciò significa che alcuni nuclei si formano con nucleazione omogenea ed altri con nucleazione eterogenea. La velocità di nucleazione, dunque, sarà la somma delle velocità con cui avvengono i due meccanismi.

$$J_0 = J_0^{omo} + J_0^{ete} \quad (2.13)$$

Riportando le due velocità su un diagramma logaritmico si ottiene il grafico in figura 2.5:

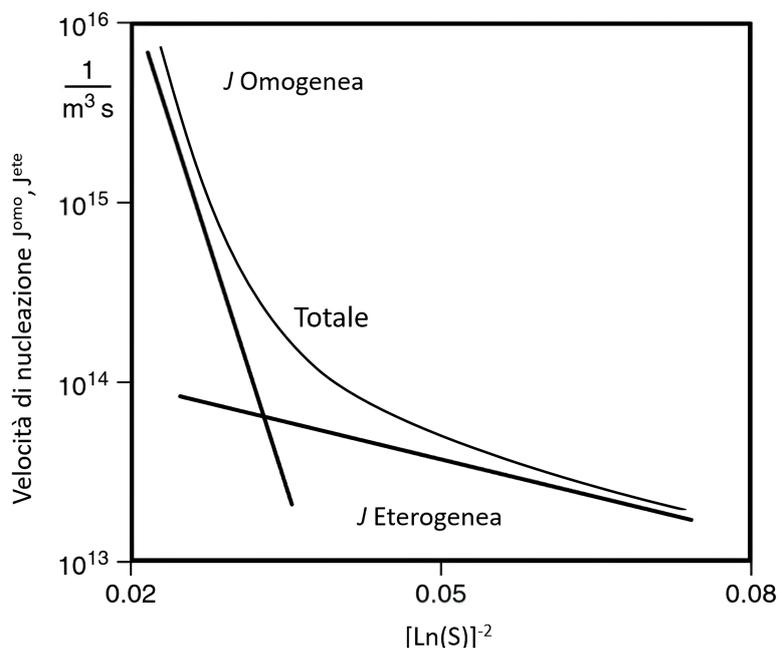


Figura 2.5: Velocità di nucleazione omogenea ed eterogenea in funzione del grado di sovrasaturazione (tratto da [2] e modificato)

Sommando i due andamenti si nota che per alti valori di S il fenomeno di nucleazione omogenea prevale, viceversa per bassi valori di S prevale il meccanismo eterogeneo [2].

Nucleazione secondaria

La nucleazione secondaria è un fenomeno che può presentarsi durante il processo di cristallizzazione. A differenza della nucleazione primaria, si verifica quando i nuovi cristalli si formano in presenza di cristalli già esistenti in soluzione.

Il fenomeno avviene attraverso due meccanismi:

1. I cristalli già esistenti fungono da siti di nucleazione se presentano difetti nella struttura cristallina, come impurità, vacanze o dislocazioni, che permettono l'adesione di atomi o molecole e la formazione di nuovi cristalli.
2. Poiché i nuovi cristalli crescono su di una superficie già cristallina, invece che su un'interfaccia liquido-solido, l'energia necessaria per la formazione di nuovi legami atomici è generalmente inferiore rispetto al caso della nucleazione

primaria, quindi è possibile avere nucleazione a valori di sovrasaturazione inferiori.

Alcuni parametri, come temperatura, pressione, composizione e velocità di raffreddamento, possono influenzare la probabilità e la portata del fenomeno di nucleazione secondaria. Generalmente si cerca di evitare questo tipo di nucleazione perché può portare alla formazione di fasi cristalline non desiderate e di distribuzioni di dimensioni di cristalli non omogenee. Tuttavia, è importante specificare che il fenomeno può essere controllato e minimizzato con la gestione dei parametri sopra citati [5].

2.1.4 Crescita dei cristalli

La crescita dei cristalli è il processo che avviene dopo la nucleazione, per cui molecole che fanno parte dell'ambiente circostante una particella si muovono verso di essa e vengono inclusi, aumentandone le dimensioni. La particella ha una dimensione caratteristica L , corrispondente al diametro. Si definisce velocità di crescita la velocità con cui varia la dimensione della particella rispetto al tempo:

$$G = \frac{dL}{dt} \quad (2.14)$$

Il fenomeno di accrescimento di un cristallo è da attribuire a due step consecutivi che avvengono in serie:

1. *Diffusione*, ovvero il trasporto delle molecole dal bulk del liquido alla superficie della particella.
2. *Integrazione superficiale*, ossia l'incorporazione delle molecole nella struttura cristallina.

Si considera la superficie di una particella e si assume come piana. Diagrammando la concentrazione di particelle solide nel liquido al variare della posizione dalla suddetta superficie solida otteniamo ciò che si mostra nella figura 2.6:

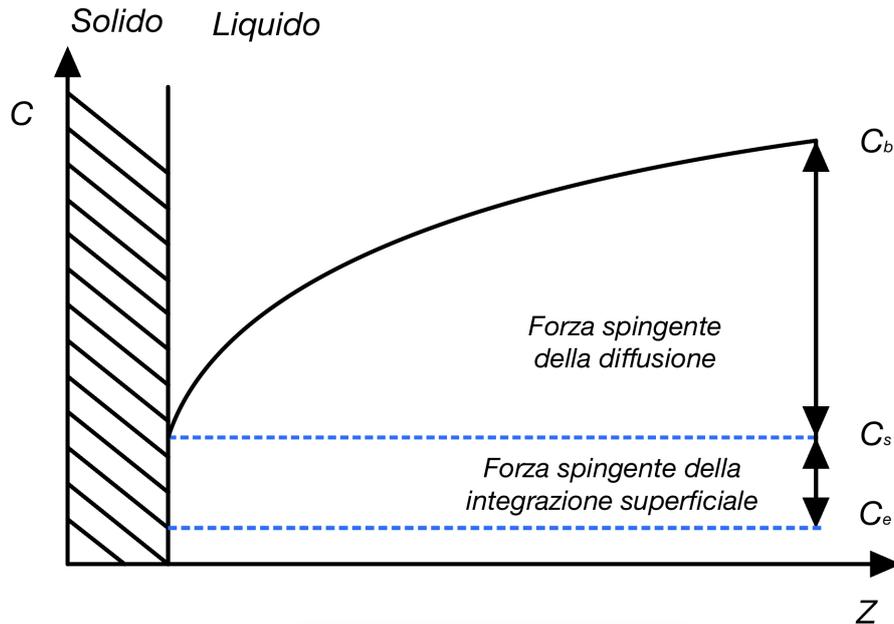


Figura 2.6: Variazione di concentrazione di particelle solide nel liquido in funzione della distanza dalla superficie del cristallo (tratto da [6] e modificato)

In figura 2.6 sono evidenziate tre concentrazioni degne di nota:

- C_b concentrazione di soluto nel bulk (lontano dalla superficie del cristallo);
- C_s concentrazione di soluto in prossimità della superficie solida;
- C^* concentrazione di equilibrio o solubilità.

Si definisce infine il flusso di soluto J . Considerando il flusso dovuto alla diffusione dal bulk alla superficie del solido, il flusso può essere definito come segue:

$$J_{mt} = k_{mt}(C_b - C_s) \quad (2.15)$$

dove $(C_b - C_s)$ rappresenta la forza spingente del trasferimento di massa e k_{mt} il coefficiente di trasferimento di massa.

Allo stesso modo possiamo definire il flusso dovuto allo step dell'integrazione, che a differenza dello step precedente però presenta un esponente empirico g che dipende dal meccanismo specifico:

$$J_{si} = k_{si}(C_s - C^*)^g \quad (2.16)$$

dove $(C_s - C^*)$ rappresenta la forza spingente dell'integrazione superficiale e k_{si} il coefficiente di integrazione superficiale.

I due flussi devono essere necessariamente uguali, per fare in modo che ogni particella che raggiunge la superficie riesca ad essere incorporata nel solido cristallino.

Le concentrazioni C^* e C_b sono note, è possibile calcolare il valore di C_s :

$$k_{mt}(C_b - C_s) = k_{si}(C_s - C^*)^g \quad (2.17)$$

Se $k_{mt} \gg k_{si}$, la velocità della diffusione è molto più elevata rispetto alla velocità dell'integrazione, di conseguenza per mantenere i flussi uguali è necessario che la forza spingente della diffusione sia tendente allo zero, ovvero che la concentrazione nel bulk sia simile alla concentrazione nei pressi della superficie. Tutta la forza spingente risiede nel secondo step.

Se $k_{mt} \ll k_{si}$, si ricade nel caso opposto e la diffusione diventa lo step limitante. Tutta la forza spingente viene utilizzata nel trasferimento di massa.

Considerando la diffusione come step limitante è possibile valutare la velocità di crescita G tramite un bilancio di materia alla particella:

$$M \frac{dn}{dt} = JAM \quad (2.18)$$

con n numero di moli, M massa molare e A superficie solida.

Svolgendo alcune semplificazioni al primo membro e assumendo che il cristallo abbia forma sferica si ottiene:

$$M \frac{dn}{dt} = \frac{dm}{dt} = \frac{d}{dt} \left(\rho_p \frac{\pi}{6} L^3 \right) = \rho_p \frac{\pi}{6} \frac{dL^3}{dt} = \rho_p \frac{\pi}{6} \frac{dL^3}{dL} \frac{dL}{dt} = \rho_p \frac{\pi}{2} L^2 \frac{dL}{dt} = \rho_p \frac{\pi}{2} L^2 G \quad (2.19)$$

e con altre semplificazioni al secondo membro:

$$JAM = k_{mt}(C_b - C_s)\pi L^2 M \quad (2.20)$$

si ottiene in totale un'espressione di G tale che:

$$\rho_p \frac{\pi}{2} L^2 G = k_{mt}(C_b - C_s)\pi L^2 M \quad (2.21)$$

$$G = 2k_{mt} \frac{M}{\rho_p} (C_b - C_s) \quad (2.22)$$

Il trasferimento di massa può essere convettivo e diffusivo, ma difficilmente si hanno moti convettivi in quanto è difficile avere le particelle in moto relativo rispetto al fluido esterno, che vengono appunto trasportate dal fluido. Nel caso della diffusione si vede che:

$$k_{mt} = 2 \frac{D}{L} \quad (2.23)$$

Riportando il termine nell'equazione della velocità di crescita si ottiene infine:

$$G = 4 \frac{D}{L} \frac{M}{\rho_p} (C_b - C_s) \quad (2.24)$$

dove D è il coefficiente di diffusione [6].

2.2 Polimorfismo

2.2.1 Definizione di polimorfismo

I materiali cristallini possono essere caratterizzati in base alla struttura cristallina, che rappresenta la maniera in cui gli atomi e le molecole si dispongono in una struttura ordinata. Può capitare che una specie chimica presenti più di una forma cristallina, questo fenomeno è chiamato *polimorfismo*.

Un materiale può cristallizzare in diverse forme in base alle condizioni di nucleazione e crescita che sono determinate da fattori quali temperatura, pressione, velocità di crescita ed eventuale presenza di impurità in soluzione. I polimorfi sono fasi cristalline contenenti le stesse molecole o ioni, ma con diverse conformazioni e/o disposizioni allo stato solido. Tra i vari polimorfi della stessa specie la natura chimica rimane invariata, tuttavia le proprietà chimico-fisiche come densità, punto di fusione, capacità termica e conducibilità termica, possono variare. Inoltre, un cambiamento nella struttura cristallina può causare un cambiamento della morfologia caratteristica del cristallo, parametro importante per le cristallizzazioni industriali [3].

Possiamo avere sostanze dimorfe, trimorfe o generalmente polimorfe, in base al numero di fasi cristalline esistenti per quella specifica sostanza [7].

Alcune sostanze possono cristallizzare includendo nella struttura del reticolo il solvente, questi cristalli sono noti come solvati (o idrati se il solvente è l'acqua). Per i materiali che mostrano polimorfismo è necessario tenere sotto controllo le condizioni operative per ottenere il polimorfo desiderato e successivamente è importante evitare che questo si trasformi in un altro polimorfo in una successiva operazione unitaria. Ad esempio, una transizione di fase di un API può essere causata da una semplice variazione di temperatura in fase di essiccaimento o granulazione.

Le forme polimorfiche possono presentarsi in forma metastabile, ovvero una forma non stabile termodinamicamente. Queste forme hanno tendenza a trasformarsi nel tempo nella forma più stabile, di solito più rapidamente quando i cristalli sono sospesi in una soluzione, tuttavia, alcuni materiali possono trasformarsi anche quando questi sono sotto forma di polveri secche [3].

2.2.2 Cristallizzazione dei polimorfi

Il processo della cristallizzazione inizia con la nucleazione dei cristalli da un liquido sottoraffreddato, con la formazione di cluster molecolari che crescendo danno forma a dei nuclei cristallini. Uno dei problemi principali di una cristallizzazione riguardante una sostanza con varie forme polimorfiche è il criterio di come una forma inizi a nucleare rispetto alle altre. Solitamente per questi casi possono essere considerati due modelli differenti: la regola delle fasi di Ostwald (ORS) oppure la teoria classica della nucleazione e della crescita (CNT).

La *regola delle fasi di Ostwald* suggerisce che un sistema instabile non si trasforma necessariamente ed in maniera diretta nello stato più stabile, ma attraversa prima uno stato transitorio la cui formazione è accompagnata dalla più piccola perdita di energia libera. In altre parole, questa regola stabilisce che per elevate forze motrici, le forme polimorfiche meno stabili cristallizzano più velocemente delle forme più stabili, come schematizzato in figura 2.7.

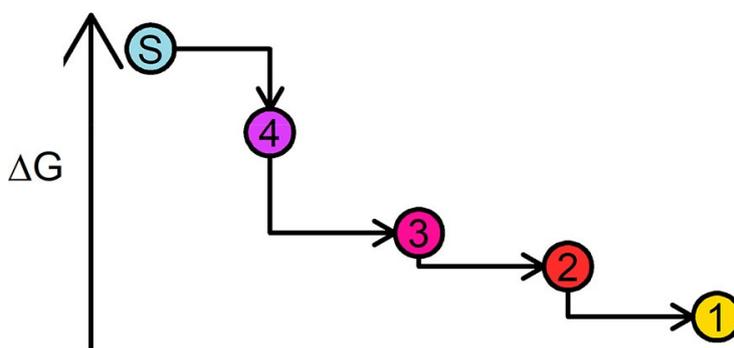


Figura 2.7: Regola delle fasi di Ostwald: dalla soluzione (S) cristallizza solo la forma meno stabile (4), che si trasforma sequenzialmente nelle forme via via più stabili [8]

La *teoria classica della nucleazione* non presenta un processo in serie, come nell'ORS, ma considera la nucleazione e la crescita di tutte le fasi in parallelo, come visibile in figura 2.8. Non viene considerata quindi la comparsa sequenziale delle fasi metastabili ma una scomparsa delle fasi in ordine partendo dalla meno stabile [8].

La regola di Ostwald, sebbene venga rispettata in un'ampia gamma di sistemi, non è sempre applicabile e presenta alcune eccezioni. Le sola termodinamica non

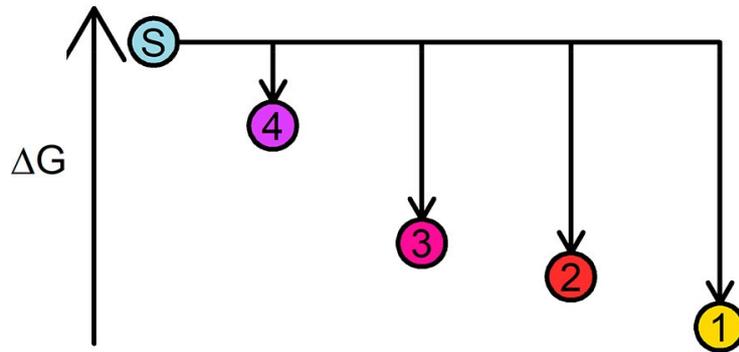


Figura 2.8: Teoria classica della nucleazione e della crescita: dalla soluzione (S) si formano parallelamente tutte le forme, dalla meno stabile (4) alla più stabile (1) [8]

offre alcun supporto teorico, ma un approccio combinato di termodinamica e cinetica sembra dare qualche giustificazione. Nonostante la mancanza di prove teoriche certe, la regola di Ostwald sembra spesso funzionare così da essere considerata importante, soprattutto quando si gestiscono processi di cristallizzazione in larga scala di materiali organici, in particolare di materiali ad alto peso molecolare [9]. La spiegazione più probabile risiede nella cinetica della trasformazione ed il fattore decisivo sono le velocità di nucleazione e di crescita relative delle forme più o meno stabili. Affinché la fase metastabile sia favorita è necessario, in generale, avere un vantaggio sostanziale nel termine cinetico ed una sovrasaturazione sufficiente [8].

2.3 Cloridrato di Tiamina

2.3.1 Descrizione del cloridrato di tiamina

Il cloridrato di tiamina, nota più comunemente come vitamina B1, è un micronutriente essenziale idrosolubile facente parte del gruppo B. È presente in molti cibi in basse concentrazioni, ed interviene in molti processi metabolici, per cui è importante per ricavare energia dalle sostanze nutritive come carboidrati, proteine e grassi. La sua presenza nella dieta dei bambini è di grande importanza in quanto è necessaria per la crescita e lo sviluppo, ma soprattutto per le funzioni nervose, del cervello e del cuore.

Una dieta equilibrata garantisce una giusta quantità di tiamina, mentre la carenza può portare a malattie del sistema nervoso come la sindrome di Wernicke-Korsakoff ed il beriberi. In soggetti più fragili, come malati di HIV/AIDS o affetti da alcolismo, l'assorbimento della tiamina può risultare limitato. Per questi casi, dunque, è necessaria l'assunzione di integratori, disponibili come farmaco generico e come farmaco da banco [10].

Il cloridrato di tiamina si presenta come una polvere fine dal colore che varia dal bianco al giallo pallido. È ampiamente utilizzata sotto forma di compresse, anche se la compressione diretta della tiamina è difficoltosa. L'ottenimento della compressa è possibile solo con l'aggiunta di una grossa quantità di un materiale facilmente comprimibile, come leganti o riempitivi. Inoltre la tiamina è sensibile all'umidità e la sua decomposizione può essere ridotta diminuendone il contenuto all'interno della compressa [11].

2.3.2 Forme polimorfiche

I cristalli di tiamina possono presentarsi in varie forme polimorfiche:

- *Monoidrato (MH)*: idrato non stechiometrico. Il contenuto di H₂O può variare in base alla pressione di vapore nell'atmosfera fino ad un contenuto di circa 1 mole di H₂O per mole di THCl.

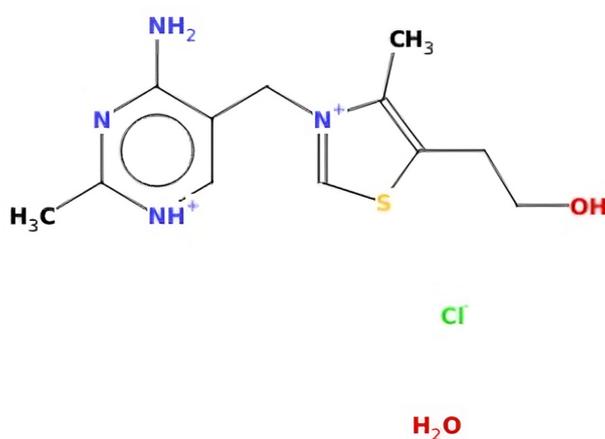


Figura 2.9: Molecola di tiamina monoidrato [12]

- *Emiidrato (HH)*: idrato che contiene 0.5 moli di H₂O per mole di THCl.

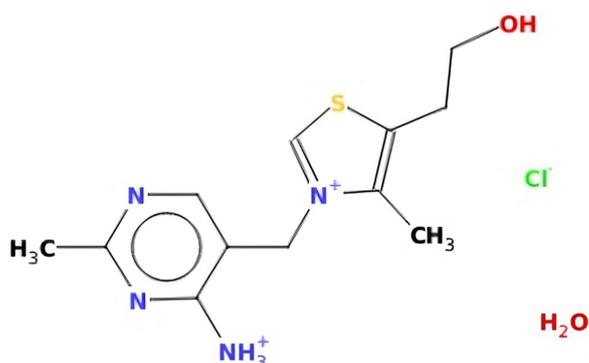


Figura 2.10: Molecola di tiamina emiidrato [13]

- *Anidrato (ID)*: desolvato del monoidrato, ovvero THCl disidratato che ha mantenuto la stessa struttura cristallina [11].

2.3.3 Transizione delle forme idrate

Tra la forma MH e HH, l'idrato più stabile è il secondo, per cui anche ottenendo il primo si avrà una tendenza ad una trasformazione verso HH.

Ad esempio, si vuole citare il lavoro di P.C. Schmidt et al. [11], in cui sono stati prodotti dei granuli di tiamina in forma MH con successiva produzione di

comprese. L'obiettivo del lavoro è stato il confronto dei tempi e delle resistenze di disintegrazione delle compresse subito dopo la loro produzione, rispetto a compresse rimaste stoccate per quattro mesi a temperatura ambiente. I risultati hanno mostrato come le compresse abbiano subito, durante il processo di stoccaggio, una trasformazione dalla forma MH a quella HH stabile, accompagnata da un aumento dei tempi di disintegrazione e da un aumento della resistenza alla frantumazione. La transizione polimorfica è stata poi confermata da analisi termoanalitiche in cui si sono rilevati picchi endotermici precedenti la fusione, indicanti una perdita di acqua interna al reticolo, a temperature diverse tra compresse appena ottenute e quelle conservate per quattro mesi. Le condizioni di transizione tra le varie fasi sono schematizzate in figura 2.11

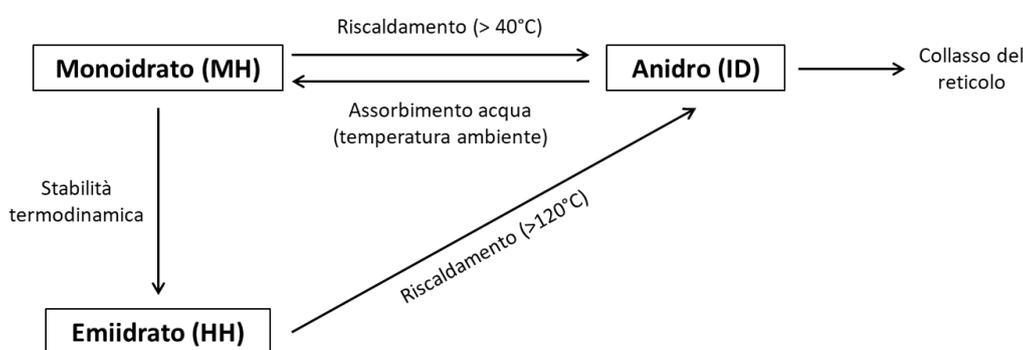


Figura 2.11: Rappresentazioni schematica delle condizioni a cui avvengono le transizioni tra le tre forme cristalline considerate

A temperatura ambiente, oltre alle forme MH ed HH è possibile ottenere una forma del cloridrato di tiamina priva di acqua all'interno del reticolo cristallino, il polimorfo anidrato (ID). Questo polimorfo ha una grande tendenza ad assorbire acqua quando viene esposto all'umidità, trasformandosi nella forma MH [11, 14]. Nei cristalli la rimozione di acqua dal reticolo può portare a tre scenari:

1. La struttura del reticolo non viene alterata dalla rimozione di acqua: in questo caso, spesso, il prodotto della disidratazione è meno stabile a causa dei vuoti lasciati all'interno del reticolo cristallino.
2. Il reticolo collassa: allo stesso modo del caso precedente, il prodotto non-cristallino è una fase metastabile.

