

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

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

Tesi di Laurea Magistrale

**Studio del processo di liofilizzazione di prodotti
farmaceutici tramite micro-liofilizzatore**



Relatore

prof. Davide Fissore

Candidato

Giuseppe Gallo

Novembre 2018

*Alla mia famiglia ed ai miei
amici, per essermi stati
sempre vicini, fino alla fine.*

Indice

Indice.....	1
1 Introduzione.....	1
1.1 Fase di congelamento	2
1.1.1 Nucleazione controllata	4
1.2 Essiccamento primario e secondario	6
1.3 Tecnologie analitiche di processo (PAT)	7
1.4 Innovazioni nel campo della liofilizzazione.....	10
1.4.1 Effetti di bordo.....	13
1.5 Obiettivi della Tesi	14
2 Metodologie e strumenti impiegati	17
2.1 Apparecchiature utilizzate	17
2.2 <i>MicroFD</i>	20
2.3 <i>LyoPat</i> [®]	23
2.3.1 <i>Analyze mode</i>	24
2.3.2 <i>Optimize Mode</i>	27
2.3.3 <i>Pro Mode</i>	30
2.3.4 <i>FreezeBooster</i> [®] e nucleazione controllata.....	30
2.3.5 <i>Manual Mode</i>	32
2.4 <i>LyoSim</i> [®]	33
2.5 Modello matematico monodimensionale.....	34
2.5.1 Coefficiente di scambio termico K_v	35
2.5.2 Coefficiente di resistenza al flusso di vapore R_p	38
3 Prove sperimentali e risultati.....	41
3.1 Preparazione e termine prova.....	43
3.2 Ruolo della temperatura dell'anello <i>LyoSim</i> [®]	45

3.3	Ruolo del numero e posizione delle termocoppie	49
3.4	Ruolo della temperatura del ripiano	54
3.5	Ruolo della pressione	59
3.6	Ruolo della nucleazione controllata	63
3.7	Ruolo della velocità di raffreddamento	67
3.8	Ruolo del flacone utilizzato.....	69
4	Conclusioni.....	73
	Bibliografia.....	76
	Indice delle figure.....	79
	Indice delle tabelle	81
	Notazioni	83

1 - Introduzione

La liofilizzazione è un processo ampiamente adottato nel settore farmaceutico ed alimentare che permette di aumentare la conservabilità di un prodotto grazie alla sua disidratazione. Nello stato solido (liofilizzato) le reazioni di degradazione fisica e/o chimica vengono inibite, o comunque rallentate, risultando in una maggiore stabilità a lungo termine del prodotto (Khairnar et al., 2013). In seguito all'aggiunta di una certa quantità d'acqua, esso riacquista le proprietà farmacologiche o nutritive che possedeva prima del trattamento.

In campo farmaceutico i campioni da liofilizzare sono costituiti in genere da una soluzione acquosa contenente una certa concentrazione del prodotto desiderato, inserita all'interno di flaconi in vetro. Questi vengono disposti in una camera termocontrollata e sterile, dove viene imposto un vuoto spinto che consente all'acqua, preventivamente congelata, di sublimare lasciando il solo prodotto disidratato che, in seguito al trattamento, risulterà occupare lo stesso volume occupato della massa congelata iniziale per via della sua elevata porosità, che viene definita liofilizzato (Guidotti, 2003-2004). Per via delle temperature con cui solitamente si opera questo processo risulta adatto, nonché unico modo, per trattare prodotti termolabili, che rischiano di incorrere in fenomeni degradativi anche a temperature non eccessivamente elevate.

Le qualità finali che deve possedere il prodotto sono:

- Stabilità chimica e biologica per lunghi periodi di conservazione;
- Umidità residua molto bassa (in genere meno dell'1%);
- Alto grado di sterilità;
- Elevata resistenza meccanica della struttura essiccata;
- Eleganza del *cake*, torta essiccata;
- Rapida ricostituzione per aggiunta di solvente (acqua).