3. La disposizione del reticolo rimane ordinata ma viene alterata dalla disidratazione: questo può variare proprietà come, ad esempio, la velocità di dissoluzione del cristallo.

La facilità con cui avviene la disidratazione dipende da alcuni parametri cristallografici come la dimensione e la compattezza dei canali nel reticolo cristallino, presenza e concentrazione delle imperfezioni nei cristalli e la forza del legame idrogeno tra l'acqua e le molecole del reticolo [14].

Nel processo di disidratazione dei due idrati è presente un'interazione tra la molecola di acqua e il reticolo cristallino del THCl tramite un legame idrogeno:

- MH si disidrata facilmente, iniziando il processo a circa 40°C, trasformandosi nella forma ID, un desolfato isomorfo. Il reticolo cristallino è poco influenzato durante il processo e l'acqua si muove rapidamente all'interno della struttura cristallina, tramite percorsi creati da una deformazione cooperativa delle molecole, nello specifico, da una graduale espansione e contrazione del reticolo durante rispettivamente l'idratazione e disidratazione. Nel reticolo del MH sono presenti legami idrogeno fra tiamine e molecole d'acqua relativamente deboli [14, 15]
- HH invece è molto resistente alla disidratazione e le molecole d'acqua sono necessarie per mantenere integro il reticolo. Il processo avviene solo a temperature molto alte, sopra i 120°C, per cui è accompagnato da decomposizione chimica del reticolo che tende a collassare e ad amorfizzare. A causa della presenza di due legami forti ione-dipolo tra gli ioni cloruro e la molecola d'acqua si verifica una separazione che distrugge il reticolo. Nel lavoro svolto da P. Chakravarty et al. [14, 15] è stata tentata una disidratazione dell'emidrato a temperature ridotte a pressioni più basse di quella atmosferica (60-90°C, 20-760 mTorr) per evitare la degradazione, ma si è osservata comunque una disidratazione incompleta con una parziale perdita dell'ordine reticolare.

2.3.4 Dati cristallografici della tiamina

In tabella 2.1 sono riportati i parametri cristallografici relativi alle forme MH e HH. Viene fornito un accenno teorico del significato di questi parametri:

- *Gruppo spaziale*: in cristallografia, descrive la simmetria spaziale di un cristallo. È una classificazione dei modelli di disposizione spaziale di atomi e molecole nella struttura cristallina. Tiene conto di tutte le operazioni di simmetria, come traslazioni, riflessioni o rotazioni, che possono essere condotte sul cristallo senza modificarne l'aspetto.
- Z : rappresenta il numero di molecole di una sostanza contenute in ogni cella primitiva del reticolo cristallino. Offre informazioni importanti riguardo la densità del reticolo e la disposizione degli atomi e delle molecole nella struttura cristallina.
- a, b, c : rappresentano la lunghezza dei tre assi principali che si estendono lungo gli assi cristallografici x, y e z . Definiscono la dimensione e la forma della cella unitaria.
- α, β, γ : rappresentano gli angoli interni tra gli assi di una cella unitaria e ne definiscono la forma e le dimensioni. Descrivono la simmetria interna del cristallo e influenzano le proprietà chimico-fisiche del materiale. La combinazione dei tre valori determina la tipologia di reticolo cristallino.
- V : è il volume della cella unitaria.

Tabella 2.1: Informazioni cristallografiche dei due idrati del THCL

Nome del cristallo	Cloridrato di tiamina Monoidrato (MH)	Cloridrato di tiamina Emiidrato (HH)
Formula	$(C_{12}H_{18}N_4OS^{2+})$ $2(Cl^{-})(H_2O)$	$2(C_{12}H_{18}N_4OS^{2+})$ $4(Cl^{-})(H_2O)$
Peso molecolare [g/mol]	355.29	346.28
Gruppo spaziale	$P2_1/n$	$C2/n$
Z	4	8
T [K]	283-303	283-303
a [Å]	6.993	30.130
b [Å]	20.633	6.175
c [Å]	11.769	22.060
α [°]	90	90
β [°]	98.699	128.7
γ [°]	90	90
V [Å³]	1681.05	3203.14
Codice di riferimento CCDC	THIAMC12	THIMHC
Riferimento bibliografico	<i>R.L. Te e al.</i> [16]	<i>A. Watanabe e al.</i> [17]

2.4 Tecniche di analisi e caratterizzazione dei cristalli

2.4.1 Diffrazione ai raggi X per polveri (PXRD)

La diffrazione ai raggi X per polveri è una tecnica di caratterizzazione non distruttiva su scala nanometrica, molto utilizzata comunemente nello studio dei cristalli. L'analisi permette di ottenere informazioni importanti sullo stato cristallino del campione, come ad esempio la struttura, la purezza, la dimensione dei cristalli e le fasi presenti.

I *raggi X* sono radiazioni elettromagnetiche ad alta energia, con una lunghezza d'onda compresa tra i 10^{-11} e i 10^{-8} m, mentre la diffrazione è una caratteristica generale di tutte le onde e si definisce come la modifica del comportamento della luce o di altre onde mediante la sua interazione con un oggetto.

Quando un fascio di raggi X colpisce un atomo, gli elettroni oscillano attorno alle loro posizioni medie. Se l'elettrone decelera, ovvero perde energia, emette raggi X. Questo processo di assorbimento e ri-emissione (fotone) della radiazione è chiamata "scattering" e se la differenza tra l'energia assorbita e quella emessa è nulla allora si dice che la radiazione è stata diffratta elasticamente.

Se molti atomi sono insieme allora le onde diffratte da tutti gli atomi possono interferire. Nello specifico, se le onde diffratte sono coerenti, ovvero in fase tra di loro, interferiscono in modo costruttivo e si ottengono raggi diffratti in direzioni specifiche che sono governate dalla lunghezza d'onda della radiazione incidente e dalla natura del campione cristallino. Le onde diffratte sono coerenti solo nel caso in cui la struttura del campione risulti ordinata, ovvero se il materiale analizzato è cristallino.

La *legge di Bragg* mette in relazione la lunghezza d'onda dei raggi X con la spaziatura dei piani atomici caratterizzanti il campione analizzato e l'angolo di diffrazione della radiazione incidente:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (2.25)$$

dove n è un numero intero positivo che rappresenta l'ordine di riflessione, λ la lunghezza d'onda dei raggi X, d la spaziatura dei piani cristallini e θ l'angolo d'incidenza tra i raggi ed il piano.

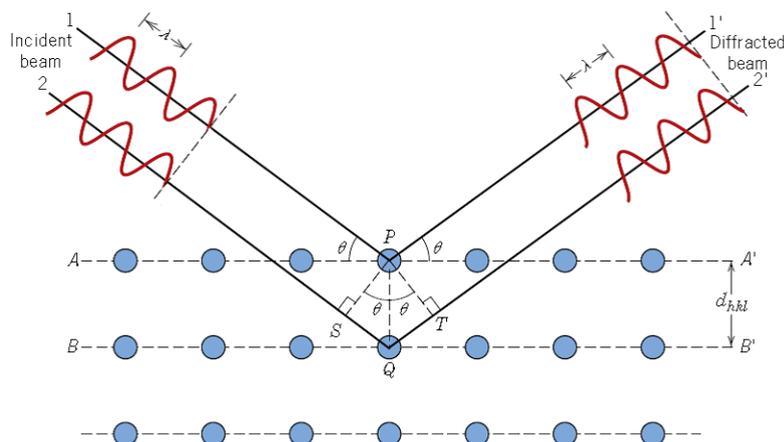


Figura 2.12: Fascio di raggi X incidente e diffratto che segue la Legge di Bragg [18]

Il prodotto dell'analisi tramite PXRD è un diffrattogramma, un grafico contenente una serie di picchi caratterizzati da un angolo di diffrazione, sulle ascisse, e da un'intensità, sulle ordinate. Ogni picco corrisponde all'intensità dei raggi X diffratti da uno specifico insieme di piani nel campione. [19].

2.4.2 Spettroscopia Raman

La spettroscopia Raman è una tecnica spettroscopica non-distruttiva molto versatile. Nelle analisi allo spettrometro Raman una sorgente laser colpisce un campione con una radiazione elettromagnetica monocromatica che viene diffusa nella materia. La radiazione interagisce con gli elettroni ed induce un dipolo elettrico oscillante, ciò è responsabile della diffusione della radiazione incidente. L'effetto Raman può quindi essere definito come una diffusione della luce da parte della materia. Quando la luce monocromatica viene diffusa dalla materia, hanno luogo due tipi di interazione che danno vita a due tipi diversi di diffusione della luce: il primo tipo di interazione non comporta trasferimento di energia tra il fotone di luce incidente e le molecole della materia, di conseguenza il fotone diffuso avrà la stessa energia, o frequenza, della luce incidente. Questo prima tipologia di interazione è di natura elastica e viene chiamata *diffusione di Rayleigh*.

Il secondo tipo di interazione invece prevede uno scambio di energia tra la radiazione

incidente e le molecole del campione analizzato, di conseguenza il fotone diffuso avrà una nuova frequenza pari alla differenza tra la frequenza del fotone incidente e la frequenza naturale delle specie termicamente eccitate e cineticamente attive nel materiale. Questa tipologia di interazione è di natura anelastica e viene definita come *Raman scattering*.

L'effetto Raman può essere descritto come segue, figura 2.13.

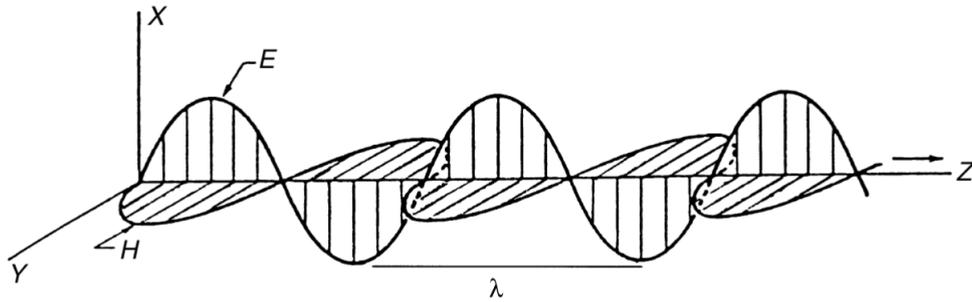


Figura 2.13: Illustrazione di un'onda elettromagnetica (luce monocromatica) [20]

Si considera una luce monocromatica che si propaga in direzione z con un campo elettrico oscillante nella direzione x . L'ampiezza del campo elettrico nel tempo si descrive come:

$$E_x = E_x^0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2.26)$$

dove E_x^0 è la massima ampiezza del campo elettrico, ν_0 è la frequenza dell'onda elettromagnetica.

Si considera ora una molecola biatomica con frequenza di vibrazione ν_v . Il vettore di vibrazione normale può essere descritto come:

$$q_v = q_v^0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (2.27)$$

Quando la luce monocromatica interagisce con le molecole, l'onda elettromagnetica polarizza gli elettroni della molecola inducendo un momento di dipolo:

$$\boldsymbol{\mu} = \alpha E \quad (2.28)$$

dove α è conosciuto come il tensore di polarizzabilità.

Il dipolo indotto oscillerà ed emetterà una luce (diffusa) a tre diverse frequenze che possono essere determinate espandendo il tensore di polarizzabilità come una serie di Taylor. Il momento di dipolo può essere quindi riscritto come:

$$\mu = E_x^0 \alpha^0 \cos(2\pi\nu_0 t) + E_x^0 \left(\frac{d\alpha}{dq_v} \right) q_v^0 \left\{ \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_v)t] + \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] \right\} \quad (2.29)$$

Dall'equazione 2.29 si vede che sono presenti le tre frequenze ν_0 , $\nu_0 - \nu_v$ e $\nu_0 + \nu_v$. La luce diffusa quindi avrà tre componenti a frequenza diversa: una con la stessa frequenza della luce incidente ν_0 e due con una frequenza traslata, rispetto a quella incidente, di una quantità pari alla frequenza naturale della vibrazione molecolare. Nel primo caso non c'è nessun guadagno o perdita di energia nell'interazione della luce con il materiale, questo è il tipo di diffusione chiamato in precedenza *diffusione di Rayleigh* o diffusione elastica. Negli altri due casi invece le componenti perdono o guadagnano una quantità di energia pari all'energia della vibrazione molecolare, queste sono indicate come *diffusioni Raman* o diffusioni anelastiche. Questi due tipi di componenti si distinguono ancora con due nomi differenti: la luce che viene diffusa con energia inferiore $\nu_0 - \nu_v$ è nota come *diffusione di Stokes*, mentre la luce che viene diffusa con energia superiore $\nu_0 + \nu_v$ è nota come *diffusione di Anti-Stokes*.

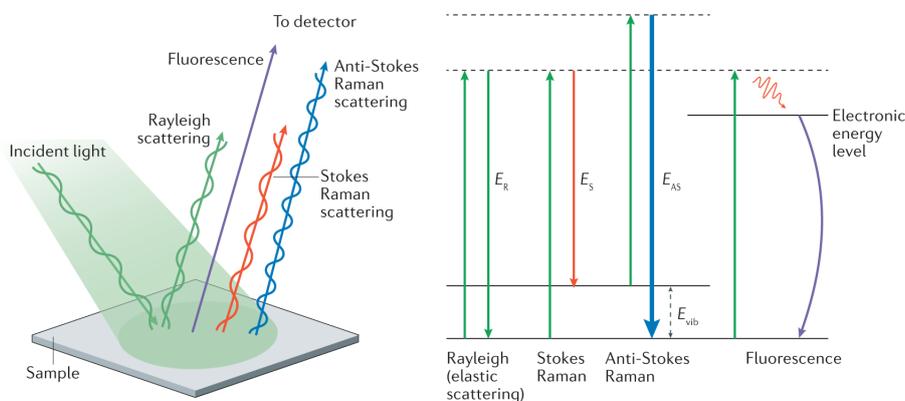


Figura 2.14: Rappresentazione grafica della diffusione della luce nei casi elastico e anelastici [21]

In un tipico spettro Raman l'intensità della luce diffusa viene registrata sull'asse delle ordinate, mentre la frequenza della luce diffusa sull'asse delle ascisse, tramite questo è possibile identificare le vibrazioni dei diversi gruppi funzionali delle molecole costituenti il campione analizzato, che sono rappresentati da picchi caratteristici.

L'intensità solitamente viene espressa in unità arbitrarie, mentre la frequenza è espressa in numeri d'onda $\tilde{\nu}$ con unità di misura in cm^{-1} .

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_v} \quad (2.30)$$

dove λ_0 e λ_v sono le lunghezze d'onda della luce incidente e diffusa [22].

2.4.3 Microscopia ottica a luce polarizzata

Il microscopio ottico a luce polarizzata consente di ottenere informazioni sulla microstruttura dei cristalli come: la forma, la distribuzione dimensionale, la presenza di aggregazione o di nucleazione secondaria. La luce polarizzata è una tecnica che migliora la qualità dell'immagine ed il contrasto con materiali birifrangenti.

Il campione da analizzare è posto su un vetrino e viene attraversato da una luce dal basso. Il microscopio è dotato sia di un *polarizzatore*, posizionato nel percorso ottico prima di attraversare il campione, sia di un *analizzatore* posto tra l'apertura posteriore dell'obiettivo ed i tubi di osservazione. Il contrasto dell'immagine è reso possibile grazie all'interazione della luce polarizzata sul piano con un campione birifrangente che produce due componenti d'onda individuali, ciascuno polarizzato su piani perpendicolari. All'uscita dal campione, queste due componenti diventano fuori fase, ma vengono ricombinate con interferenze costruttive e distruttive quando passano nell'analizzatore [23].

2.4.4 Analisi della torbidità

Nello studio di una cristallizzazione è importante, per valutare l'inizio del processo o per la ricerca della curva di solubilità, l'utilizzo di strumenti che controllino la variazione della torbidità della soluzione. Nello specifico, strumenti che tengano nota della variazione della trasmittanza o dell'assorbanza. Trasmittanza e assorbanza sono relazionate dalla seguente equazione:

$$A = -\log_{10} T \quad (2.31)$$

Per questo tipo di analisi sono molto diffuse delle sonde o dei sensori ad inserzione, in cui un raggio LED costante passa attraverso il fluido di processo. Il raggio viene intercettato da un sensore che misura quanto l'intensità della luce è stata attenuata a causa della torbidità della soluzione. Una trasmittanza percentuale inferiore al 100% indica la presenza di cristalli in soluzione.

Solitamente queste tipologie di sonde sono collegate a dei convertitori fotometrici che registrano e permettono di visualizzare, tramite un display grafico, i valori di trasmittanza, assorbanza e concentrazione in tempo reale [24].

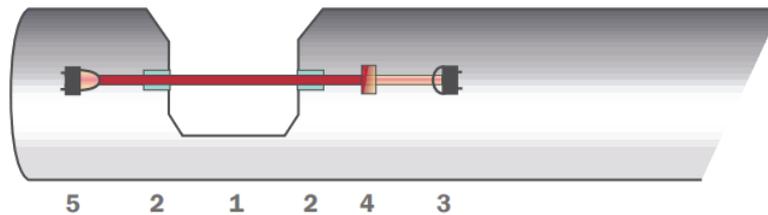


Figura 2.15: Sensore ad inserzione: (1) Cammino ottico, (2) Ottiche in zaffiro, (3) Sensore di misura, (4) Filtro luce ambiente, (5) Sorgente luce LED [24]

Capitolo 3

Materiali e metodi sperimentali

3.1 Materiali

Il cloridrato di tiamina (nome IUPAC *3-[(4-amino-2-metil-pirimidin-5-il)metil]-5-(2-idrossietil)-4-metil-1,3-tiazolo cloruro cloridrato*) si presenta come una polvere con un colore che varia dal bianco al giallo pallido, ed è stata fornita da Thermo Fisher Scientific (Massachusetts, USA) con una purezza del 99% (peso secco) e con un contenuto massimo di umidità del 5%.

Il solvente utilizzato per tutti gli esperimenti svolti in questo lavoro è una miscela composta da 20% H₂O Milli-Q - 80% EtOH (w-w).

L'acqua Milli-Q è acqua deionizzata e purificata tramite il dispositivo Milli-Q di Millipore Corporation (Massachusetts, USA), con valori di purezza superiori al 98%, mentre l'etanolo viene fornito da VWR Chemicals (Pennsylvania, USA).

3.2 Curva di solubilità

La ricerca della curva di solubilità del cloridrato di tiamina è stata condotta utilizzando un metodo termogravimetrico. Lo scopo di questi esperimenti è stato quello di ottenere otto valori di concentrazione di saturazione corrispondenti ad otto temperature diverse, partendo da 15°C fino a 50°C con step da 5°C. Per

fare ciò è stato utilizzato un reattore di tipo batch incamiciato da 250 *ml*, in cui è stata inserita una quantità sovrabbondante di solido, per mantenere il sistema in uno stato di saturazione ed eccesso di solido, evitando la completa dissoluzione del soluto, ed una quantità di solvente pari a 100 *g* totali, composto, secondo le proporzioni precedentemente menzionate, da 20 *g* di H₂O Milli-Q e 80 *g* di EtOH. Per il controllo della temperatura nel reattore è stato utilizzato un termostato Huber Ministat 230 (Germania) che, tramite la variazione di temperatura di una portata di acqua passante all'interno della camicia del reattore, ha permesso di mantenere costante la temperatura della soluzione. Per la miscelazione interna è stato utilizzato un agitatore magnetico ArgoLab M3-D (Italia) con un magnete inserito all'interno del reattore.

Il procedimento ha previsto l'impostazione ed il mantenimento di una temperatura costante per un tempo di circa due ore, in modo da avere la sicurezza di aver disciolto la massima quantità di soluto all'interno del solvente alla temperatura in esame. Successivamente, una barchetta è stata pesata vuota con una bilancia Radwag AS 220.R2 PLUS (Polonia) facendo attenzione a chiudere adeguatamente le porte vetrate laterali per evitare fluttuazioni nella misura.

Dopo aver disattivato la miscelazione ed atteso la sedimentazione delle particelle solide sospese, sono stati prelevati e filtrati, con filtri a membrana Biofil (Spagna) da 30 *mm* di diametro e 0.22 μm di cut-off, 2 *ml* di liquido con una siringa. Questo è stato posto all'interno della barchetta che nel più breve tempo possibile, per evitare l'evaporazione dell'EtOH, è stata ripesata. Il procedimento è stato ripetuto per due volte per ogni valore di temperatura. La variazione di temperatura tra gli esperimenti ha dovuto seguire un ordine rigorosamente incrementale, partendo quindi con la temperatura più bassa per il primo punto ed incrementandola in maniera sequenziale per i successivi esperimenti.

La durata degli esperimenti ha complessivamente richiesto una settimana di tempo, per cui è stato necessario controllare quotidianamente, tramite spettroscopia Raman, che il solido sul fondo non avesse subito una transizione verso un idrato differente.

Effettuate tutte le pesate, le barchette piene di soluzione sono state lasciate sotto cappa per far evaporare il solvente e per poter, in seguito, ripesarle con soltanto il soluto rimasto all'interno.

Grazie a questa serie di pesate è stato possibile ottenere la concentrazione corrispondente ad ogni temperatura considerata, tramite l'equazione:

$$C = \frac{W_{solido}}{W_{soluzione} - W_{solido}} \quad (3.1)$$

Dove W_{solido} è il peso del soluto e $W_{soluzione}$ è il peso della soluzione. Trovati otto punti della curva di solubilità, i dati sono stati interpolati utilizzando l'equazione di Van't Hoff, che fornisce un'utile relazione termodinamica per interpretare i dati sperimentali e predire il comportamento della solubilità al variare della temperatura.

È importante specificare che il reattore durante tutti gli esperimenti è stato sigillato con due strati di parafilm Bemis M (Wisconsin, USA) e con uno strato di alluminio Kito (Italia), per evitare l'evaporazione del solvente.

3.3 Zona metastabile

Gli esperimenti per la ricerca della zona metastabile sono stati impostati basandosi sulla curva di solubilità precedentemente ottenuta. Infatti, sono state scelte quattro concentrazioni di saturazione, relative alle temperature pari a 35, 40, 45 e 50°C.

Tabella 3.1: Quantità di soluto necessario per raggiungere la saturazione a diverse temperature

Temperatura [°C]	35	40	45	50
Concentrazione di soluto [mg _{soluto} /g _{solvente}]	58.3	70.8	85.8	103.3
Quantità di soluto [g _{soluto}]	29.2	35.4	42.9	51.7

Considerando che approssimando in Excel i punti della curva di solubilità con una linea di tendenza polinomiale si è ottenuta un'equazione, sono stati trovati i valori esatti di concentrazione sostituendo le temperature al posto dell'incognita X. Per questi esperimenti è stato utilizzato un reattore incamiciato da 1L Radleys (Regno Unito) in cui sono stati inseriti 500 g totali di solvente che con le proporzioni

precedentemente menzionate equivalgono a 100 g di H₂O Milli-Q e 400 g di EtOH. La temperatura, come nel caso degli esperimenti per la ricerca della curva di solubilità, è stata controllata dal Ministat 230 tramite il flusso d'acqua passante per la camicia del reattore.

Il sistema è stato miscelato tramite un agitatore di tipo radiale a due pale con una velocità di rotazione pari a 220 rpm. Per ogni esperimento sono state impostate delle rampe di temperatura decrescenti, partendo da una temperatura superiore di circa 10°C a quella di saturazione, in modo da disciogliere completamente il soluto in soluzione. Tramite le rampe programmate nel Ministat 230, sono state utilizzate due velocità di raffreddamento differenti pari a -1°C/min e -0.5°C/min. Il processo è stato monitorato da una sonda ASD12-N Optek (Germania) collegata ad un analizzatore fotometrico Control 4000 Optek (Germania) che ha registrato tutte le variazioni di trasmittanza e assorbanza nel tempo.



Figura 3.1: Reattore Radleys da 1L con sonda di temperatura (bianca) e sonda ASD12-N Optek

All'inizio del processo, quando la temperatura è massima ed il soluto completamente disciolto, è sempre stato importante indicare allo strumento il "punto-zero", ovvero dargli indicazione che la soluzione in quel momento era completamente

limpida, con una trasmittanza pari al 100%.

Il primo punto di interesse al variare della temperatura è il “*punto di cristallizzazione*”, ovvero il momento in cui inizia il processo di nucleazione e la trasmittanza scende sotto il 100%. È stato importante controllare che gli orari impostati nel Ministat 230 e nel Control 4000 fossero perfettamente calibrati, in modo da poter relazionare il punto di cristallizzazione con la temperatura registrata dallo strumento.

Considerando che nel Ministat 230 la misura viene registrata ogni 5 secondi, mentre nel Control 4000 ogni 10, si è reso necessario interpolare i dati raccolti dall’analizzatore fotometrico, tramite la funzione *Interp1* di Matlab, in modo da sincronizzare i dati estratti dai due strumenti. Gli esperimenti sono stati condotti in ordine crescente di temperatura, in quanto passando da una concentrazione all’altra è bastato aggiungere la quantità di soluto mancante, per poi ripetere nella medesima maniera le prove successive.

Per ogni esperimento è stato prelevato un campione di cristalli dal cristallizzatore, poi filtrati con la pompa da vuoto ed inseriti all’interno di provette eppendorf. Questi campioni sono stati conservati in frigorifero e utilizzati in seguito per la ricerca delle distribuzioni dimensionali.

Tra un esperimento e l’altro, è stato necessario riscaldare il sistema per ridisciogliere i cristalli ottenuti e poter reimpostare la rampa di temperatura del successivo esperimento. È stato sfruttato questo passaggio anche per verificare la curva di solubilità ottenuta con il metodo termo-gravimetrico. Sono quindi state impostate delle rampe di temperatura crescenti con una velocità di riscaldamento pari a $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ comune a tutti gli esperimenti, a prescindere dalla precedente velocità di raffreddamento. In questo caso il punto di interesse al variare della temperatura è stato il “*clear point*” o “*punto di chiarificazione*”, ovvero il momento in cui la trasmittanza ha raggiunto il valore pari al 100%. Come per il processo di raffreddamento, è stato relazionato questo punto alla temperatura corrispondente, confrontando i tempi dei due strumenti.

3.4 Tecniche di caratterizzazione dei cristalli

3.4.1 Diffrazione ai raggi X per polveri (PXRD)

I diffrattogrammi tramite diffrazione a raggi X dei campioni in polvere sono stati ottenuti con un diffrattometro X'Pert Pro di Panalytical (Regno Unito), configurato in modalità Bragg-Brentano, utilizzando radiazioni $CuK\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$).

Il campione è stato scansionato tra 3° e 40° in 2θ con un passo di 0.01313° (2θ) ed un tempo per passo di circa 29 s . Il generatore a raggi X è stato impostato a una tensione del tubo di 40 kV e una corrente di 40 mA . I campioni sono stati preparati su uno fondo di silicio e misurati senza rotazione.

3.4.2 Spettroscopia Raman

Gli spettri Raman sono stati acquisiti utilizzando un microscopio confocal Raman LabRAM HR Evolution HORIBA (Giappone). Lo strumento è dotato di una porta per poter inserire il vetrino su cui è posto il campione da analizzare che deve essere rigorosamente chiusa mentre lo spettrofotometro sta producendo lo spettro.

I campioni sono stati irradiati con un laser da 100 mW operante a 785 nm . La radiazione retrodiffusa è stata rilevata utilizzando un rilevatore Synapse Plus BIDD ($1024 \times 256 \text{ pixel}$) ed un reticolo di diffrazione da 300 L/nm . La potenza del laser è stata sempre impostata al 100% ed il tempo di acquisizione per ogni spettro è stato di 10 secondi con 10 accumuli, dove per “accumuli” si intende la combinazione di molteplici spettri acquisiti in una singola misurazione. Ciò può essere utile per aumentare il segnale e ridurre il rumore, migliorando così la qualità dello spettro. La lente utilizzata è stata la 10x ed il range di acquisizione per gli spettri del cloridrato di tiamina è stato $200\text{-}1690 \text{ cm}^{-1}$.

3.5 Distribuzioni di dimensioni

Per determinare la distribuzione delle dimensioni dei cristalli è stato fatto un primo tentativo utilizzando le polveri raccolte precedentemente dagli esperimenti della zona metastabile. Prelevando parte del campione dalle eppendorf, si è proceduto a stendere la polvere su un vetrino, tentando di separare i cristalli in modo da renderli visibili singolarmente con la camera dello spettrofotometro Raman, per poterne in seguito misurare le dimensioni.

Un secondo tentativo è stato fatto ripetendo gli stessi esperimenti già effettuati per la ricerca della zona metastabile. Arrivati all'equilibrio della cristallizzazione, evidenziato dal "plateau" nel grafico della variazione di assorbanza visibile in tempo reale nel display del Control 4000, sono stati effettuati una serie di prelievi con il reattore ancora in agitazione. Ciò è importante per evitare la sedimentazione dei cristalli più grandi e pesanti a scapito di quelli più leggeri e, conseguentemente, per ottenere una distribuzione il più reale possibile.

I prelievi sono stati effettuati con delle pipette Pasteur, che hanno la lunghezza adatta per raggiungere il livello del liquido all'interno del reattore.

Il campione prelevato è stato posto su un vetrino e successivamente coperto da un vetro copri-oggetto, così da evitare lo spostamento dei cristalli. Il campione è stato poi osservato al microscopio ottico a luce polarizzata Zeiss Axiolab 5 (Germania) utilizzando l'obiettivo 10x. Posizionando la fotocamera di un Apple iPhone 8 Plus (California, USA) sull'oculare del microscopio sono state ottenute una serie di fotografie, così da poter raccogliere almeno trecento cristalli per ogni esperimento. È stato necessario rendere questo processo molto veloce, in quanto a causa dell'evaporazione del solvente si è verificata nucleazione indesiderata che avrebbe potuto falsare i risultati.

Data la natura dei cristalli, non è stato possibile automatizzare il processo per l'ottenimento della distribuzione di dimensioni, in quanto molti cristalli si sovrapponevano. Di conseguenza, tramite le fotografie precedentemente ottenute, sono stati selezionati manualmente dei cristalli cercando di differenziare il più possibile nella tipologia e nelle dimensioni. A questo scopo è stata utilizzata un'applicazione su tavoletta grafica chiamata Sketchbook, che ha consentito di ricalcare il contorno dei cristalli selezionati su un foglio bianco, come a simulare l'utilizzo della carta da

lucido. Per poter prendere più cristalli sovrapposti, la selezione è stata suddivisa in un certo numero di livelli, pari al numero di cristalli sovrapposti che si intendeva selezionare. Le immagini con i soli cristalli ricalcati sono state poi processate e binarizzate su ImageJ Ver. 1.8.0.

Tramite una fotografia di un vetrino graduato è stato possibile indicare al programma la distanza per numero di pixel, cosa che ha permesso di calcolare dall'immagine binarizzata la dimensione dei lati per ogni cristallo. Vista la forma allungata dei cristalli, la distribuzione è stata fatta considerando sia il lato lungo che quello corto. Nello specifico, tramite la funzione *Fit Ellipse*, il programma ha circoscritto ogni regione bianca con un'ellisse e assegnato rispettivamente l'asse maggiore al lato lungo del cristallo e l'asse minore al lato corto.

Infine, è stato prodotto un file Excel in cui i cristalli sono stati numerati per renderli riconoscibili ed in cui sono state riportate le dimensioni.

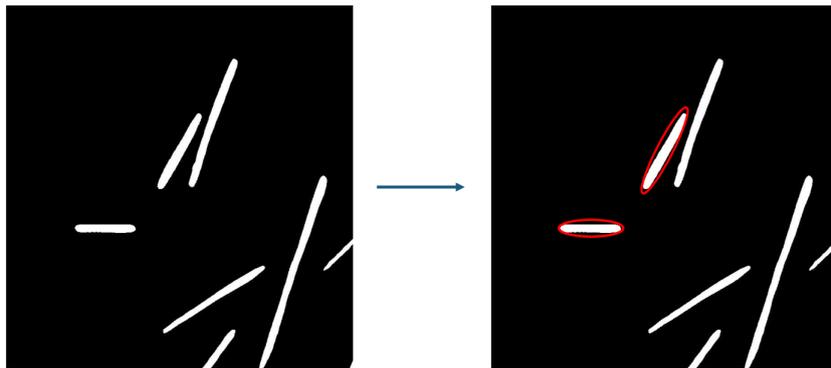


Figura 3.2: Esempio di binarizzazione e approssimazione dei cristalli con un'ellisse tramite la funzione *Fit Ellipse*

Capitolo 4

Discussione dei risultati

4.1 Risultati curva di solubilità

Tramite metodo termo-gravimetrico statico è stata trovata la curva di solubilità del materiale di partenza (HH). Come spiegato nel precedente capitolo, l'acquisizione di ogni punto è avvenuta a temperatura costante e attraverso una serie di pesate. Nello specifico, è stata prima pesata la barchetta vuota e successivamente la barchetta con una certa quantità di soluzione. Dopo l'evaporazione del solvente è avvenuta l'ultima misura per calcolare il peso del solido rimasto all'interno della barchetta. Per ogni temperatura sono stati fatti due campionamenti, in tabella ?? sono mostrati i dati misurati con la bilancia ed i valori di concentrazione calcolati:

Tabella 4.1: Misure dei pesi per il calcolo delle concentrazioni di saturazione alle varie temperature

Temperatura	Campione 1	Campione 2
15°C	$W_{barc.} = 1056.1 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1100.4 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2655.1 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2664.8 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1599 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1564.4 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1107.5 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1148.4 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 51.4 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 48 \text{ mg}$
	$C = 33.2 \text{ mg/g}$	$C = 31.6 \text{ mg/g}$
20°C	$W_{barc.} = 1087.3 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1079.3 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2673 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2705 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1585.7 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1625.7 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1143.4 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1137.3 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 56.1 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 58 \text{ mg}$
	$C = 36.7 \text{ mg/g}$	$C = 36.9 \text{ mg/g}$
25°C	$W_{barc.} = 1071 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1073.9 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2544 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2747 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1473 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1673.1 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1131.3 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1142.9 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 60.3 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 69 \text{ mg}$
	$C = 42.7 \text{ mg/g}$	$C = 43.0 \text{ mg/g}$
30°C	$W_{barc.} = 1117.9 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1085.5 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2486 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2699 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1368.1 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1613.5 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1182.4 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1162.9 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 64.5 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 77.4 \text{ mg}$
	$C = 49.5 \text{ mg/g}$	$C = 50.4 \text{ mg/g}$

35°C	$W_{barc.} = 1108.3 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1097.5 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2700 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2729 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1591.7 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1631.3 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1195 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1186.2 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 86.7 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 88.7 \text{ mg}$
	$C = 57.6 \text{ mg/g}$	$C = 57.5 \text{ mg/g}$
40°C	$W_{barc.} = 1107.9 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1078.9 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2852 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2818 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1744.1 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1739.1 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1220.8 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1193.6 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 112.9 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 114.7 \text{ mg}$
	$C = 69.2 \text{ mg/g}$	$C = 70.6 \text{ mg/g}$
45°C	$W_{barc.} = 1083.4 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1031.8 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2725 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2660 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1641.6 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1628.2 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1210.1 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1156.2 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 126.7 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 124.4 \text{ mg}$
	$C = 83.6 \text{ mg/g}$	$C = 82.7 \text{ mg/g}$
50°C	$W_{barc.} = 1060.9 \text{ mg}$	$W_{barc.} = 1044.1 \text{ mg}$
	$W_{barc.+soluz.} = 2642 \text{ mg}$	$W_{barc.+soluz.} = 2716 \text{ mg}$
	$W_{soluz.} = 1581.1 \text{ mg}$	$W_{soluz.} = 1671.9 \text{ mg}$
	$W_{barc.+solid.} = 1211.9 \text{ mg}$	$W_{barc.+solid.} = 1188.9 \text{ mg}$
	$W_{solid.} = 151.0 \text{ mg}$	$W_{solid.} = 144.8 \text{ mg}$
	$C = 105.6 \text{ mg/g}$	$C = 94.8 \text{ mg/g}$

Con le concentrazioni di saturazione e le relative temperature è stato possibile costruire la curva di solubilità, approssimando i punti con una linea di tendenza polinomiale, che ha definito un'equazione.

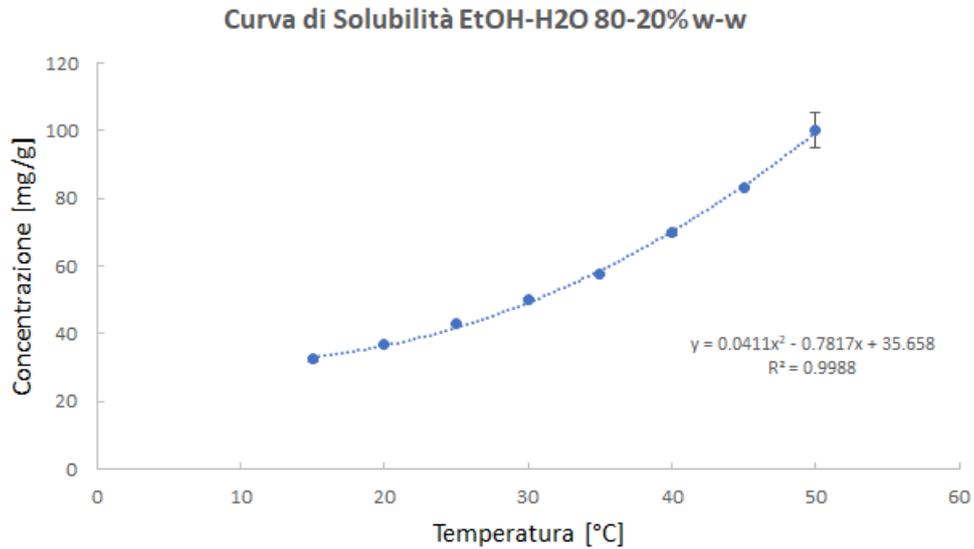


Figura 4.1: Curva di solubilità del materiale di partenza

In Figura 4.1 si può notare che sono state introdotte delle barre di errore, considerando che per ogni punto sono state fatte due campionature. Nei primi punti la barra è quasi impercettibile, mentre nell'ultimo è più ampia. Questo potrebbe esser dovuto al fatto che con la temperatura alta l'evaporazione del solvente è più consistente, ciò potrebbe aver quindi influenzato la misura. In ogni caso, il coefficiente di determinazione R^2 indica che la curva polinomiale interpola i dati sperimentali con una buona accuratezza, in quanto il valore è molto vicino all'unità.

I punti della curva sono stati poi interpolati con una equazione di Van't Hoff per ottenere il grafico della solubilità in Figura 4.2:

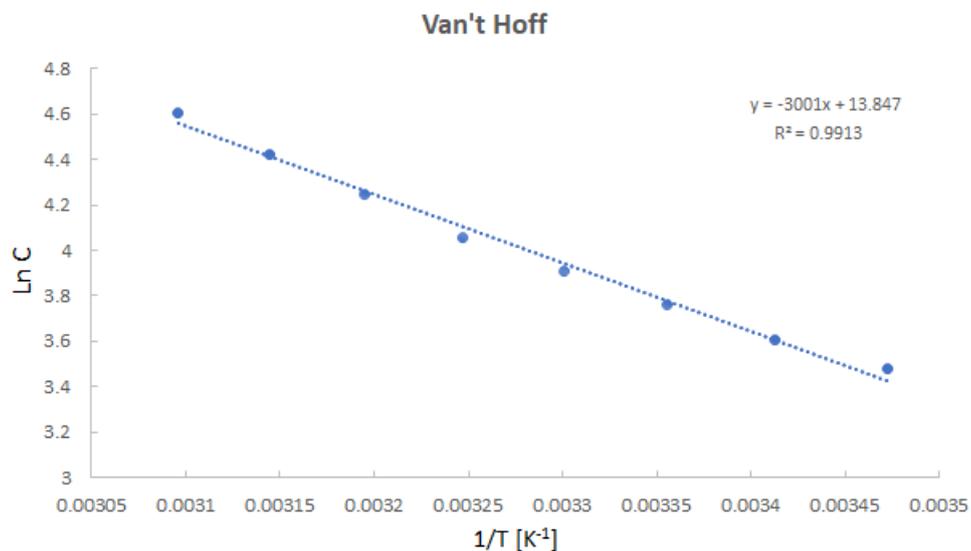


Figura 4.2: Grafico di Van't Hoff della solubilità

Anche in questo caso il coefficiente di determinazione R^2 è molto vicino ad un valore unitario. Ciò indica che i dati sperimentali si adattano bene alla legge di Van't Hoff.

Analizzando quotidianamente i campioni in sospensione usati per l'analisi termogravimetrica, è stato osservato sempre lo stesso spettro, riconducibile alla forma HH. Per questo motivo è stato possibile concludere che questa curva di solubilità fosse appartenente al HH.

4.2 Risultati zone metastabili

Per la definizione delle zone metastabili sono state utilizzate due velocità di raffreddamento differenti, nello specifico $-1^{\circ}C/min$ e $-0.5^{\circ}C/min$. Come spiegato nel capitolo precedente, i punti delle curve sono stati selezionati basandosi sulla curva di solubilità precedentemente definita, scegliendo le concentrazioni di saturazione relative alle temperature pari a 35, 40, 45 e $50^{\circ}C$.

Era stato fatto un tentativo con una concentrazione di saturazione più bassa, relativa alla temperatura di $25^{\circ}C$ ma, pur raggiungendo e mantenendo i $6^{\circ}C$ per un totale di oltre 10 ore, la nucleazione primaria non si è mai verificata. Si è scelto di conseguenza di partire con le soluzioni più concentrate sopra menzionate.

Imponendo una rampa di temperatura, i dati di assorbanza e trasmittanza sono stati raccolti tramite un turbidimetro e rappresentati in grafici per mostrarne le variazioni in funzione del tempo, tramite la funzione *addaxis* di Matlab.

Come mostrato nelle figure 4.3 e 4.4, i grafici rappresentano la variazione di temperatura in arancione, di trasmittanza in blu e assorbanza in verde. I grafici riportati riguardano gli esperimenti condotti con le due diverse velocità di raffreddamento, alla medesima concentrazione pari a quella di saturazione a $40^{\circ}C$. Tutti gli altri grafici relativi agli altri esperimenti sono riportati in appendice A

Tramite questi andamenti è stata ricercata la temperatura di nucleazione primaria, che determina il limite della zona metastabile. Il punto esatto è stato selezionato in corrispondenza dell'inizio della decrescita monotona nei valori di trasmittanza, a cui è stata relazionata la temperatura corrispondente.

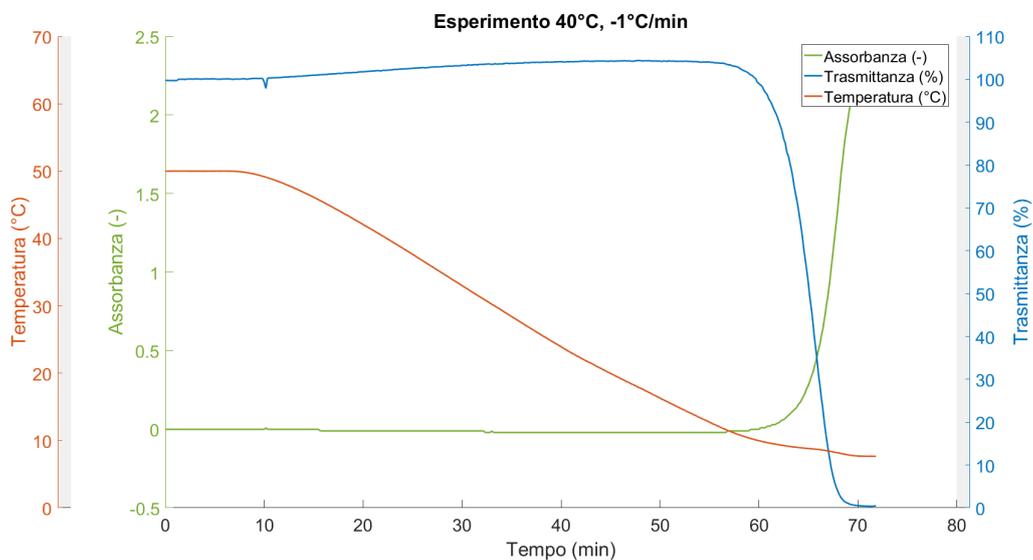


Figura 4.3: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

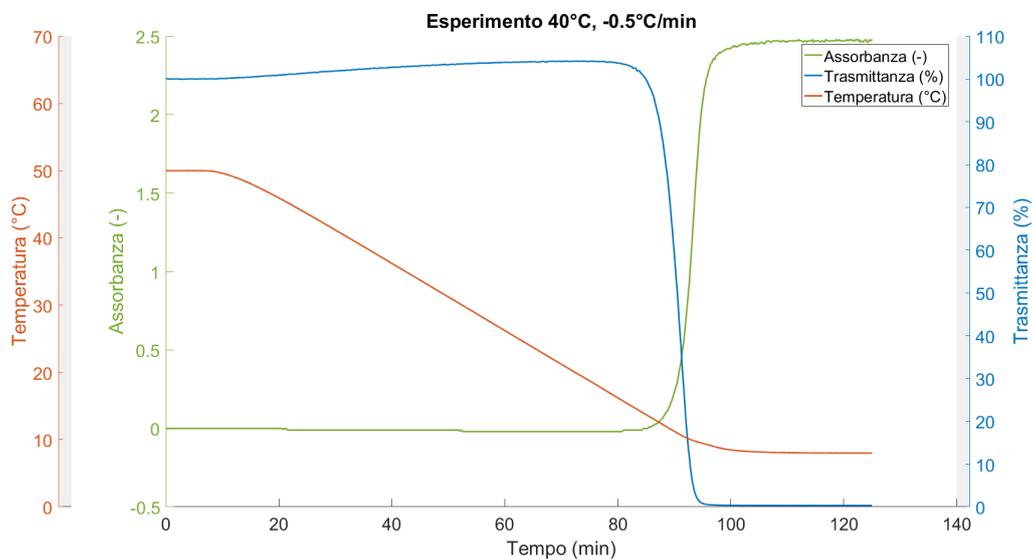


Figura 4.4: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Le temperature di nucleazione primaria non sono state estrapolate direttamente dai file Excel prodotti da Ministat 230 e Control 4000, in quanto è stato considerato un procedimento più preciso rispetto all'osservazione grafica. Inoltre, come si nota anche dai grafici, va considerato che il turbidimetro ha misurato dei valori di trasmittanza superiori al 100%, pur configurando il punto di massima limpidezza all'inizio della rampa, ovvero in condizioni di massima temperatura. Di conseguenza, per aver maggior precisione, è stato necessario visionare dai valori di trasmittanza il momento in cui il decremento è diventato monotono.