Un processo di liofilizzazione consta di tre principali fasi. La prima prevede il congelamento della soluzione costituita dall'acqua e dal prodotto di interesse, a temperature molto inferiori rispetto al punto di fusione, in genere tra -30 e -50°C ,

con passaggio dell'acqua dalla fase liquida a quella solida. La seconda fase consiste nella rimozione dell'acqua tramite sublimazione, ottenuta a temperature più elevate, fornendo continuamente calore poiché il fenomeno è endotermico, e pressioni notevolmente ridotte, in modo da consentire il passaggio diretto dallo stato solido a quello vapore. Infine, nella terza ed ultima fase la temperatura viene ulteriormente aumentata in modo da garantire il desorbimento di quella frazione residua di umidità rimasta legata chimicamente al prodotto.

Per capire meglio i principi fisici che stanno alla base del processo bisogna analizzare il diagramma di stato dell'acqua, in Figura 1.1, dove si distinguono i tre stati fondamentali (solido, liquido e vapore) in cui essa può trovarsi e le curve che delimitano le rispettive zone di stabilità. La freccia più in alto (1) definisce lo step di congelamento, in cui l'acqua passa dallo stato liquido a quello solido ad una certa pressione e temperatura, purché al di sopra del punto triplo del diagramma. La freccia inferiore (2), invece, rappresenta lo step di essiccamento successivo al completo congelamento della soluzione, dove l'acqua passa direttamente dallo stato solido a quello vapore tramite sublimazione.

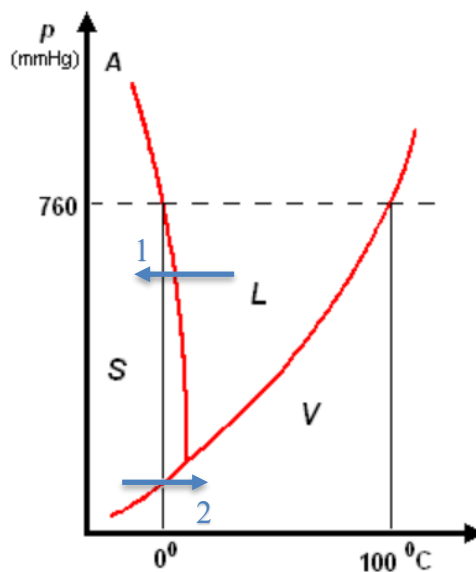


Figura 1.1: Diagramma di stato termodinamico dell'acqua (immagine da Guidotti, 2003-2004, modificata)

1.1 Fase di congelamento

Durante questo primo step la temperatura della soluzione acquosa viene notevolmente ridotta finché non avviene il fenomeno della nucleazione dei cristalli di

ghiaccio, che causerà un aumento improvviso della temperatura interna fino al punto di congelamento (circa 0°C), per poi diminuire nuovamente, una volta completato il fenomeno, a temperature tali da garantire una completa solidificazione della soluzione. La nucleazione è regolata dalla diffusione browniana, casuale, che porta all'aggregazione delle molecole a formare delle strutture cristalline; è un fenomeno stocastico e, pertanto, maggiore è il numero di molecole presenti in soluzione, maggiore sarà la possibilità di formare i cristalli (Auffret, 2010). Una volta che la nucleazione è avvenuta, si ha l'effettivo congelamento della soluzione, con la crescita dei cristalli nel tempo, i quali avranno la possibilità di espandersi in ogni direzione in maniera ugualmente casuale. Le caratteristiche del prodotto liofilizzato sono fortemente influenzate dalla formazione dei cristalli di ghiaccio durante il congelamento, pertanto la comprensione ed il controllo di tale fenomeno risulta essere un elemento chiave per assicurare la qualità del prodotto finale e l'efficienza del processo (Malik et al., 2017).

Il principale ostacolo che si riscontra nello studio è proprio la natura stocastica della nucleazione. Ogni soluzione contenuta nei diversi flaconi nuclea a tempi e temperature differenti, generalmente tra i -10 ed i -20°C, ma a distanza anche di un'ora l'una dall'altra, risultando in una disomogeneità complessiva del lotto ed in una distribuzione non uniforme per quanto riguarda la dimensione dei cristalli di ghiaccio. Come conseguenza di ciò si otterranno diverse velocità di essiccaamento, dovute alle diverse dimensioni dei pori generati, diverse aree specifiche e, infine, si avranno diverse storie termiche che impartiranno diverse proprietà al prodotto finale (Siew, 2013).