Le due zone metastabili ottenute sono state rappresentate in un grafico assieme alla curva di solubilità. Come rappresentato in figura 4.5, velocità di raffreddamento

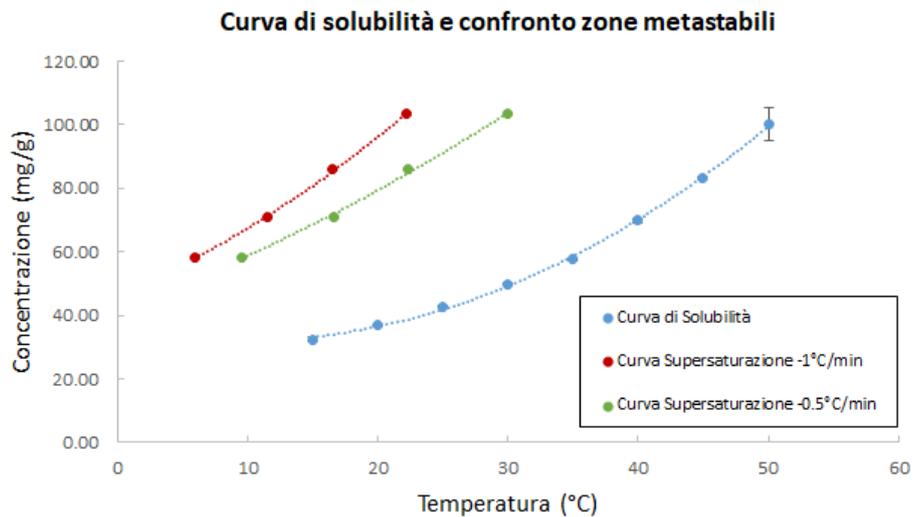


Figura 4.5: Rappresentazione grafica della zona metastabile al variare della velocità di raffreddamento, rispetto alla curva di solubilità

più elevate portano ad una zona metastabile più ampia. Poiché la soluzione diventa satura più velocemente sarà presente un grado di sovrassaturazione maggiore in corrispondenza della nucleazione. Quindi ad elevate velocità di raffreddamento si formerà un numero maggiore di nuclei. Una zona metastabile più ampia è indicazione di difficoltà di nucleazione primaria, per esempio per via di cinetiche lente.

4.3 Risultati prove di riscaldamento

Alternativamente alle prove di raffreddamento per la ricerca delle zone metastabili, sono stati effettuati dei riscaldamenti per riportare il solido in soluzione e poter procedere al successivo esperimento. I riscaldamenti sono quindi stati sfruttati per effettuare una verifica della curva di solubilità ottenuta con il metodo termogravimetrico. È stato poi rappresentato in figura 4.6 il confronto tra le curve di solubilità della forma HH ottenute:

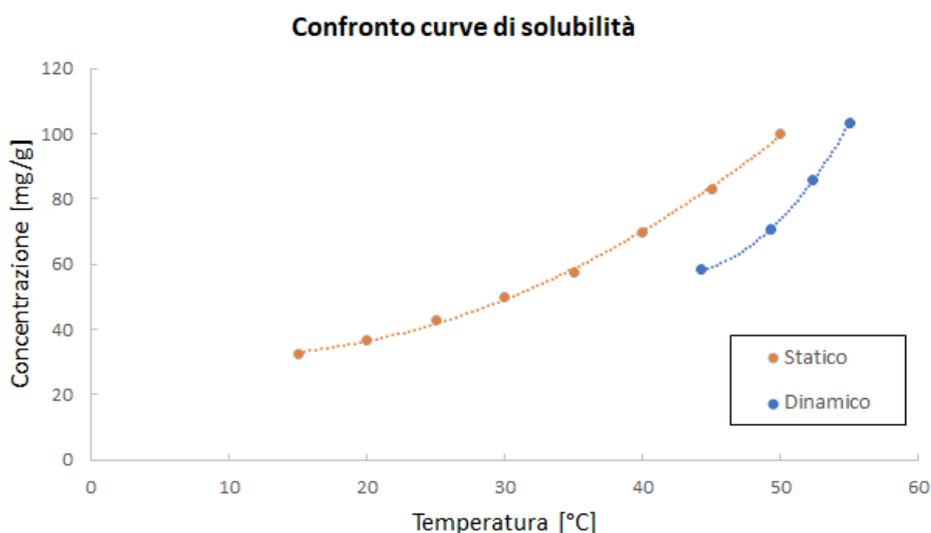


Figura 4.6: Confronto tra la curva ottenuta con il metodo termo-gravimetrico statico e la curva ottenuta con il metodo dinamico

Le curve hanno un andamento simile, pur notandosi una differenza significativa nelle temperature. Questa può essere giustificata dalla diversa modalità con cui sono stati condotti gli esperimenti, staticamente nel termo-gravimetrico e dinamicamente con le rampe di temperatura. Nel caso dinamico è probabile che la velocità di riscaldamento fosse maggiore di quella di dissoluzione, per cui il solido è stato sciolto ad una temperatura maggiore di quella attesa. Anche in questo caso sono stati diagrammati i dati di temperatura, assorbanza e trasmittanza in funzione del tempo. I grafici riportati in figura 4.7 e 4.8 riguardano gli esperimenti condotti alla medesima concentrazione, pari a quella di saturazione a 40°C, mentre tutti gli altri grafici relativi agli altri esperimenti sono contenuti in appendice B.

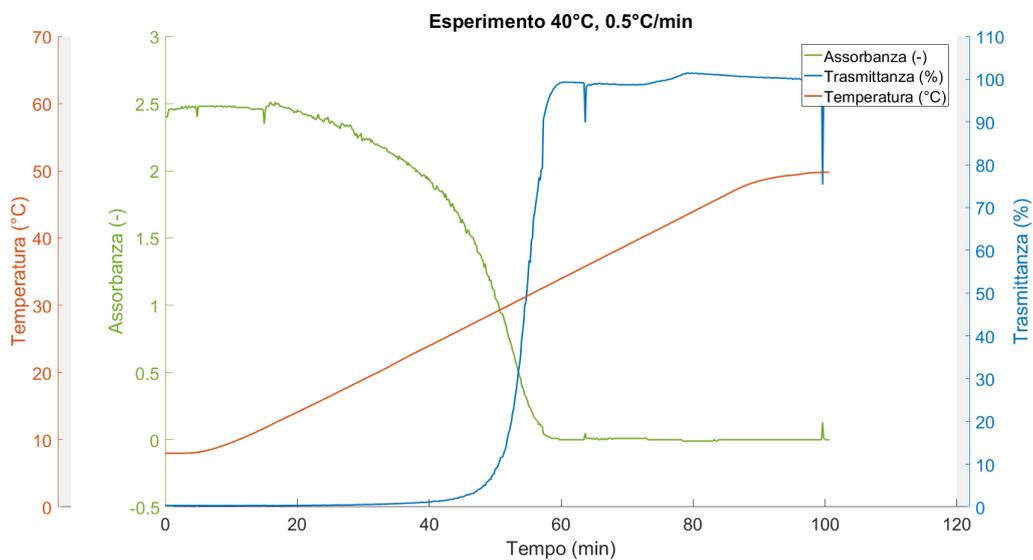


Figura 4.7: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

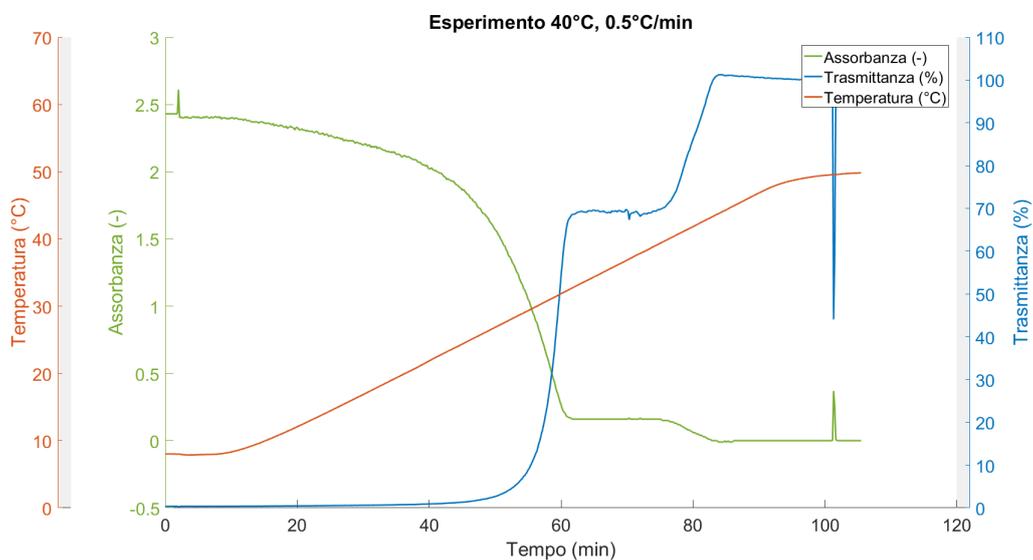


Figura 4.8: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 40°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

In quasi tutti gli esperimenti di riscaldamento è stato notato uno specifico fenomeno. In particolare, si è notato negli andamenti della trasmittanza un gradino a circa metà del trend riportato nel grafico. Questo fenomeno potrebbe essere stato causato da una trasformazione polimorfica dovuta all'instabilità del monoidrato in acqua. Infatti, il gradino suggerisce una sostanziale costanza nella concentrazione di soluto disciolta in soluzione, nonostante la temperatura stia ancora salendo e la concentrazione di soluto sia lontana dall'equilibrio.

Si ipotizza che i due idrati abbiano curve di solubilità differenti, con l'HH meno solubile rispetto al MH. Durante il riscaldamento si raggiungono delle condizioni di concentrazione e temperatura comprese tra le due curve, quindi in una condizione di sottosaturazione rispetto al MH e di sovrasaturazione rispetto all'HH. Sostanzialmente si ha la nucleazione e crescita di cristalli di HH che tende a diminuire la concentrazione di soluto, ed il simultaneo discioglimento del MH che va invece ad aumentare la concentrazione della soluzione. Questi due fenomeni contemporanei si compensano l'un l'altro, per cui la concentrazione di soluto (e quindi anche la quantità di solido sospeso misurato dal turbidimetro) tende a rimanere costante. Durante un esperimento manifestante questo fenomeno, è stato estratto un campione di cristalli che è poi stato analizzato tramite spettroscopia Raman. Lo spettro prodotto ha indicato la presenza di cristalli in forma HH. Considerando che la ricristallizzazione a basse temperature è sempre avvenuta nella forma MH, questo esperimento potrebbe dare supporto all'ipotesi fatta.

4.4 Risultati prove di caratterizzazione

Al fine di caratterizzare la forma idrata del materiale di partenza e dei cristalli ottenuti negli esperimenti atti alla ricerca della curva di solubilità e delle zone metastabili, sono state usate delle tecniche di caratterizzazione quali spettroscopia Raman e diffrazione di raggi X da polveri (PXRD).

Spettri e diffrattogrammi ottenuti sono successivamente stati confrontati con quelli trovati in letteratura per trovare ulteriori conferme.

4.4.1 Diffrattogrammi ottenuti al PXRD

Al PXRD sono stati ricavati i diffrattogrammi relativi alle polveri del materiale di partenza e del materiale ricristallizzato e rimasto nelle barchette negli esperimenti per la ricerca della curva di solubilità. I diffrattogrammi acquisiti sperimentalmente sono stati poi confrontati con quelli simulati ottenuti dalla banca dati dei Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC), per indagare quale dei due idrati considerati fosse presente. Il primo confronto è quello con il materiale di partenza:

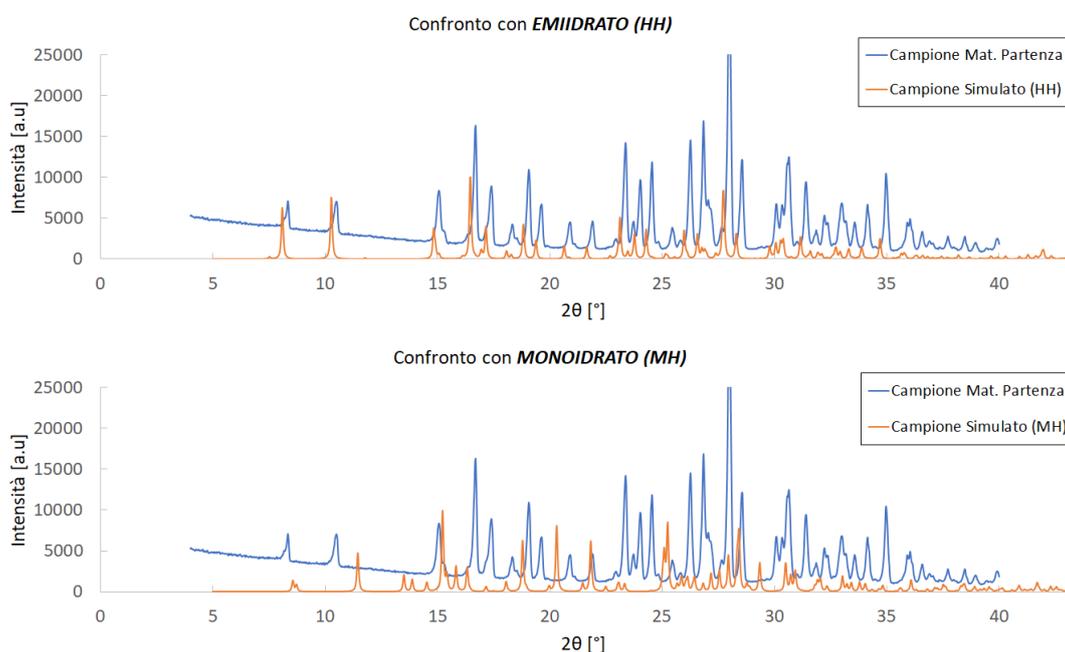


Figura 4.9: Confronto tra il diffrattogramma ricavato con il materiale di partenza e i diffrattogrammi delle rispettive forme idrate ottenuti dalla banca dati del CCDC

Dalla figura 4.9 è possibile notare come il confronto tra il diffrattogramma calcolato con le polveri del materiale di partenza ed i diffrattogrammi simulati per i due idrati, abbia portato a trovare una maggior corrispondenza con la forma HH. Il risultato era atteso considerando che HH rappresenta l'idrato più stabile. Con lo stesso procedimento è stato caratterizzato il materiale ricristallizzato nelle barchette successivamente agli esperimenti della curva di solubilità, per due diversi campioni corrispondenti agli esperimenti a 15°C e 45°C :

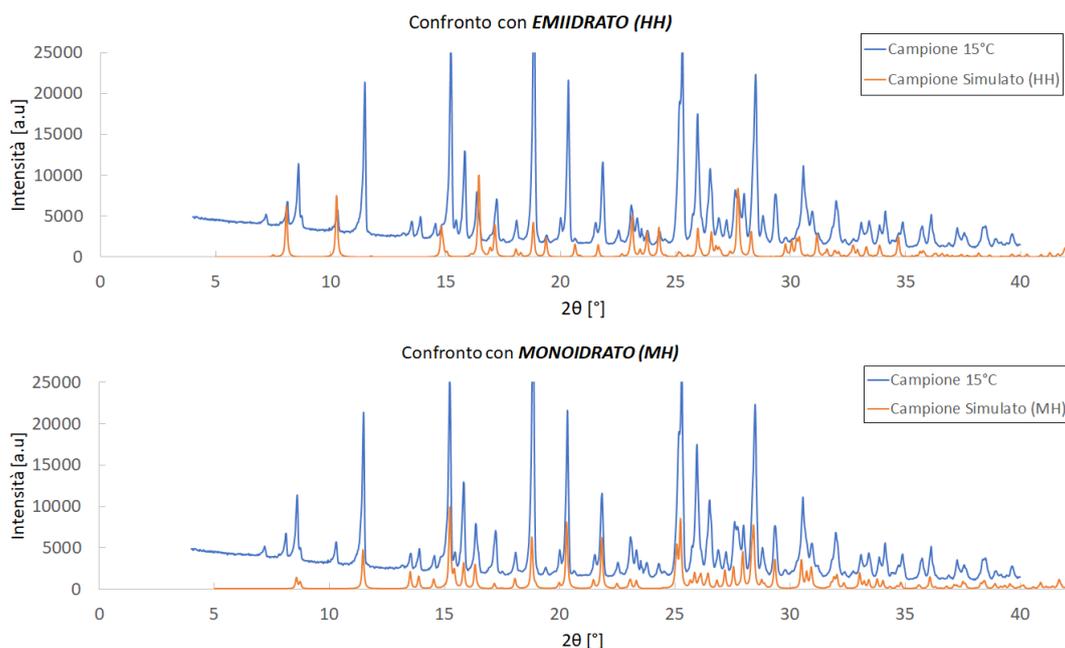


Figura 4.10: Confronto tra il diffrattogramma ricavato dal campione a 15°C della curva di solubilità i diffrattogrammi delle rispettive forme idrate ottenuti dalla banca dati del CCDC

I due campioni sono stati scelti appositamente agli estremi degli esperimenti della curva di solubilità. Tra l'ottenimento delle polveri e l'acquisizione dei diffrattogrammi sono trascorsi rispettivamente 6 e 12 giorni, nel caso delle polveri relative agli esperimenti a 45°C e 15°C . Si è voluto indagare se al trascorrere dei giorni sarebbero state trovate due forme idrate differenti.

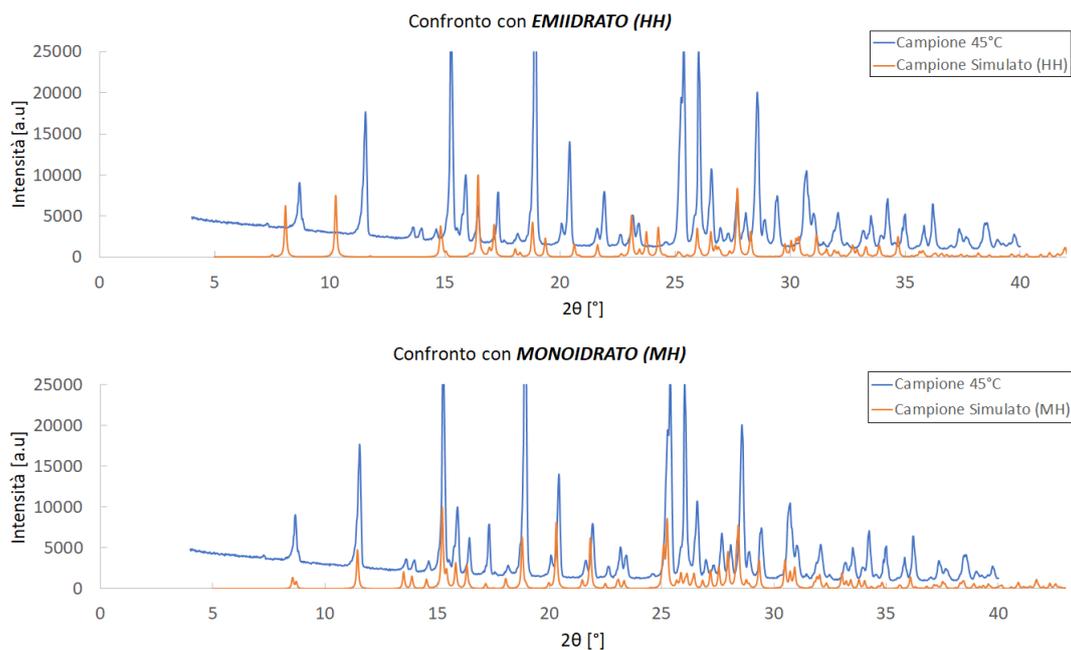


Figura 4.11: Confronto tra il diffrattogramma ricavato dal campione a 45°C della curva di solubilità i diffrattogrammi delle rispettive forme idrate ottenuti dalla banca dati del CCDC

In entrambi i casi, come si nota dalle figure 4.10 e 4.11 i diffrattogrammi dei due campioni sono approssimabili a quello simulato della forma MH. Ciò significa che, pur partendo dall'HH, la ricristallizzazione avviene nella forma meno stabile termodinamicamente. È possibile giustificare questo fenomeno considerando la cristallizzazione della forma MH come quella cinematicamente favorita. L'intensità dei picchi non è da considerare un parametro rappresentativo in quanto dipende anche da come la polvere viene stesa sul provino.

Il confronto tra i due campioni analizzati presenta pochi picchi di differenza, in particolare, qualche picco aggiuntivo nel diffrattogramma del campione a 15°C compresi nel range 7-10°. Questi picchi, si ipotizza, potrebbero essere dovuti ad una contaminazione avvenuta sotto cappa da parte di altri composti presenti.

La validità dei diffrattogrammi ottenuti sperimentalmente è ulteriormente supportata dalle informazioni riportate in letteratura, ad esempio, nello studio condotto da P. Chakravarty e al. [25] in cui vengono indicati i picchi caratteristici del MH (8.5 e 11.4°, 2θ) e del HH (8.1 e 10.3°, 2θ), mostrati in figura 4.12, che si rivelano

essere corrispondenti a quelli calcolati in questo lavoro di tesi.

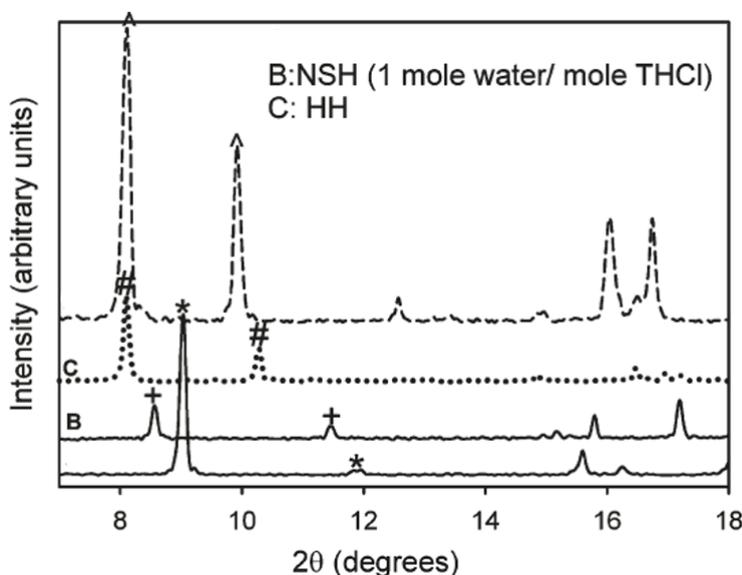


Figura 4.12: Diffrattogrammi relativi agli idrati MH (B) e HH (C), tratto da [25] e modificato

4.4.2 Spettri ottenuti al Raman

Ottenuti i diffrattogrammi al PXR, gli stessi campioni sono stati caratterizzati tramite uno spettrofotometro Raman. Così facendo, sono stati differenziati gli spettri relativi alle due forme idrate considerate, per poi essere utilizzati come confronto nei successivi esperimenti.

Negli esperimenti per la curva di solubilità, come accennato nella sezione 3.2, è stato quotidianamente misurato lo spettro del solido rimasto in eccesso nel reattore, per verificare che non fosse avvenuta una transizione polimorfica. Lo spettro si è sempre rivelato essere il medesimo, e corrispondente al HH.

Negli esperimenti per la ricerca delle zone metastabili, arrivati all'equilibrio della cristallizzazione, è stato analizzato un campione di cristalli prelevato dal cristallizzatore, per ogni esperimento condotto. L'analisi allo Raman ha sempre portato allo spettro del MH puro.

Lo stesso risultato è stato evidenziato per le ricristallizzazioni ottenute negli esperimenti per la curva di solubilità. È stata dunque confermato il vantaggio cinetico

della cristallizzazione della forma MH rispetto alla forma termodinamicamente stabile HH. Analizzando invece un campione in polvere mantenuto a temperatura ambiente all'interno di una eppendorf per un mese, si è notata una transizione da MH a HH, in quanto gli spettri Raman hanno mostrato delle differenze tra il campione appena ottenuto e lo stesso rianalizzato un mese dopo.

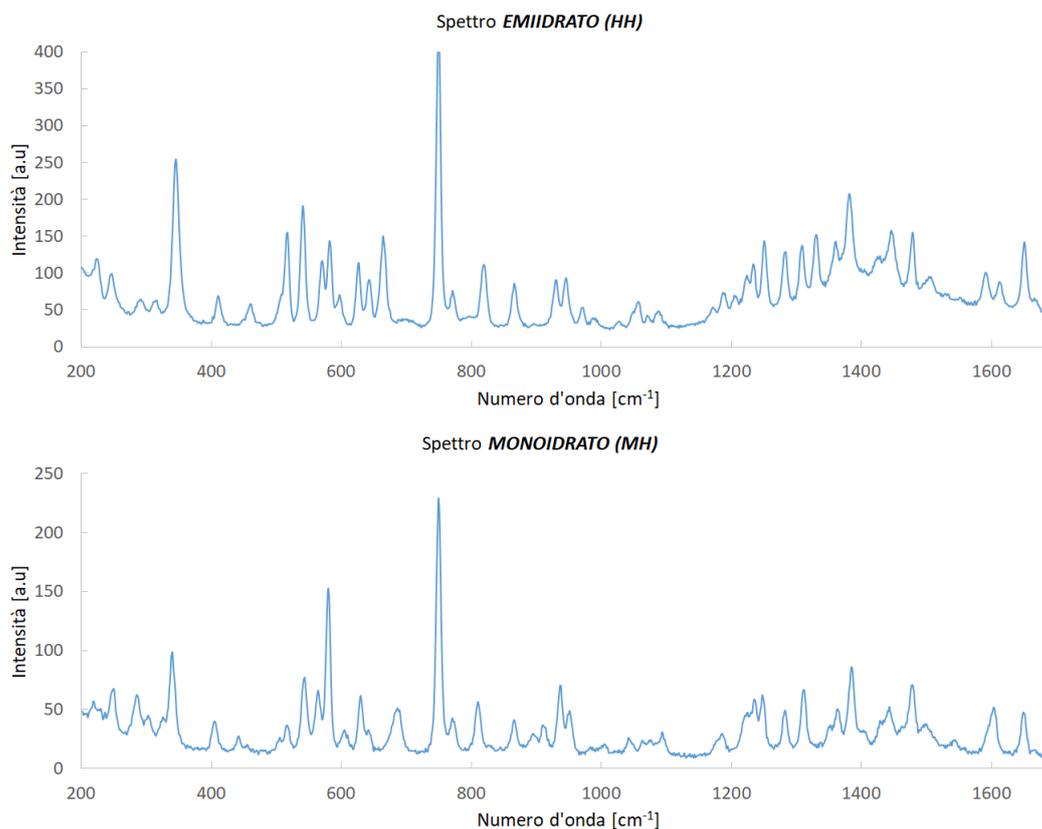


Figura 4.13: Spettri Raman della forma HH (in alto) e MH (in basso) nel range di numero d'onda 200-1700 cm^{-1}

Per distinguere i due idrati, questi vengono confrontati in figura 4.14 gli spettri nel range di Raman shift 1580-1690 cm^{-1} dove le due forme solide mostrano differenze nelle vibrazioni di allungamento dell'anello pirimidinico.

Gli spettri Raman dei due idrati sono confermati dalla letteratura. In particolare, si vuole citare l'articolo di P. Chakravarty e al. [26] in cui viene fatto il medesimo confronto nel range di numero d'onda 1580-1690 cm^{-1} , mostrato in figura 4.15, e con cui si ha un'ottima corrispondenza.

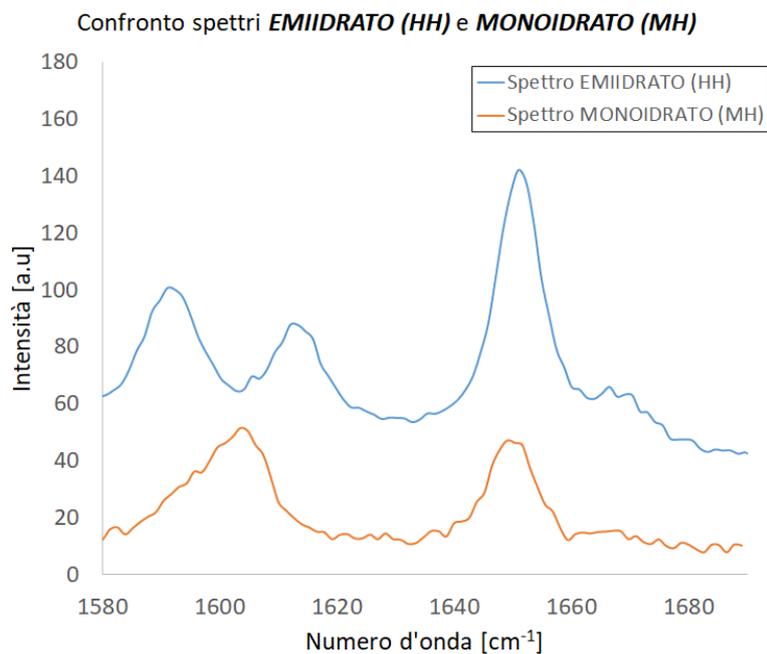


Figura 4.14: Confronto tra HH e MH nel range di numero d'onda $1580\text{-}1690\text{ cm}^{-1}$

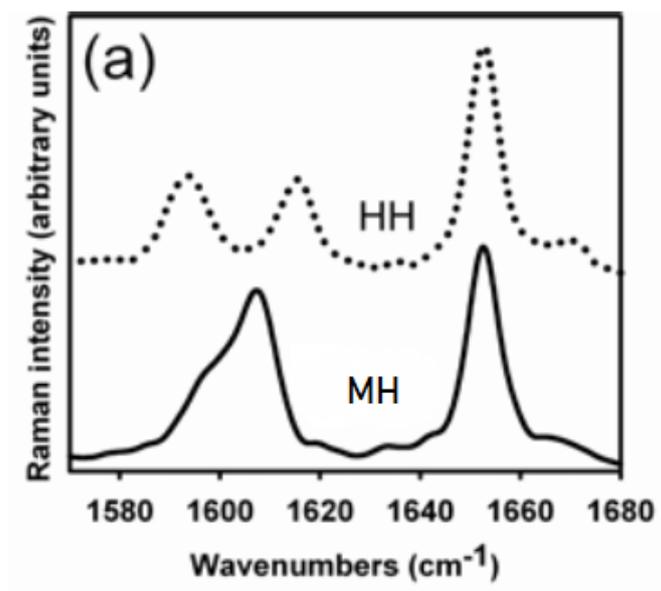


Figura 4.15: Confronto tra HH e MH nel range di numero d'onda $1580\text{-}1690\text{ cm}^{-1}$, tratto da [26] e modificato

4.5 Risultati distribuzioni di dimensioni

L'obiettivo è stato quello di studiare la variazione della distribuzione di dimensione al variare delle condizioni di concentrazione e velocità di raffreddamento durante il processo di cristallizzazione primaria.

Si è provato ad ottenere una distribuzione di dimensioni utilizzando le polveri raccolte negli esperimenti delle zone metastabili e conservate nelle eppendorf, procedendo a stenderle su un vetrino e tentando di separare i cristalli uno per uno, in modo da renderli visibili singolarmente e poterne ricavare le dimensioni. Il vetrino è stato poi inserito all'interno del microscopio Raman per poter analizzare il campione con la camera interna ed ottenere le fotografie. Allo scopo sono state utilizzate due lenti differenti, la 10x e la 50x:

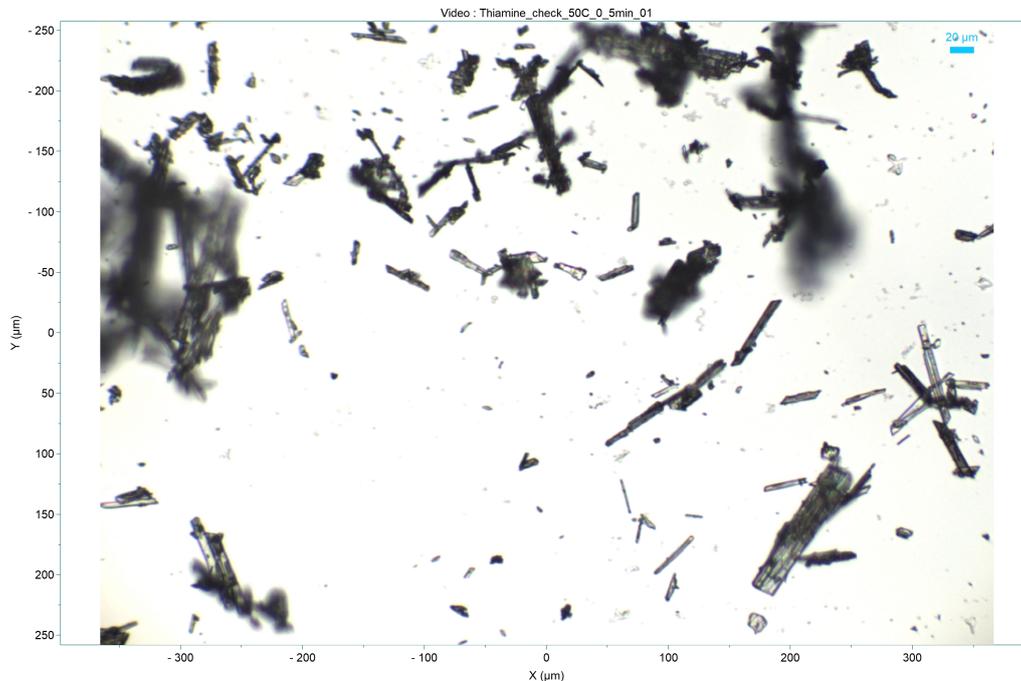


Figura 4.16: Fotografia ottenuta con la camera dello spettrometro Raman utilizzando la lente 10x

In figura 4.16 viene mostrata una fotografia della polvere, ottenuta con la lente 10x dello spettrometro, corrispondente all'esperimento con la concentrazione di saturazione relativa alla temperatura di 50°C e velocità di raffreddamento pari a $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Nel tentativo di separare i cristalli sul vetrino, si è notato dalle fotografie come questi fossero stati danneggiati, di fatto compromettendo l'ottenimento di una distribuzione accurata e veritiera.

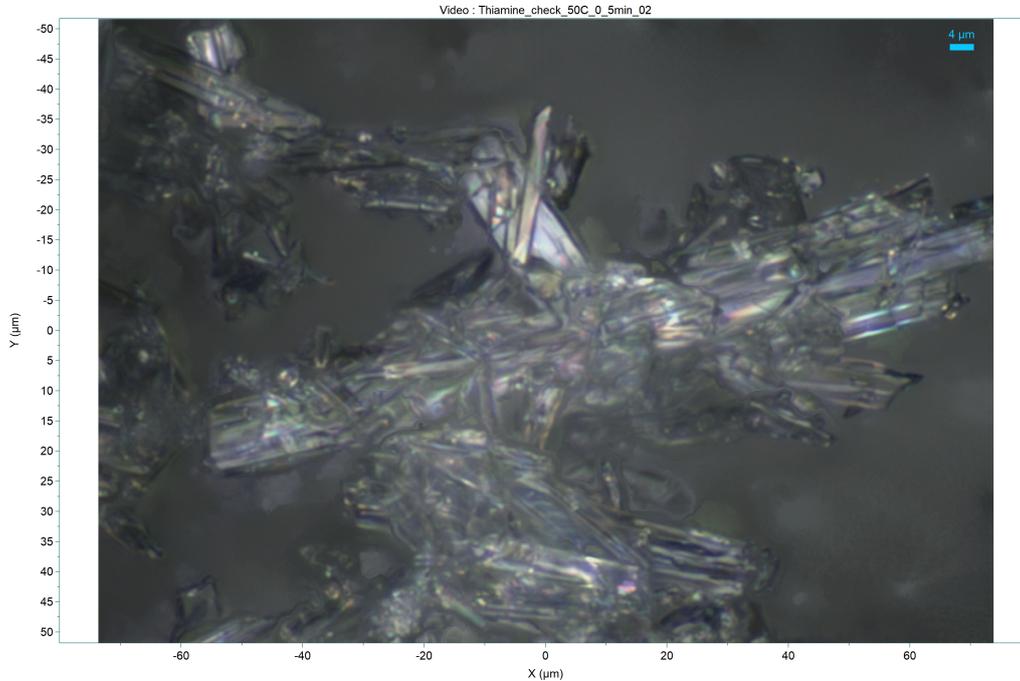


Figura 4.17: Fotografia ottenuta con la camera dello spettrometro Raman utilizzando la lente 50x

Si è comunque voluto indagare anche con la lente da 50x. Come si nota in figura 4.17, adesi al cristallo principale sono presenti numerosi altri piccoli cristalli. Questo effetto molto probabilmente è dovuto alla presenza di nucleazione secondaria, in quanto il campione anche a fronte della filtrazione ha mantenuto una certa quantità di soluzione, che evaporando ha rilasciato il soluto disciolto precedentemente al suo interno, formando questi piccoli cristalli.

L'effetto è chiaramente indesiderato perché la presenza di questi piccoli cristalli potrebbe influenzare negativamente la distribuzione di dimensioni, ma anche perché questo tipo di nucleazione non è frutto del processo che si sta studiando ma di determinate condizioni di stoccaggio.

Si è dunque deciso di cambiare strategia, ripetendo gli stessi esperimenti già effettuati per lo studio delle zone metastabili ed analizzando i campioni tramite

microscopia a luce polarizzata subito dopo il prelievo dal cristallizzatore, come discusso nella sezione 3.5. Tramite le fotografie raccolte, i cristalli sono risultati essere molto differenti da quelli ottenuti nel precedente tentativo. In particolare, non si è notata la presenza di nucleazione secondaria in nessun campione prelevato ed i cristalli hanno sempre manifestato una forma definita, senza eccessive evidenze di rotture.

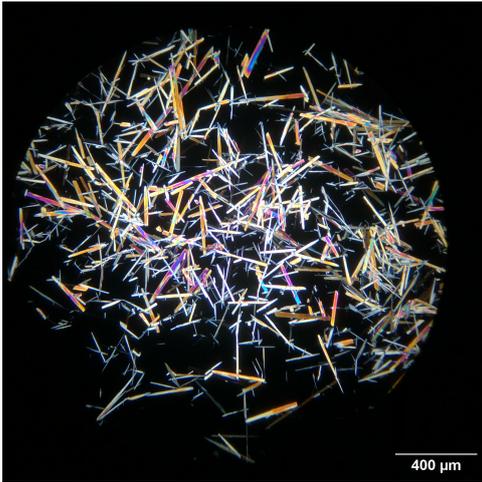


Figura 4.18: Fotografia di un campione di cristalli prelevato dall'esperimento con la concentrazione di saturazione relativa alla temperatura di 40°C e velocità di raffreddamento pari a $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

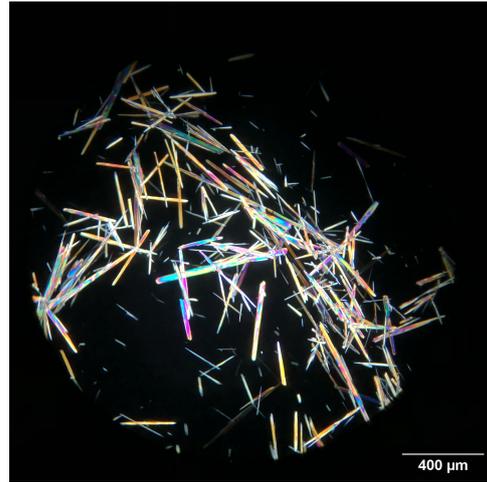


Figura 4.19: Fotografia di un campione di cristalli prelevato dall'esperimento con la concentrazione di saturazione relativa alla temperatura di 40°C e velocità di raffreddamento pari a $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Come spiegato nella sezione 3.5 la selezione dei cristalli è stata fatta manualmente tramite un'applicazione su iPad ed ha riguardato circa 300 cristalli per ogni esperimento, nel tentativo di spaziare dai cristalli più piccoli a quelli più grandi per non influenzare il risultato finale.

Si ricorda che le immagini con i contorni dei cristalli, ottenute dall'applicazione, sono poi state processate in ImageJ per ottenere la lunghezza dei due lati dei cristalli tramite l'approssimazione di ellissi.

In figura 4.20 è riportato un esempio con i vari step di ricalcatura in Sketchbook e di binarizzazione in ImageJ.

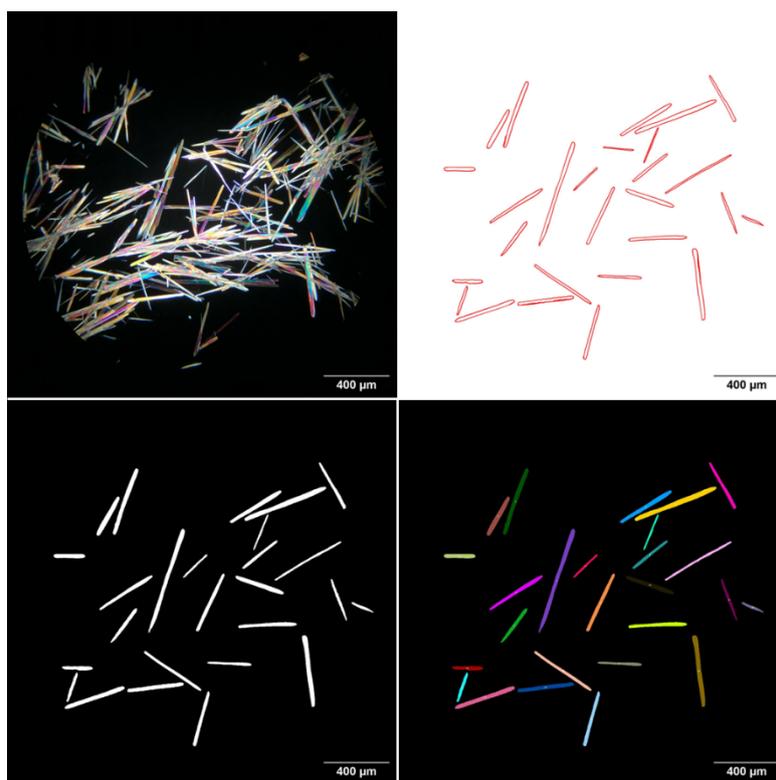


Figura 4.20: Esempio di processo di ricalcatura e binarizzazione delle immagini dei cristalli al microscopio

I risultati sono poi stati processati in Matlab attraverso la funzione *hist3* che ha prodotto dei grafici delle distribuzioni di dimensioni tridimensionali, considerando la frequenza e le dimensioni del lato lungo, chiamato $L1$, e del lato corto, chiamato $L2$. Parallelamente sono stati prodotti anche dei grafici in due dimensioni, rappresentanti i medesimi risultati ma considerando sugli assi solo le dimensioni $L1$ ed $L2$, utili per ricevere una visione più diretta. A titolo di esempio sono riportate le figure 4.21 e 4.22 rappresentanti la distribuzione dell'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$ mentre nelle figure 4.23 e 4.24 la distribuzione dell'esperimento con la stessa concentrazione ma con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$. Gli altri grafici sono invece mostrati in appendice C.