Generalmente, temperature di raffreddamento più elevate favoriscono maggiormente la crescita rispetto alla nucleazione: ciò porta ad avere un piccolo numero di cristalli ma di grandi dimensioni, risultando in una migliore connessione del *cake* e garantendo una minor resistenza alla sublimazione. Temperature inferiori, invece, favoriscono prevalentemente la nucleazione: si avrà pertanto un cospicuo numero di cristalli di ghiaccio, seppur di dimensioni ridotte. Nonostante l'elevata area specifica risultante, questa configurazione contribuisce al rallentamento del fenomeno di sublimazione (Auffret, 2010). La temperatura del prodotto deve comunque mantenersi al di sotto di una certa soglia critica per evitare la sua denaturazione o il collasso della sua struttura cristallina (Fissore, 2013),

corrispondente alla temperatura di collasso per una sostanza amorfa o alla temperatura eutettica per una sostanza cristallina (Nireesha et al., 2013). La conoscenza di tali temperature risulta essere indispensabile per l'ottimizzazione del ciclo di liofilizzazione, ed è quindi necessario determinarle preliminarmente, tramite calorimetria differenziale a scansione (DSC) o altri metodi di scansione termica (Verdonck et al., 1999).

1.1.1 Nucleazione controllata

Solamente in tempi recenti la ricerca scientifica sta lavorando sull'ottimizzazione del processo di liofilizzazione, agendo direttamente sul fenomeno di nucleazione e conseguente formazione di una struttura dei cristalli ben definita, la chiave per ottenere un ciclo efficiente ed un liofilizzato dalle proprietà ottimali. Una delle pratiche solitamente adottate consiste nell'*annealing*: successivamente al congelamento della soluzione, si aumenta la temperatura fino ad un valore poco sotto il punto di fusione (ad esempio -2°C) e viene mantenuto tale valore per diverse ore, con lo scopo di far fondere i cristalli di ghiaccio più piccoli precedentemente formati, e far crescere la dimensione di quelli più grandi producendo una struttura finale più stabile. Il prodotto viene nuovamente raffreddato alle temperature standard della fase di congelamento, tra i -40 ed i -50°C . L'effetto risultante da questo metodo è la formazione di pori più grandi dei precedenti, i quali agevolano il passaggio del vapore durante la fase di sublimazione, garantendo una minor resistenza al flusso e, quindi, tempi di essiccamento ridotti (Patapoff & Overcashier, 2002). Nonostante ciò, è necessario del tempo aggiuntivo per effettuare tale trattamento, andando ad inficiare il guadagno ottenuto nell'essiccamento e, inoltre, viene a mancare comunque una temperatura di nucleazione uniforme tra i flaconi: può infatti solamente migliorare una condizione strutturale precedente imperfetta (Chakravarty et al., 2012)

Le tecniche basate sulla nucleazione controllata risultano essere più efficienti da questo punto di vista. Queste consistono nel sottoraffreddare l'intero lotto ad una data temperatura, che sia al di sotto del punto di congelamento, ma al di sopra della temperatura alla quale avverrebbe la nucleazione spontaneamente, quindi in genere si opta per un valore compreso nell'intervallo tra -5 e -10°C . In seguito, la soluzione viene nucleata con i cristalli di ghiaccio (Siew, 2013).

Altri metodi per ottenere la nucleazione controllata in una soluzione liquida in scala di laboratorio sono, ad esempio, la tecnica *ice-fog* e la tecnica di depressurizzazione. La prima si basa sulla formazione di microscopici cristalli di ghiaccio, distribuiti come una nebbia di particelle che, inserite nella camera di liofilizzazione alla temperatura a cui si vuole far avvenire la nucleazione e ad una pressione attorno ai 50 Torr, agiscono da agenti nucleanti all'interno dei flaconi, scatenando il fenomeno (Thomas, 2011).