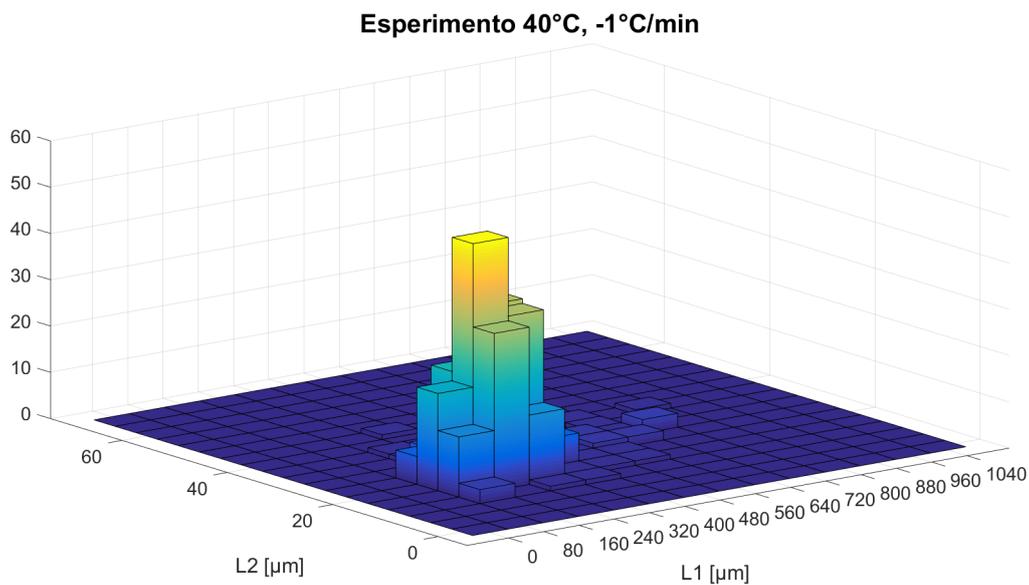


Figura 4.21: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

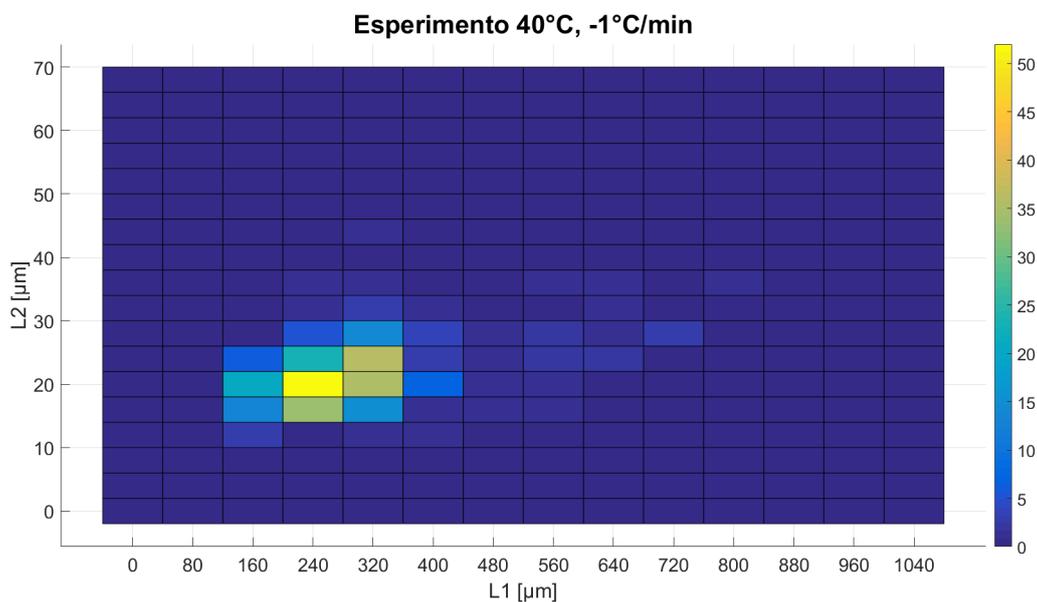


Figura 4.22: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

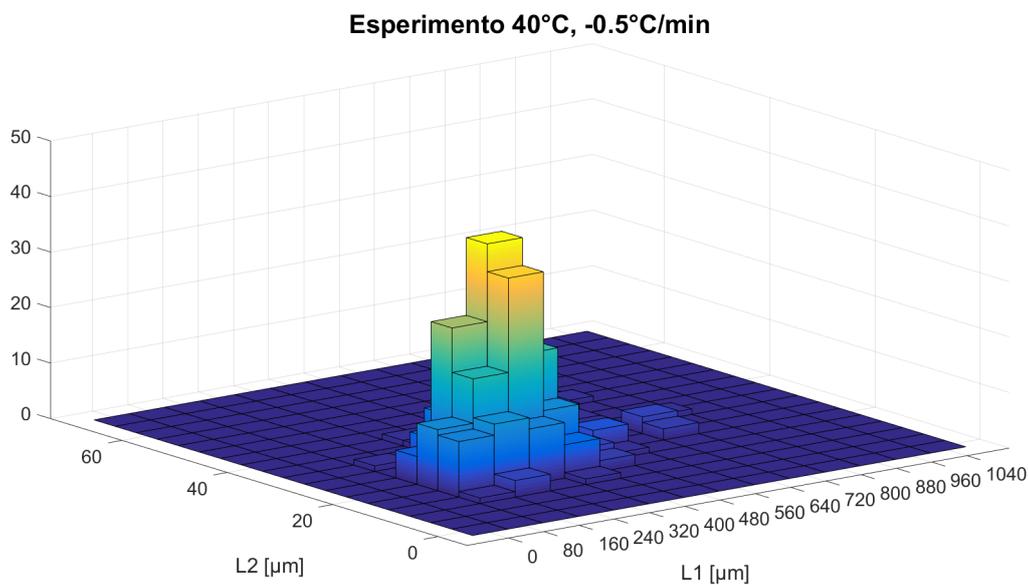


Figura 4.23: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

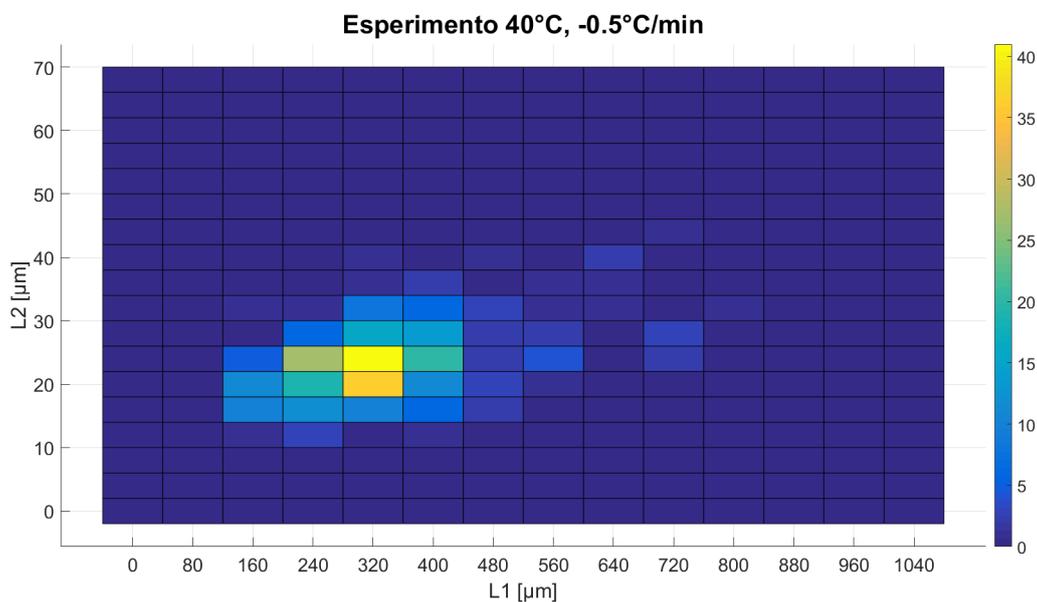


Figura 4.24: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $40^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

Dai grafici è possibile fare un confronto qualitativo tra gli esperimenti svolti con le due velocità di raffreddamento differenti. Si nota infatti come, confrontando gli esperimenti a parità di concentrazione, la velocità di raffreddamento più bassa abbia prodotto cristalli mediamente più grandi su entrambi i lati del cristallo. Ciò si nota dallo spostamento del picco, che in tutti i casi avviene in direzione di valori crescenti di $L1$ e $L2$.

È stata condotta un'analisi quantitativa più approfondita, considerando le medie e le deviazioni standard del fattore di forma e della dimensione dei due lati. Il fattore di forma rappresenta il rapporto tra il lato lungo ed il lato corto. I dati raccolti sono stati inseriti in una tabella:

Tabella 4.2: Valori medi e deviazioni standard del fattore di forma e delle dimensioni dei cristalli ottenuti dai vari esperimenti

	Fattore di forma [-]		Dimensione L1 [μm]		Dimensione L2 [μm]	
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.
$35^{\circ}C$ $-1^{\circ}C/min$	13.59	5.58	311.38	126.26	13.59	8.55
$35^{\circ}C$ $-0.5^{\circ}C/min$	16.50	6.10	436.32	210.68	26.63	7.83
$40^{\circ}C$ $-1^{\circ}C/min$	13.70	4.13	290.03	100.55	21.43	4.51
$40^{\circ}C$ $-0.5^{\circ}C/min$	14.46	4.57	332.09	114.67	23.36	5.24
$45^{\circ}C$ $-1^{\circ}C/min$	13.56	3.66	315.53	105.09	23.49	5.32
$45^{\circ}C$ $-0.5^{\circ}C/min$	12.13	3.93	326.34	133.15	27.07	6.54
$50^{\circ}C$ $-1^{\circ}C/min$	12.91	3.96	277.54	98.08	21.97	6.13
$50^{\circ}C$ $-0.5^{\circ}C/min$	12.47	3.83	344.48	134.55	27.63	6.10

Da quest'analisi quantitativa è possibile fare diverse osservazioni, considerando

gli effetti della velocità di raffreddamento ma anche dell'aumento di concentrazione che può influenzare il grado di sovrasaturazione tenendo conto che il profilo di temperatura è il medesimo.

La considerazione fatta precedentemente nell'analisi qualitativa viene confermata, infatti è possibile notare dai valori in tabella che in tutti gli esperimenti, a parità di concentrazione, utilizzando la velocità di raffreddamento pari a $-0.5^{\circ}C/min$ si ottengono medie per le due dimensioni sempre maggiori. Questo effetto sembra essere più evidente quando si utilizza una concentrazione inferiore, probabilmente a causa di una minor nucleazione a favore di una maggior crescita dei cristalli.

Infatti, con basse concentrazioni sono presenti meno particelle o molecole disponibili per la formazione di cluster critici, di conseguenza la formazione di nuovi nuclei diventa meno probabile a parità di temperatura. Invece, le poche particelle di dimensione superiore a quella critica possono continuare a crescere grazie all'aggregazione graduale di materia.

Un'altra osservazione che va fatta riguarda la media del fattore di forma; negli esperimenti con le due concentrazioni inferiori, contrariamente agli altri due esperimenti, diminuendo la velocità di raffreddamento si nota un aumento della media di questo fattore. L'effetto potrebbe esser dovuto a due cinetiche di crescita differenti per i due lati del cristallo, nello specifico, nei due esperimenti a concentrazione minore la cinetica di crescita di $L1$ potrebbe essere favorita rispetto alla cinetica di crescita di $L2$.

Capitolo 5

Conclusioni e sviluppi futuri

In questo lavoro di tesi si sono studiati processi di cristallizzazione del cloridrato di tiamina. Diverse considerazioni possono essere fatte in relazione ai risultati ottenuti.

La curva di solubilità relativa alla forma HH ha manifestato, sia nel caso dell'interpolazione polinomiale che nel caso di interpolazione con una equazione di tipo Van't Hoff, un coefficiente di determinazione R^2 molto vicino al valore unitario. Questo ha indicato la bontà dei dati sperimentali raccolti ed una buona adattabilità degli stessi alla legge di Van't Hoff.

La zona metastabile è stata stimata con due differenti velocità di raffreddamento, pari a $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ e $-0.5^\circ\text{C}/\text{min}$. I risultati hanno mostrato una zona metastabile più ampia con la velocità di raffreddamento superiore, in quanto le condizioni di sovra-saturazione vengono raggiunte più rapidamente e conseguentemente la soluzione ha meno tempo di equilibrarsi e garantire nucleazione primaria.

Tramite le tecniche di caratterizzazione, quali spettroscopia Raman e diffrazione ai raggi X da polveri (PXRD), è stata confermata la forma HH come quella termodinamicamente stabile, mentre la forma MH come quella favorita cineticamente. Tutte le ricristallizzazioni effettuate negli esperimenti per la curva di solubilità e per le zone metastabili sono avvenute nella forma MH, confermandone quindi il vantaggio cinetico. Invece, il materiale di partenza è risultato essere nella forma HH. Inoltre, durante gli esperimenti di riscaldamento si è verificata una transizione polimorfica, infatti caratterizzando un campione di cristalli prelevati durante la

trasformazione è stata identificata la forma HH. Una transizione dalla forma MH alla forma HH è avvenuta anche in un campione di cristalli dopo uno stoccaggio a temperatura ambiente di circa un mese. Questi tre fatti sembrano dare conferma alla maggior stabilità termodinamica della forma HH.

Infine, è stata cercata la distribuzione di dimensioni dei cristalli ottenuti con le due differenti velocità di raffreddamento e le quattro concentrazioni considerate per i precedenti esperimenti. Un primo tentativo è stato effettuato con le polveri raccolte negli esperimenti della zona metastabile. La prova è stata considerata fallita a causa della rottura dei cristalli nel tentativo di separarli singolarmente sul vetrino, ed anche per la presenza di nucleazione secondaria dovuta alla persistente presenza di una piccola frazione di solvente nel campione prelevato.

Il secondo tentativo è stato fatto studiando, tramite un microscopio a luce polarizzata, i campioni appena prelevati dal cristallizzatore. I risultati ottenuti non hanno mostrato i precedenti problemi ed hanno condotto a distribuzioni dotate di senso fisico. In particolare, con la velocità di raffreddamento inferiore si sono osservati cristalli mediamente più grandi, con una crescita più consistente a concentrazioni minori.

I possibili sviluppi futuri potrebbero riguardare uno studio approfondito del fenomeno di transizione polimorfica che si è verificato in fase di riscaldamento dei cristalli, sfruttando una caratterizzazione in situ tramite una sonda Raman. Altri esperimenti potrebbero riguardare lo scale-up del processo di cristallizzazione per il raggiungimento di una specifica struttura cristallina, oppure la ripetizione degli stessi esperimenti ma considerando dei co-cristalli.

Appendice A

Grafici zone metastabili

Imponendo una rampa di temperatura, i dati di assorbanza e trasmittanza sono stati raccolti tramite un turbidimetro e rappresentati in grafici per mostrarne le variazioni in funzione del tempo, tramite la funzione *addaxis* di Matlab. Tramite questi andamenti è stata ricercata la temperatura di nucleazione primaria, che determina il limite della zona metastabile.

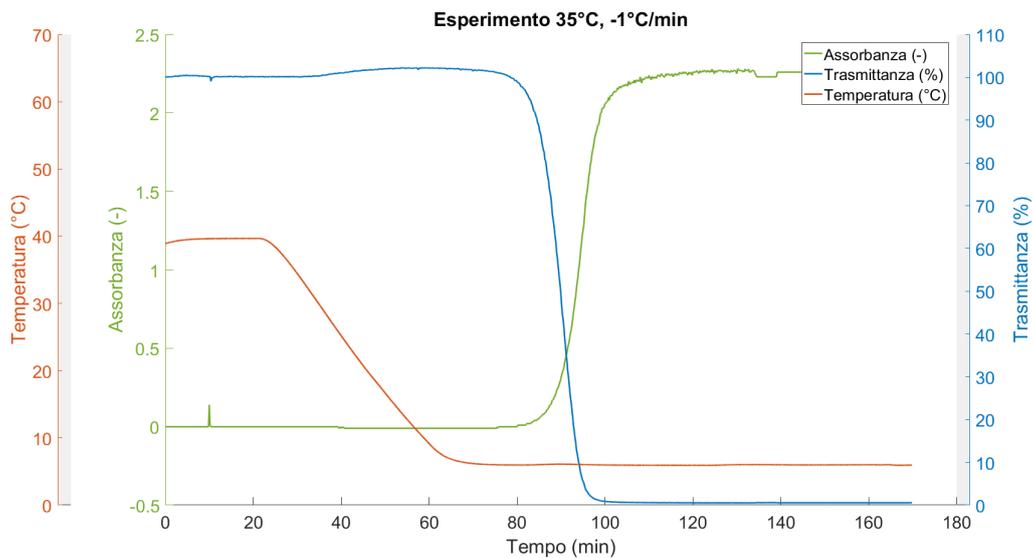


Figura A.1: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 35°C e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

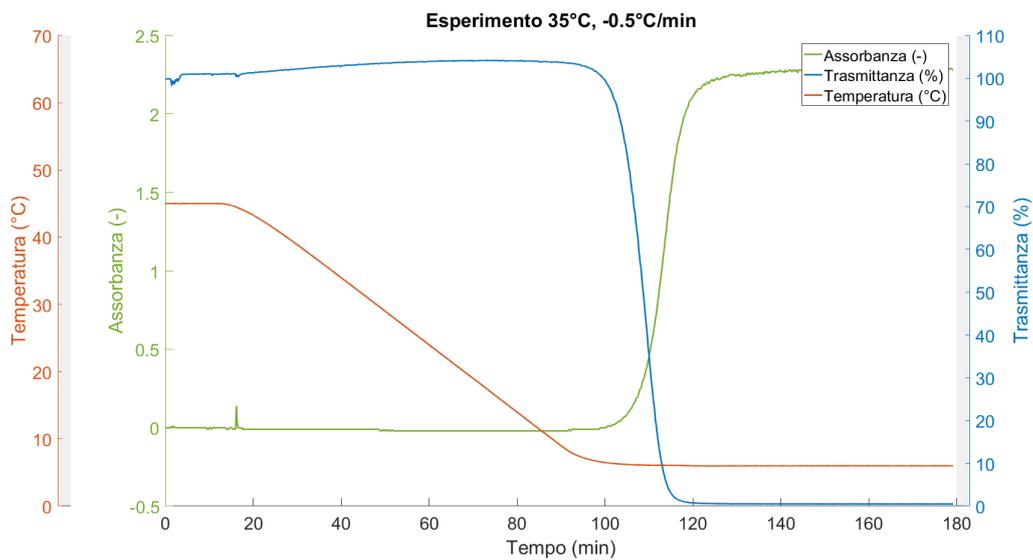


Figura A.2: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 35°C e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

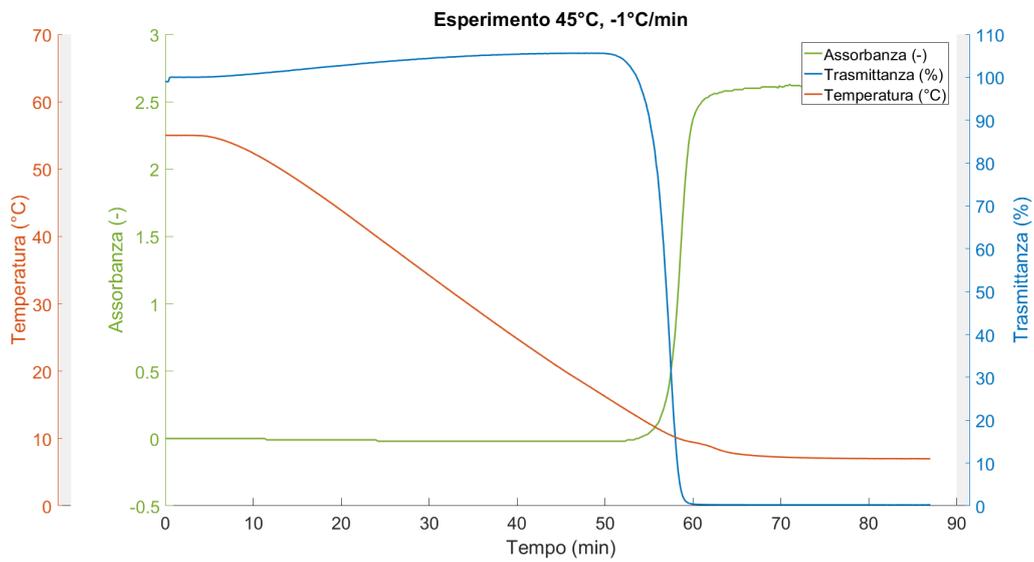


Figura A.3: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 45°C e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

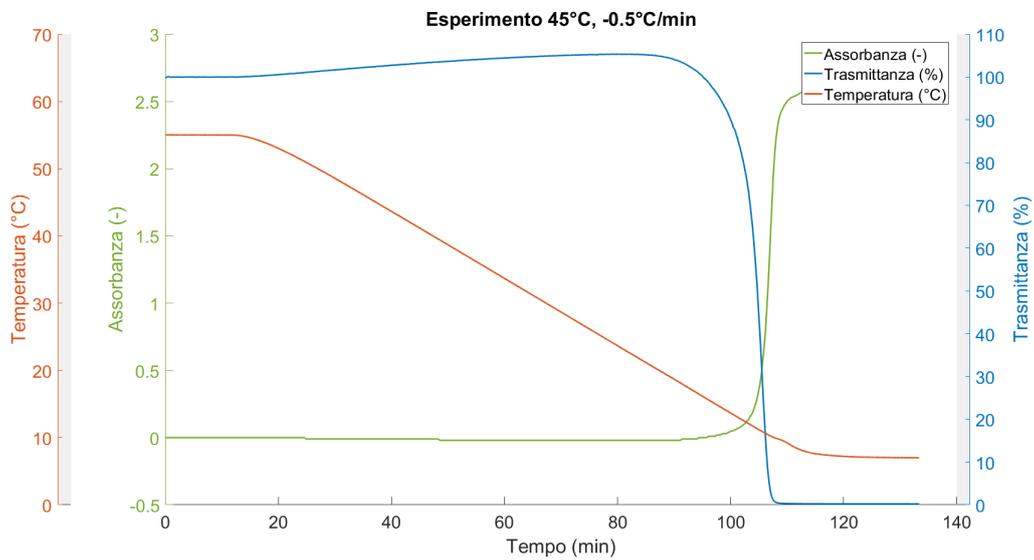


Figura A.4: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 45°C e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

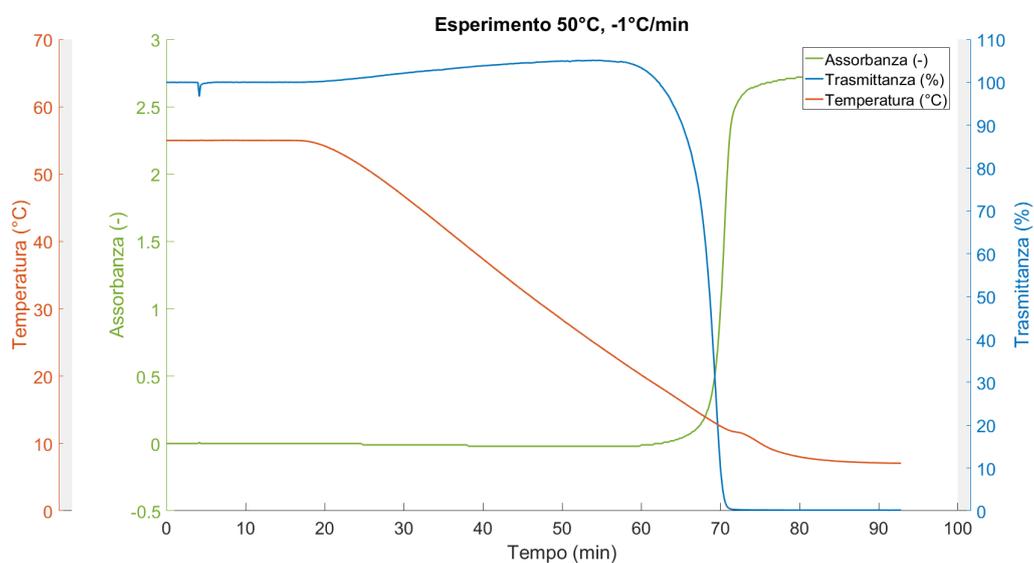


Figura A.5: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 50°C e velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

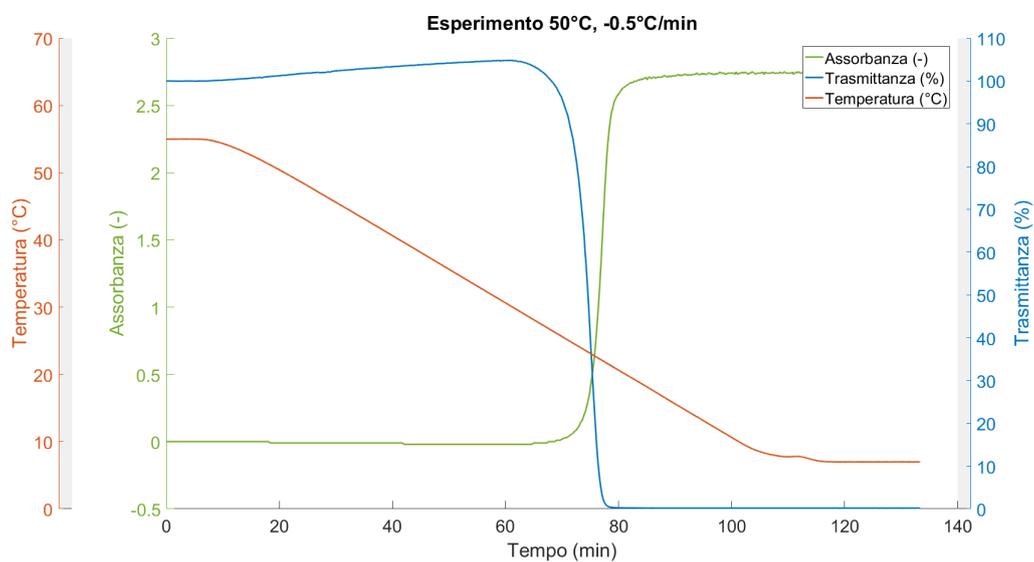


Figura A.6: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 50°C e velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Appendice B

Grafici prove di riscaldamento

Imponendo una rampa di temperatura, i dati di assorbanza e trasmittanza sono stati raccolti tramite un turbidimetro e rappresentati in grafici per mostrarne le variazioni in funzione del tempo, tramite la funzione *addaxis* di Matlab. Tramite questi andamenti è stata ricercata la temperatura del *clear point*, che determina il punto della curva di solubilità.