Ad esempio, Thompson et al., hanno sviluppato e brevettato la tecnologia del *FreezeBooster*[®] basata sulla nucleazione controllata tramite *ice fog*. Questa procedura, accoppiata al controllo del flusso termico post-nucleazione, ha consentito un notevole miglioramento del processo, permettendo la formazione di una struttura cristallina del ghiaccio uniforme. Ciò ha portato inevitabilmente ad un prodotto liofilizzato molto più uniforme e ad una drastica riduzione della durata di essiccamento (Thompson T. N., 2013). Vi è anche la tecnologia *VERISEQ*[®], sviluppata da Linde Gases, in collaborazione con IMA Life North America, che offre una valida alternativa per la formazione dell'*ice fog*. Attraverso questo metodo, infatti, i microscopici cristalli di ghiaccio vengono generati dalla miscelazione di azoto freddo (prodotto da un flusso d'azoto sterile e filtrato, a partire da gas liquefatto) e vapore caldo, che avviene in una camera esterna al liofilizzatore. Questi cristalli vengono, in seguito, inviati all'interno dei flaconi, causando una nucleazione rapida ed uniforme del prodotto (Wexler & Brower, 2015).

Per quanto riguarda invece la tecnica della depressurizzazione, Praxair ha sviluppato la tecnologia *ControlLyo*[®], grazie alla quale si può fare avvenire la nucleazione controllata dopo aver portato il prodotto alla temperatura desiderata nell'intervallo tra -5 e -10°C e ad una pressione superiore a quella atmosferica. In queste condizioni la pressione in eccesso viene rilasciata in pochi secondi, provocando la formazione dei cristalli di ghiaccio sulla superficie della soluzione che si espanderanno in tutto il volume in breve tempo (Thomas, 2011). Questo metodo consente di ottenere una cospicua riduzione del tempo di ciclo ed un miglioramento della qualità del prodotto finale. Inoltre, la camera risulta essere più calda rispetto al caso in cui si applica una tecnica *ice-fog*, e ciò produce un risparmio energetico non indifferente (Siew, 2013).

1.2 Essiccamento primario e secondario

A seguire la fase di congelamento avviene quello che è denominato essiccamento primario o *primary drying*, corrispondente al nucleo del processo di liofilizzazione, durante il quale la temperatura del ripiano viene aumentata gradualmente fino ad un valore desiderato, in genere tra i -40 ed i -10°C , che viene mantenuto costante fino al termine di questa fase. Qui, il ghiaccio presente all'interno dei flaconi viene fatto sublimare, grazie alla pompa da vuoto che crea una differenza di pressione tale da favorire il processo, come schematizzato in Figura 1.2, finché tutto il contenuto d'acqua non viene eliminato, ottenendo un prodotto solido il più possibile puro e disidratato.

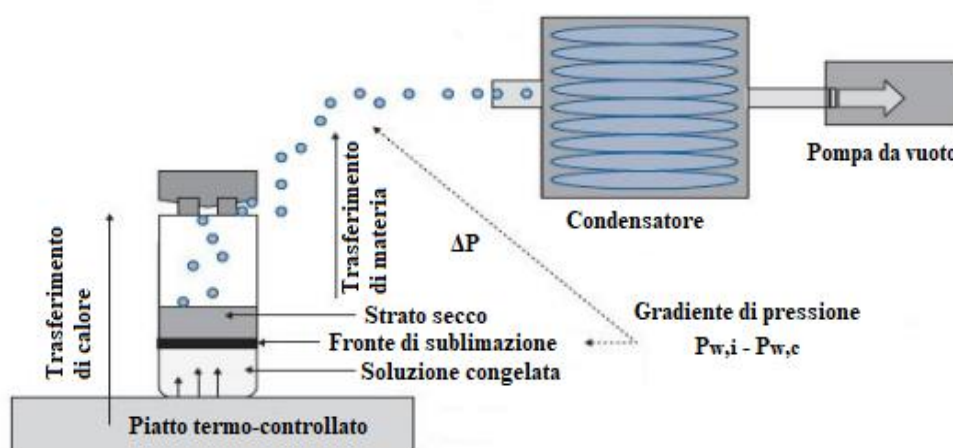


Figura 1.2: Rappresentazione schematica dello scambio di calore e di materia nel liofilizzatore (immagine tratta da Khairnar & al., 2013, modificata)

La rimozione d'acqua non è però completa, poiché parte di essa si lega alle particelle di prodotto presente in soluzione: pertanto, in seguito all'essiccamento primario, vi sarà una percentuale di umidità residua indesiderata. Per tal motivo si fa seguire alla fase di essiccamento primario una fase denominata essiccamento secondario, o *secondary drying*, dove la temperatura a cui viene mantenuta la camera è più elevata, circa $20-40^{\circ}\text{C}$, accelerando il desorbimento dell'acqua legata, al fine di ottenere il valore desiderato di umidità residua (Pisano, Fissore, & Barresi, 2011), (Fissore, 2013).