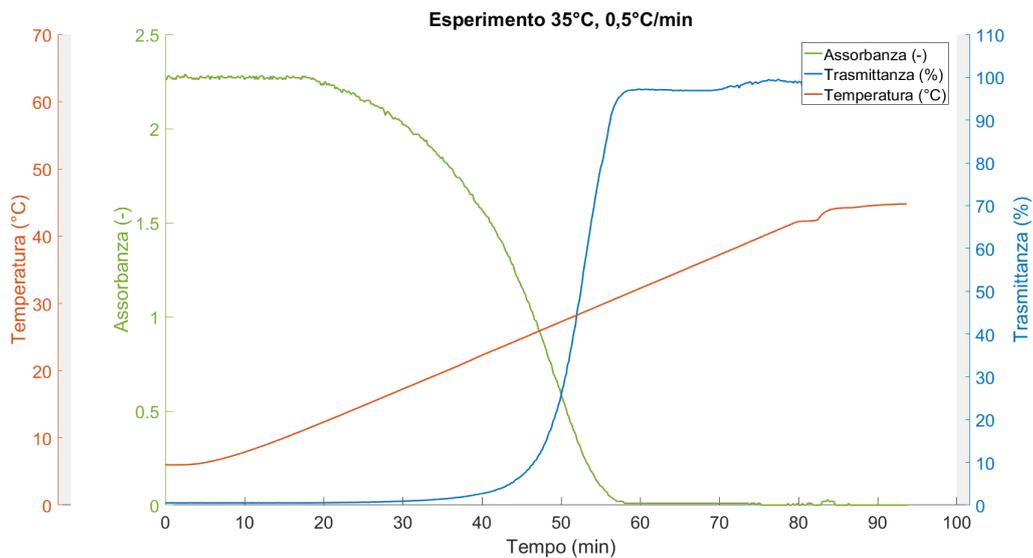


Figura B.1: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 35°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

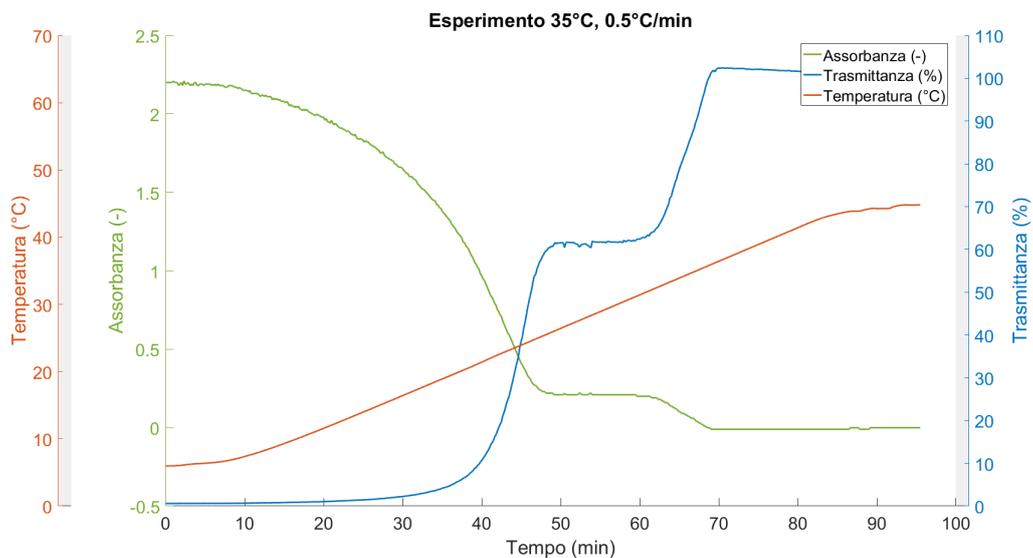


Figura B.2: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 35°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

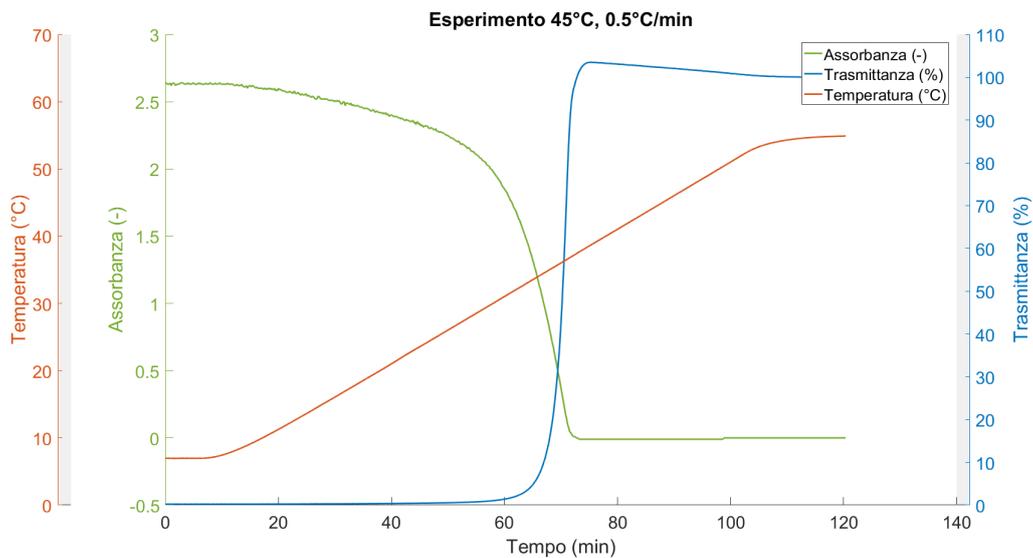


Figura B.3: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 45°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

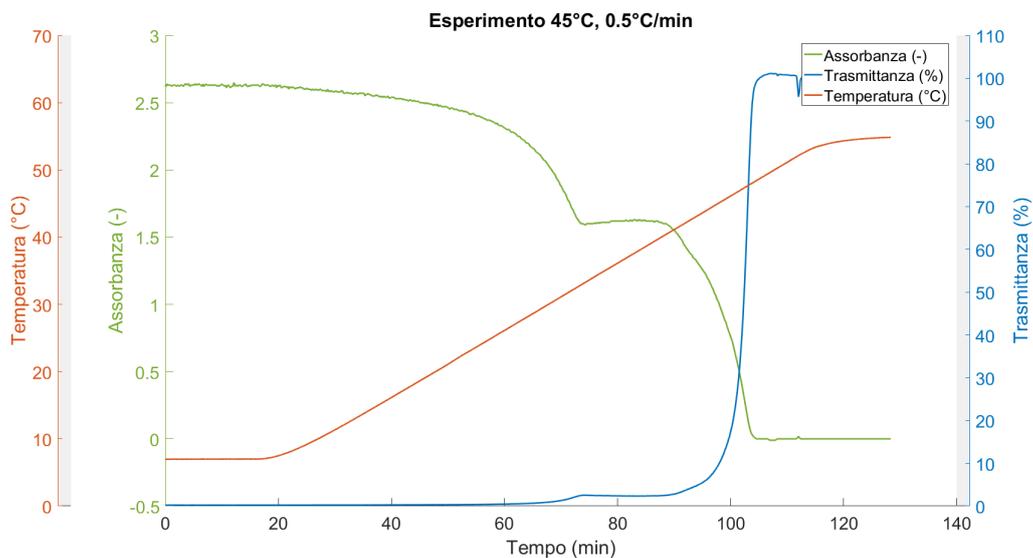


Figura B.4: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 45°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

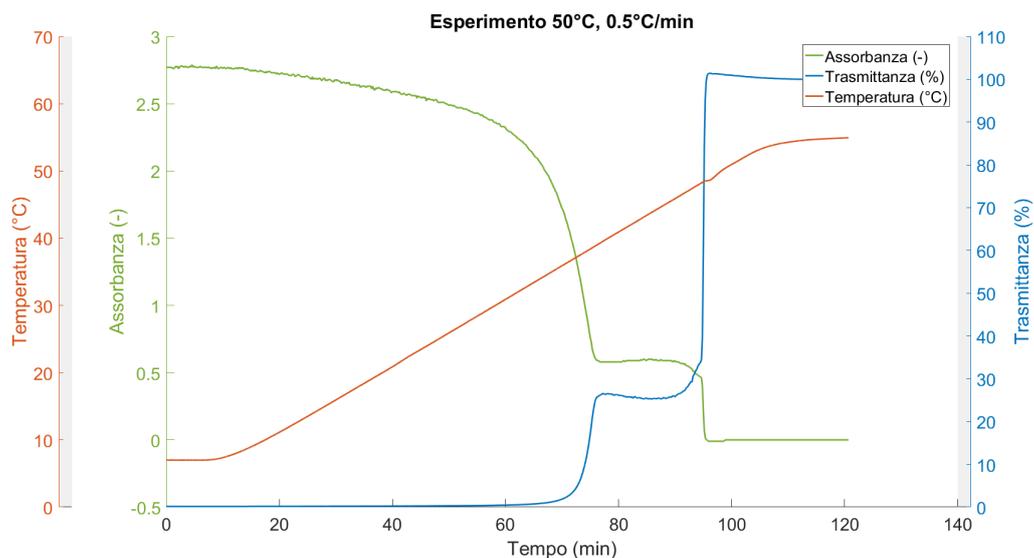


Figura B.5: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 50°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$

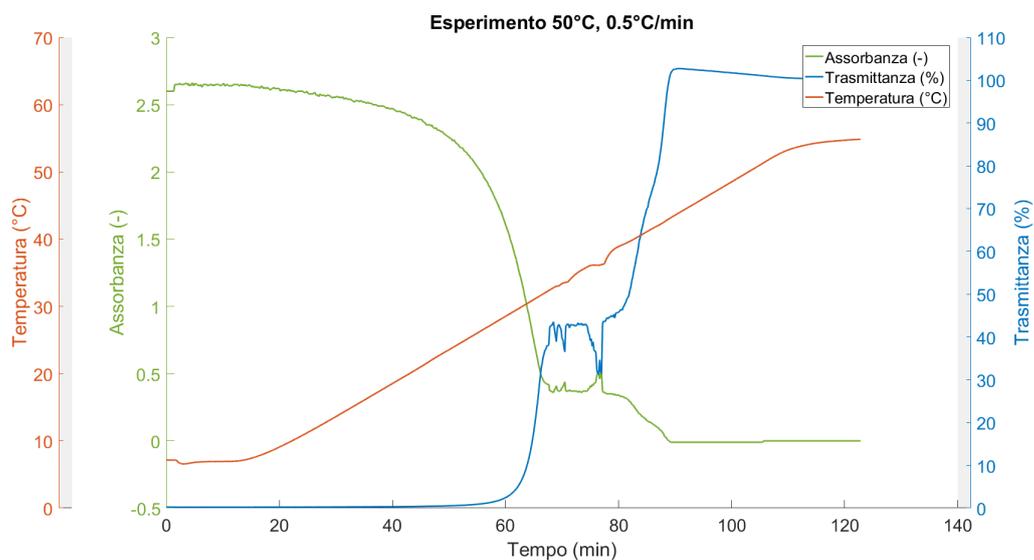


Figura B.6: Esperimento con concentrazione di saturazione del soluto a 50°C e velocità di riscaldamento di $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a seguito dell'esperimento di raffreddamento a $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Appendice C

Grafici distribuzioni di dimensioni

I risultati sono stati processati in Matlab attraverso la funzione `hist3` che ha prodotto dei grafici delle distribuzioni di dimensioni tridimensionali, considerando la frequenza e le dimensioni del lato lungo, chiamato L1, e del lato corto, chiamato L2. Parallelamente sono stati prodotti dei grafici in due dimensioni, rappresentanti i medesimi risultati ma considerando sugli assi solo le dimensioni L1 ed L2, utili per ricevere una visione più diretta.

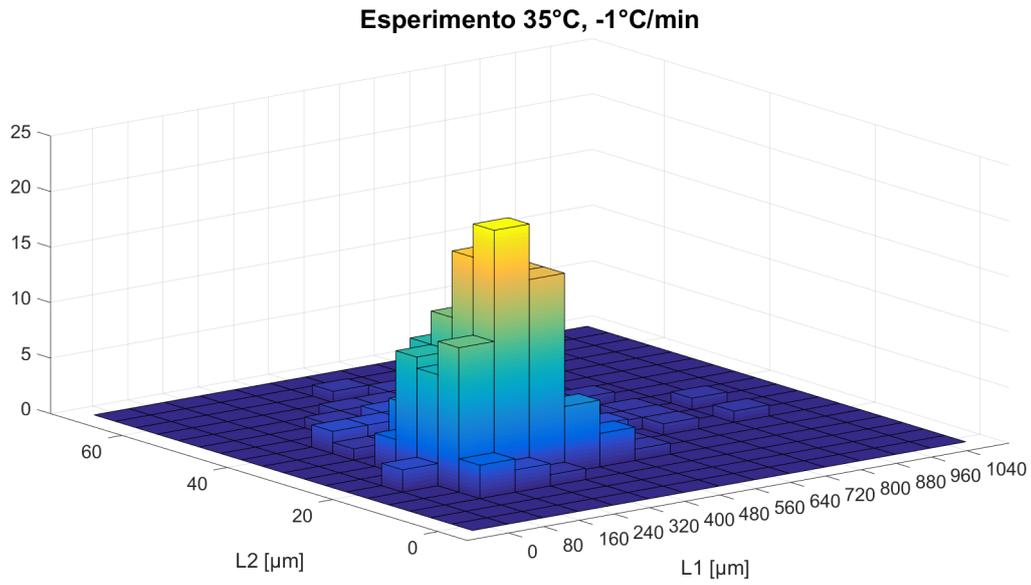


Figura C.1: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

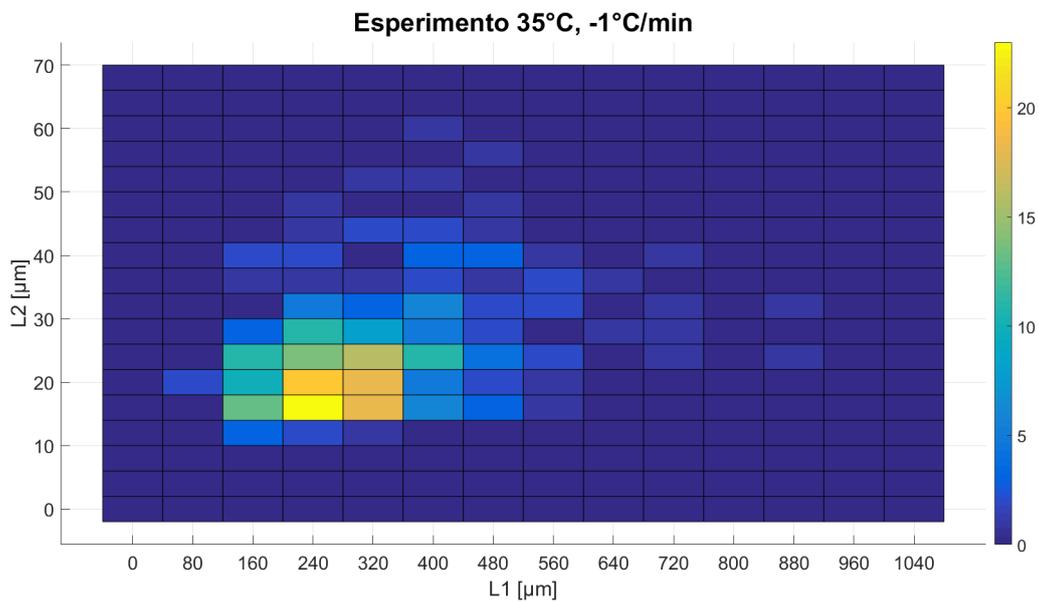


Figura C.2: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

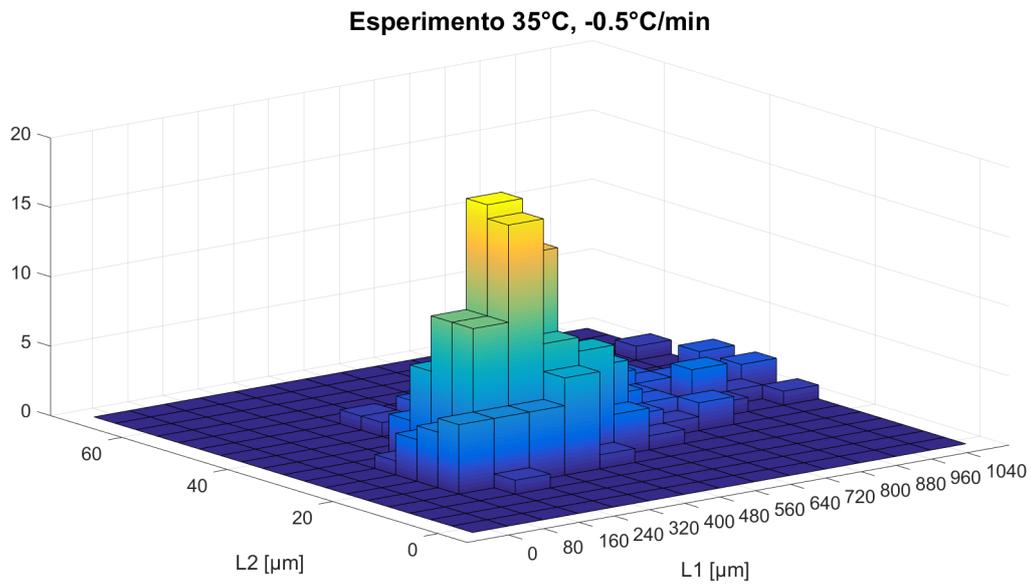


Figura C.3: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

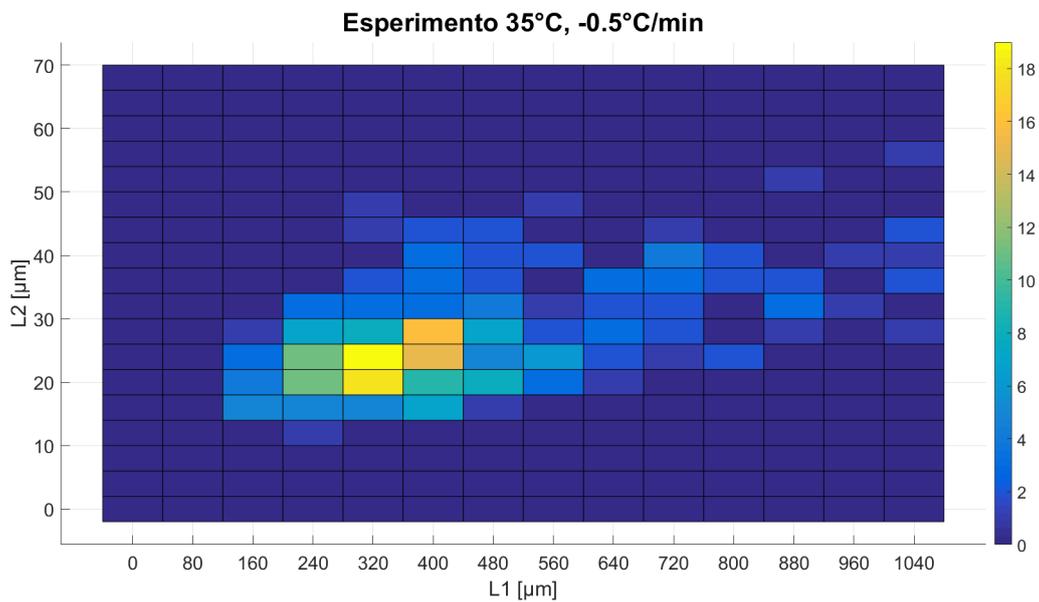


Figura C.4: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $35^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