Durante queste operazioni bisogna tenere conto di due importanti vincoli. Il primo prevede che la temperatura del prodotto si mantenga al di sotto di un certo valore limite. Per quanto riguarda un prodotto che cristallizza, tale limite è costituito dalla

temperatura eutettica, in modo da evitare la comparsa della fase liquida; per un prodotto amorfo, invece, la temperatura limite è quella di collasso del *cake*, che causa un peggioramento del fenomeno di sublimazione e, quindi, ad un maggior contenuto d'acqua nel prodotto finale. Il secondo vincolo riguarda la velocità di produzione del vapore che deve essere compatibile con la capacità del condensatore, poiché, se questo non riesce a smaltirlo adeguatamente, si avrà un accumulo di vapore in camera con conseguente aumento di pressione (Fissore, Pisano, & Barresi, 2018).

I due step di essiccamento sono fortemente dipendenti dal grado di sottoraffreddamento (ovvero la temperatura, al di sotto del punto di equilibrio, che il prodotto raggiunge prima della formazione dei cristalli di ghiaccio) e dalla velocità di cristallizzazione del ghiaccio (Khairnar et al., 2013), poiché, in base alla dimensione dei cristalli formati, si avranno benefici per quanto riguarda la loro durata. Grandi cristalli portano ad avere un *cake* molto poroso e favoriscono, quindi, il processo di sublimazione, consentendo al vapore di fuoriuscire con maggior facilità e comportando una minor durata del *primary drying*. Piccoli cristalli, invece, permettono di avere un'elevata superficie di scambio che favorisce il desorbimento dell'acqua legata al prodotto, e ciò risulta in una minor durata del *secondary drying* (Fissore, 2013). Una velocità di congelamento dell'ordine di 1°C/min risulta essere un buon compromesso per ottenere un'area superficiale di ghiaccio moderata e un congelamento ragionevolmente rapido, oltre che una struttura del ghiaccio uniforme all'interno dei flaconi (Tang & Pikal, 2004).

I fattori principali da considerare per l'ottimizzazione del ciclo di essiccamento includono la velocità di raffreddamento iniziale e di congelamento, volti alla formazione di un *cake* ben omogeneo, gli effetti della nucleazione controllata, o ancora l'accoppiamento di temperatura del ripiano e di pressione in camera che permetta di ottenere la temperatura del prodotto desiderata (Hardwick, Paunicka, & Akers, 2008).

1.3 Tecnologie analitiche di processo (PAT)

Numerosi sono i parametri da tenere sotto controllo per avere un efficiente ciclo di liofilizzazione che permetta di ottenere il prodotto dalle caratteristiche desiderate. In passato, questi parametri erano stimati in seguito ad un elevato numero di tentativi

sperimentali, valutando la qualità del prodotto al termine di ogni ciclo e cercando di valutare quando si ottenevano condizioni ottimali. Ciò, naturalmente, produceva un grande dispendio di risorse e di tempo. Da qui la decisione nel 2004 della *US Food and Drug Administration* di introdurre, nelle industrie di processo, i cosiddetti PAT, strumenti di controllo, monitoraggio ed analisi di sistemi di produzione, con lo scopo principale di assicurare ottime qualità ai prodotti (Fissore, 2017).

A questi strumenti vengono accoppiati modelli matematici per predire il comportamento del sistema in funzione delle diverse condizioni operative. Diversi modelli sono stati proposti negli ultimi anni: alcuni di questi, multidimensionali e con un numero elevato di variabili, risultano essere molto complessi da applicare e richiedono molto tempo per ottenere una soluzione, analitica o numerica, considerando inoltre che molti dei parametri sono ignoti o, comunque, ricavabili con grande incertezza. Vengono preferiti, invece, modelli matematici monodimensionali, come quello proposto da Velardi e Barresi nel 2008: si tratta di un modello basato sul bilancio di energia nello strato congelato e sul bilancio di massa del vapor d'acqua nello strato secco, entrambi considerati allo stato pseudo-stazionario per via della dinamica del processo molto lenta (Giordano et al., 2011).

È quindi necessario conoscere i valori del flusso di materia dall'interfaccia di sublimazione alla camera di liofilizzazione, e il flusso termico scambiato con il prodotto (Bosca et al., 2013). Il primo sarà strettamente legato al gradiente di pressione parziale di acqua tra l'interfaccia e la camera dal parametro R_p , coefficiente di resistenza del *cake* al flusso di vapore, il quale è funzione dello spessore dello strato secco (*L_{dried}*), mentre il secondo è legato al gradiente di temperatura tra il fluido riscaldante ed il prodotto dal parametro K_v , coefficiente globale di scambio termico, dipendente a sua volta dalla pressione della camera. La conoscenza di entrambi i parametri risulta di primaria importanza per la risoluzione dei modelli matematici che descrivono la dinamica del processo e, quindi, dell'ottimizzazione del processo di liofilizzazione.

Fissore, 2017, fornisce alla letteratura scientifica uno stato dell'arte ben definito su molti dei PAT esistenti, che tengono conto della misura della temperatura del prodotto o della pressione in camera o del flusso di sublimazione, descrivendo in maniera esaustiva i pro ed i contro di ognuno di essi, attraverso diverse ricerche e studi sperimentali.

Per quanto riguarda quelli riferiti al monitoraggio della temperatura, si passa da strumenti più semplici come le termocoppie, usate preferenzialmente in piccoli sistemi di laboratorio, o i rilevatori di resistenza termica (RTDs), più congeniali per sistemi industriali essendo di maggiori dimensioni e maggiore robustezza, a strumenti più elaborati come i sensori a fibra ottica (OFSs) o i sensori TEMPRIS (dispositivi wireless che ricevono energia da un campo elettromagnetico), che risultano meno invasivi dei precedenti. Per la loro semplicità e versatilità di utilizzo, oltre che per il loro basso costo, le termocoppie sono lo strumento più utilizzato per la misura ed il monitoraggio della temperatura del prodotto: queste vengono disposte all'interno dei flaconi contenenti la soluzione da liofilizzare, in posizione centrate ed in modo tale da rilevare la temperatura sul fondo, con la possibilità di monitorare una o più flaconi all'interno della camera.

Bisogna comunque tenere in considerazione che la presenza di questi strumenti aggiuntivi inseriti influisce in qualche modo sul processo di liofilizzazione. I sensori inseriti direttamente nei flaconi contenenti il prodotto, ad esempio, possono compromettere la sterilità del sistema, oppure influenzare il processo di nucleazione e di crescita dei cristalli di ghiaccio, alterando la struttura del *cake* generato in questi flaconi rispetto a quelli non monitorati e, conseguentemente, la velocità di sublimazione (Fissore, 2017). Bosca et al. hanno dimostrato, quantomeno in scala di laboratorio, che questo effetto di alterazione tra i flaconi monitorati e quelli non monitorati, risulta essere praticamente trascurabile (Bosca et al., 2013).

Altri dispositivi per il monitoraggio sono basati sulla misura dell'aumento di pressione in camera. Durante questi test, definiti PRT (*Pressure Rise Test*), della durata limitata a 10-30 secondi, la camera di liofilizzazione è isolata dal condensatore chiudendo la valvola posizionata nel condotto che collega le due parti. L'accumulo di vapore in camera genera un innalzamento di pressione, di cui un esempio in Figura 1.3, e, conseguentemente, un aumento della temperatura del prodotto. Dopo aver effettuato un certo numero di test, tramite il modello matematico è possibile ricavare l'andamento del sistema ed i parametri del modello (K_v ed R_p), cercando il miglior accordo tra i valori misurati durante il test e quelli calcolati col modello (Fissore et al., 2018).