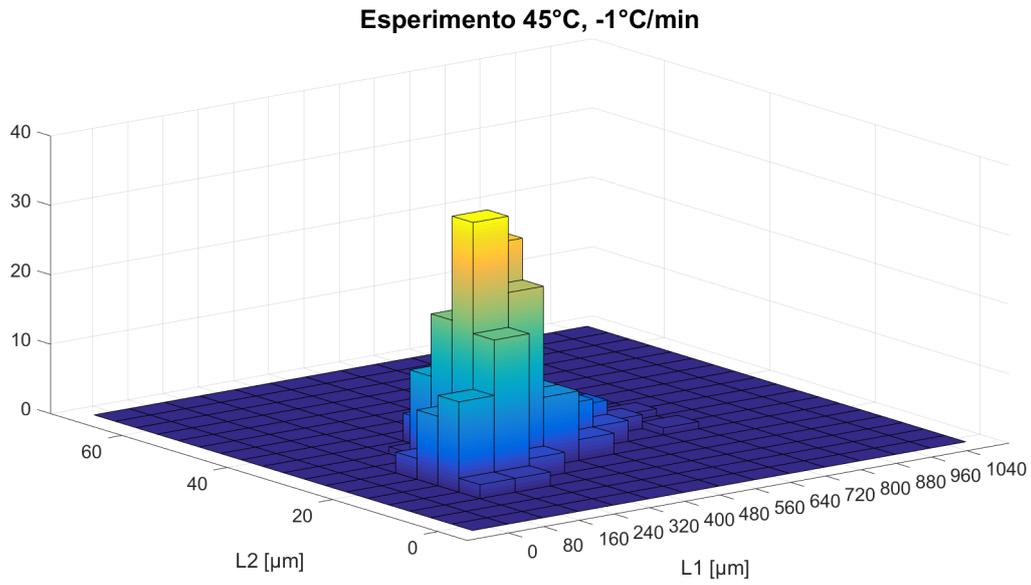


Figura C.5: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

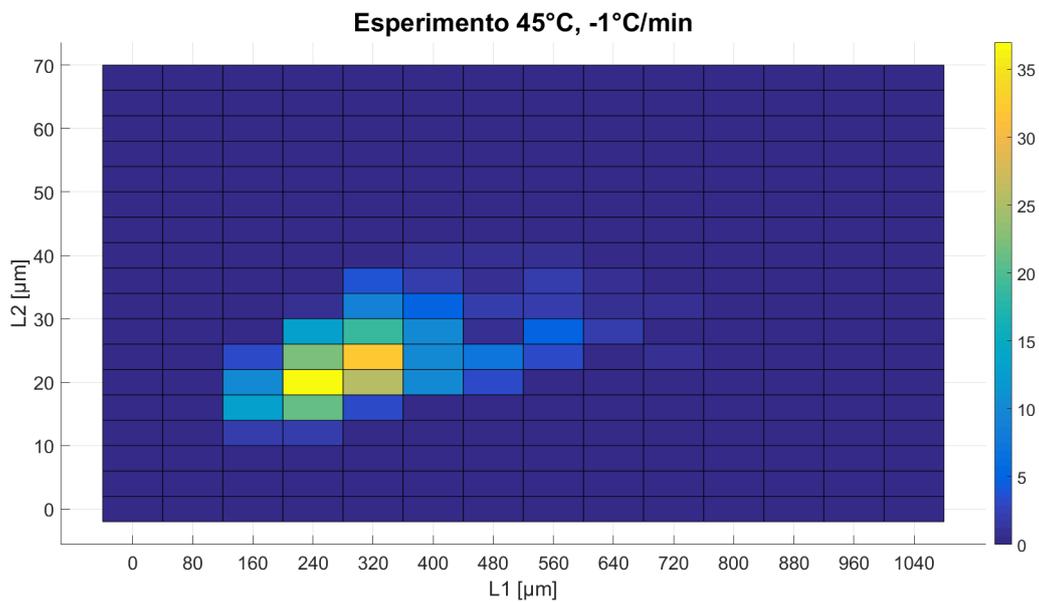


Figura C.6: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

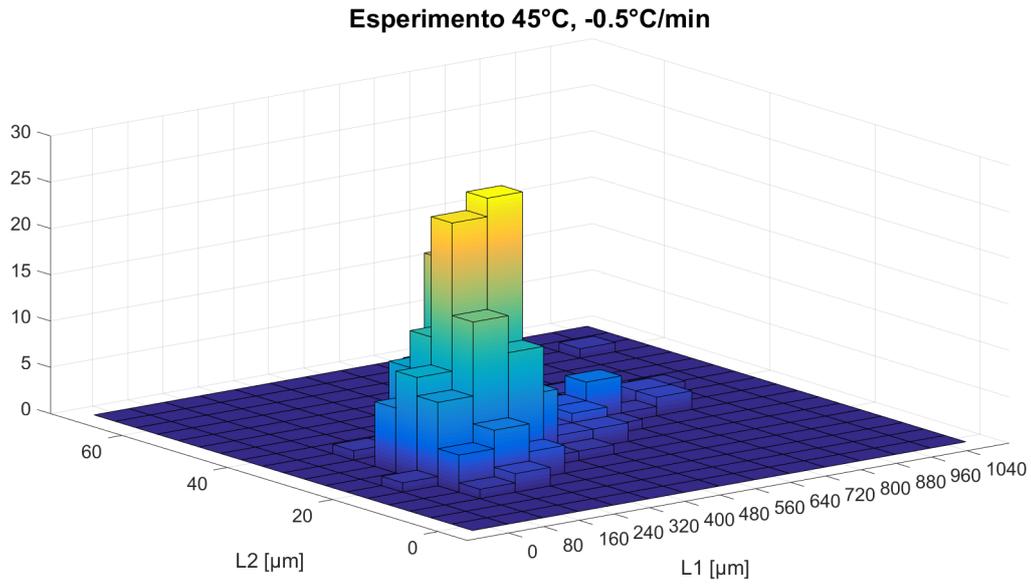


Figura C.7: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

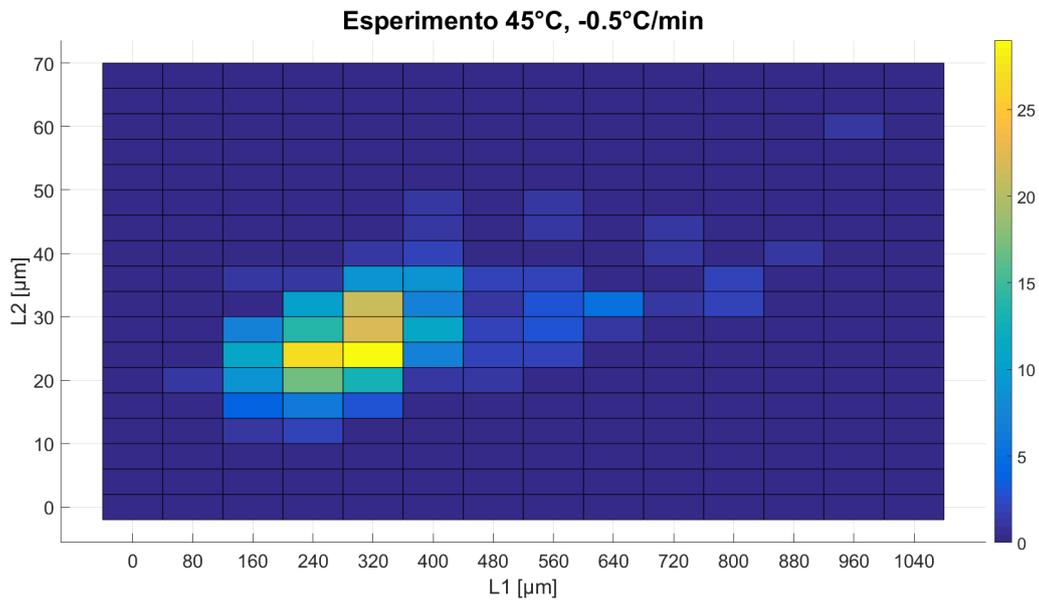


Figura C.8: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $45^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

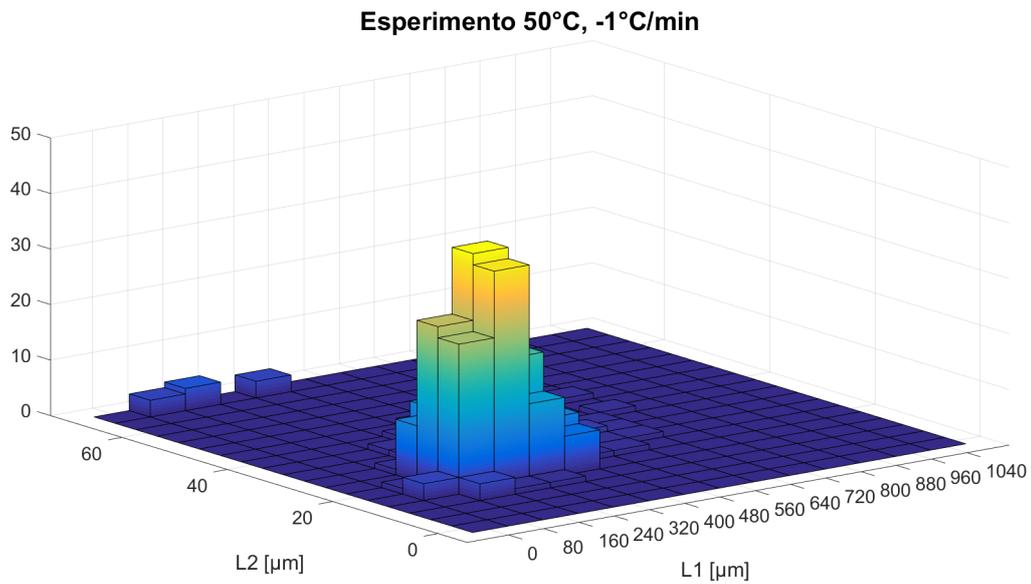


Figura C.9: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

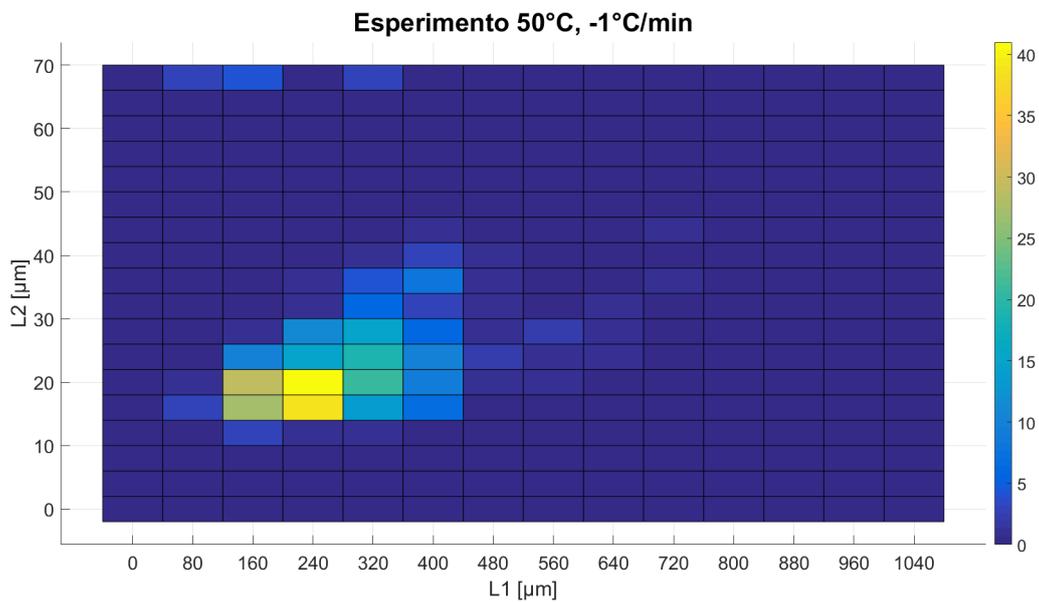


Figura C.10: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-1^{\circ}C/min$

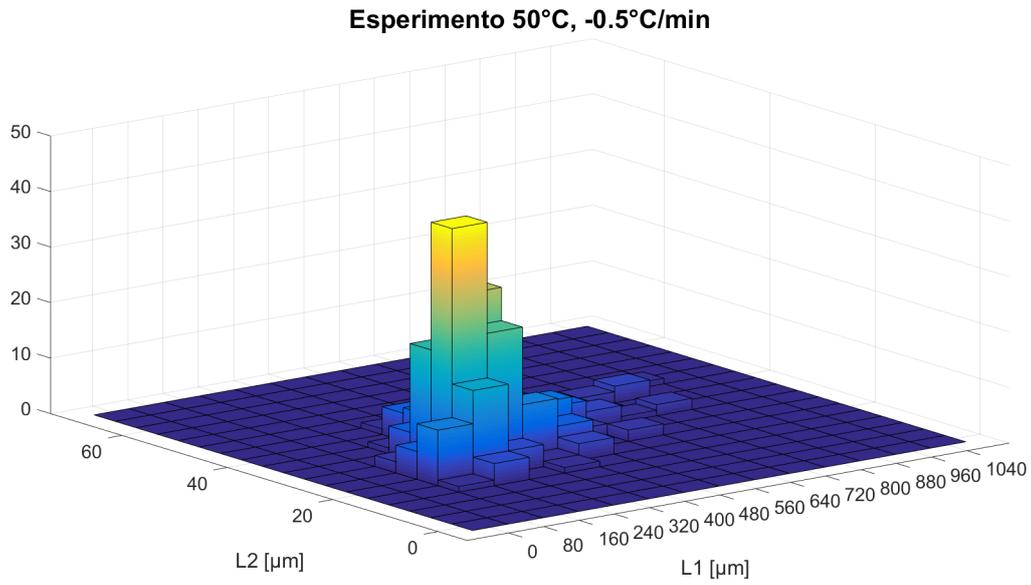


Figura C.11: Distribuzione tridimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

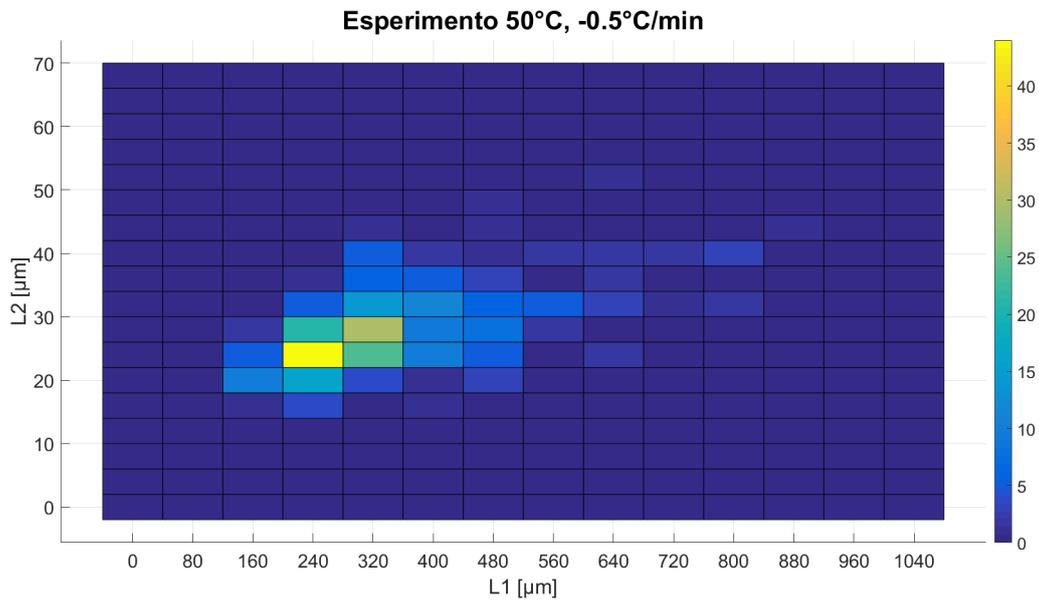


Figura C.12: Distribuzione bidimensionale delle dimensioni, considerati lato lungo ($L1$) e lato corto ($L2$), dei cristalli ottenuti dall'esperimento con concentrazione di saturazione relativa a $50^{\circ}C$ e con velocità di raffreddamento di $-0.5^{\circ}C/min$

Bibliografia

- [1] *Temperatura e solubilità. Influenza della temperatura sulla solubilità di un sale*. 2018. URL: <https://www.chimica-online.it/download/effetto-temperatura-solubilita.htm> (visitato il 10/02/2024) (cit. a p. 4).
- [2] H. Tung, E. L. Paul, M. Midler e J. A. McCauley. *Crystallization of Organic Compounds: An Industrial Perspective*. John Wiley Sons, 2008 (cit. alle pp. 5, 13).
- [3] A.S. Myerson. *Handbook of Industrial Crystallization*. Butterworth-Heinemann, 2002 (cit. alle pp. 6, 8, 10, 11, 18).
- [4] J. H. Harker, J. R. Backhurst e J.F. Richardson. *Chemical Engineering*. Elsevier Science Technology, 2002 (cit. a p. 7).
- [5] D. Friso. *Ingegneria dell'industria agroalimentare. Teoria, applicazioni e dimensionamento delle macchine e impianti per le operazioni unitarie*. CLEUP, 2017 (cit. a p. 14).
- [6] I. V. Markov. *Crystal Growth for Beginners: Fundamentals of Nucleation, Crystal Growth, and Epitaxy*. World Scientific, 2017 (cit. alle pp. 15, 17).
- [7] J. Bernstein. *Polymorphism in Molecular Crystals*. Oxford University Press, 2007 (cit. a p. 18).
- [8] P.T. Cardew. «Ostwald Rule of Stages Myth or Reality?» In: *Crystal Growth & Design* 23(6) (2023), pp. 3958–3969 (cit. alle pp. 19, 20).
- [9] J.W. Mullin. *Crystallization*. Butterworth-Heinemann, 2001 (cit. a p. 20).
- [10] *ISSalute. Vitamina B1 (tiamina)*. 2020. URL: <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/v/vitamina-b1-tiamina> (visitato il 10/02/2024) (cit. a p. 21).

-
- [11] K. Wöstheinrich e P.C. Schmidt. «Polymorphic changes of thiamine hydrochloride during granulation and tableting». In: *Drug Development and Industrial Pharmacy* 27(6) (2001), pp. 481–9 (cit. alle pp. 21–23).
- [12] CCDC - Cambridge Crystallographic Data Centre. THIAMC12. 2004. URL: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=THIAMC12&DatabaseToSearch=Published> (visitato il 10/02/2024) (cit. a p. 22).
- [13] CCDC - Cambridge Crystallographic Data Centre. THIMHC. 1980. URL: <https://www.ccdc.cam.ac.uk/structures/Search?Ccdcid=THIMHC&DatabaseToSearch=Published> (visitato il 10/02/2024) (cit. a p. 22).
- [14] P. Chakravarty, R.T. Berendt, E.J. Munson, V.G. Jr Young, R. Govindarajan e R. Suryanarayanan. «Insights into the dehydration behavior of thiamine hydrochloride (vitamin B1) hydrates: part I». In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99(2) (2010), pp. 816–27 (cit. alle pp. 23, 24).
- [15] P. Chakravarty, R.T. Berendt, E.J. Munson, V.G. Jr Young, R. Govindarajan e R. Suryanarayanan. «Insights into the dehydration behavior of thiamine hydrochloride (vitamin B1) hydrates: part II». In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 99(4) (2010), pp. 1882–95 (cit. a p. 24).
- [16] R.L. Te, U.J. Griesser, K.R. Morris, J.G. Stowell e S.R. Byrn. «Crystal forms of Thiamine hydrochloride (Vitamin B1): New analytical data of a compound with an intriguing solid state history». In: *Crystal Growth & Design* 3 (2003), pp. 997–1004 (cit. a p. 26).
- [17] A. Watanabe, S. Tasaki, Y. Wada e H. Nakamachi. «Polymorphism of thiamine hydrochloride. II. Crystal structure of thiamine hydrochloride hemihydrate and its stability». In: *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 27(11) (1979), pp. 2751–9 (cit. a p. 26).
- [18] G. Bozkurt, I. Atasoy e E.B. Boşdurmaz. «Microwave Optics-Fabry-Perot Michelson Interferometers, Brewster’s Angle, Bragg Diffraction for PHYS374 Experiment Methods of Physics». In: *Microwave Laboratory* (2019) (cit. a p. 28).
- [19] C. Suryanarayana e M. Grant Norton. *X-Ray Diffraction: A Practical Approach*. Springer, 1998 (cit. a p. 28).

- [20] J.R. Ferraro. *Introductory Raman Spectroscopy*. Elsevier Science, 2003 (cit. a p. 29).
- [21] S. Mosca, C. Conti, N. Stone e P. Matousek. «Spatially offset Raman spectroscopy». In: *Nature Reviews Methods Primers* 1(21) (2021) (cit. a p. 30).
- [22] M.S. Amer. *Raman Spectroscopy, Fullerenes and Nanotechnology*. RSC, 2010 (cit. a p. 31).
- [23] *Nikon's MicroscopyU. Polarized Light Microscopy*. 2014. URL: <https://www.microscopyu.com/techniques/polarized-light/polarized-light-microscopy> (visitato il 18/02/2024) (cit. a p. 31).
- [24] *Optek Control 4000 Analizzatori Fotometrici - Informazioni di prodotto* (cit. a p. 32).
- [25] P. Chakravarty e S. Raj. «Characterization and structure analysis of thiamine hydrochloride methanol solvate». In: *Crystal Growth Design* 10(10) (2010), pp. 4414–4420 (cit. alle pp. 54, 55).
- [26] P. Chakravarty, S. Raj e G. Ramprakash. «Phase transformation in thiamine hydrochloride tablets: influence on tablet microstructure, physical properties, and performance». In: *Journal of pharmaceutical sciences* 101(4) (2012), pp. 1410–1422 (cit. alle pp. 56, 57).

Ringraziamenti

Siamo arrivati all'epilogo di questo lavoro di tesi, qui si conclude il mio lungo percorso universitario ed è giunto il momento dei ringraziamenti.

Ringrazio prima di tutto la prof.ssa Simone per avermi seguito e aiutato costantemente durante questi mesi per la realizzazione di questo lavoro, Emmanuele e Cecilia per avermi assistito quotidianamente in laboratorio ed infine Giulia, che oltre ad avermi aiutato con dosi infinite di pazienza, ha alleggerito le mie giornate di duro lavoro con la sua semplicità e la sua simpatia.

Vorrei ora ringraziare le persone che hanno fatto parte, direttamente o indirettamente, di questo percorso e che si sono trasformate da semplici colleghi ad amici. Grazie ai miei compagni del primo anno Davide, Mattia e Luca, che hanno normalizzato le difficoltà iniziali di questo percorso di studi e che sono stati fondamentali per il superamento dei primi scogli.

Grazie ai miei compagni "chimici" conosciuti in triennale, Alessandro, Bill, Francesco, Gabriele e Giancarlo, che oltre ad esser stati un punto di cardine in questo percorso universitario, si sono rivelati anche dei grandi supporti morali in periodi difficili. Le risate per le partite ad Among Us e Rocket League durante il periodo pandemico non saranno mai dimenticate.

Grazie ai miei compagni conosciuti successivamente, Andrea, Arianna, Fabio, Federico, Francesco e Marco, per avermi supportato durante il percorso e per aver alleggerito i weekend tra serate al Der Keller e aperitivi alle Panche. Il record dei 550 resterà sempre nei miei ricordi più belli (al contrario del freddo preso in Santa Giulia, maledetto Marco).

Grazie ai miei amici di sempre, in particolar modo Alessandro, Andrea, Enrico, Riccardo, Elena, Roby, Napo, Valentina, Federico e Verle, che mi accompagnano in questa vita da ormai tanti anni e che sono stati in grado di capire le mie assenze

ed i miei sacrifici.

Un grazie anche a Kaiju (Edoardo), zRaabe (Marco) ed il già menzionato Francesco per le corone conquistate in questi periodi bui ed in generale per le chiacchierate nelle molteplici nottate in party.

Ed ora è il momento di ringraziare le persone più importanti della mia vita. In primis la mia splendida famiglia, in particolar modo mia mamma, che ha sopportato il mio difficile carattere ed i miei numerosi momenti di nervosismo, che mi ha consentito di studiare ed ha permesso il raggiungimento di questo obiettivo.

Mio cugino Daniele, che mi è stato accanto dal momento della mia nascita ed è sempre stato un fratello più che un cugino.

Ad Alice, che mi è sempre stata vicina in ogni momento di debolezza, in ogni mia sconfitta ed in ogni mia vittoria. Parte del merito è anche tuo, che mi hai sopportato e supportato, che mi hai dato quotidianamente la forza di credere in me stesso, che mi hai motivato a dare il meglio di me e che mi hai dato l'amore che ogni persona sogna.

Infine, un grazie a mio papà che avrei voluto fisicamente al mio fianco, per farlo sentire orgoglioso di me tanto quanto io sono fiero di aver avuto un padre come lui. Spero tu possa vivere attraverso me e spero di poter diventare un giorno anche solo un'infinitesima parte dello splendido uomo e padre che sei stato. Mi manchi tanto.