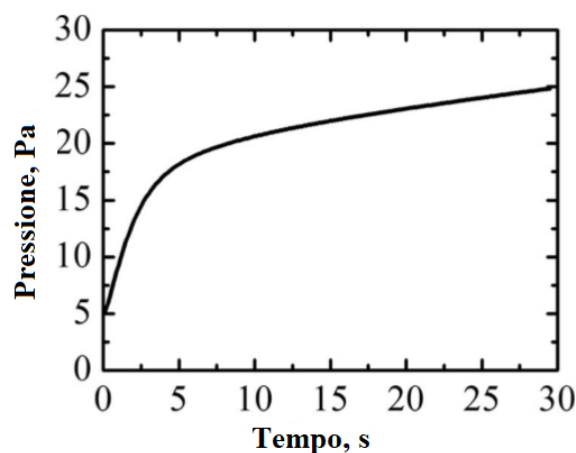


Figura 1.3: Esempio di curva generata dal PRT durante la liofilizzazione di una soluzione di saccarosio 5% w/w, dopo 3 ore di essiccamento a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 10 Pa (immagine tratta da Fissore et al., 2018, modificata)

Infine, un'ultima tipologia di PAT è basata sulla misura del flusso di sublimazione. Il funzionamento di base per questi dispositivi è il monitoraggio della velocità del vapore in uscita dalla camera durante la fase di essiccamento, da cui si ricava il flusso di materia J_w ; da questo è possibile calcolare direttamente i parametri del modello K_v ed R_p , purché sia nota la temperatura del prodotto, che deve essere misurata indipendentemente, tramite altri sensori. Uno dei dispositivi più usati, che fa uso di questa metodologia, è il TDLAS, usando il quale sono stati effettuati numerosi esperimenti in letteratura. Esso è uno spettroscopio di assorbimento ad infrarossi che misura la concentrazione di vapor d'acqua nel gas e la sua velocità nel condotto che collega la camera di liofilizzazione al condensatore. Sulla base del profilo di velocità viene in seguito calcolato il flusso di vapore. Il principale svantaggio di questo sensore è dovuto alla sua difficoltà di calibrazione, inoltre non sempre è possibile da installare nel liofilizzatore (Fissore, 2017).

1.4 Innovazioni nel campo della liofilizzazione

La durata complessiva dell'intero processo è in genere molto lunga, da alcune ore fino addirittura a settimane, e ciò comporta un enorme svantaggio sia dal punto di vista produttivo che economico, soprattutto in fase sperimentale, qualora si stia ad esempio sviluppando il processo per un composto farmaceutico. Inoltre, al di là dei costi per il funzionamento del liofilizzatore, i prodotti generalmente utilizzati,

soprattutto nel settore farmaceutico, risultano molto costosi, e ciò rappresenta un costo non trascurabile, soprattutto nella fase di sviluppo del processo. Di recente, nuove tecnologie sono state sviluppate e collaudate per far sì che tali sperimentazioni possano essere eseguite con il minor consumo di risorse e ad una durata considerevolmente ridotta, pur mantenendo, per quanto possibile, inalterati i parametri del processo e la qualità del prodotto ottenuto.

Una metodologia estremamente efficace per giungere a tale obiettivo, ad esempio, è quella adottata da Obeidat et al. nel 2017, i quali hanno progettato un mini-liofilizzatore, un prototipo definito *MiniFD*, ovvero un'apparecchiatura in grado di far avvenire il processo in una camera molto più piccola di quella usata industrialmente, o a scala di laboratorio, con una capacità di carico notevolmente inferiore (7 flaconi), cercando però di mantenere le caratteristiche di scambio termico simili a quelle che si otterrebbero in un liofilizzatore più grande, per via dei cosiddetti “effetti di bordo”. Sono stati valutati i parametri principali del processo, come il coefficiente di scambio termico K_v , e confrontati con quelli ottenuti nei liofilizzatori industriali, il *LyoStar II* e *III*, nelle medesime condizioni operative, utilizzando come soluzione prima una al 5% di saccarosio, poi una al 5% di mannitolo. Il coefficiente di scambio K_v è stato calcolato con il metodo gravimetrico dopo 5 ore di essiccamento primario svolto alla temperatura di -20°C e ad una pressione in camera di 8 Pa. Un primo test è stato portato avanti impostando una temperatura delle pareti pari a -16°C , per simulare il comportamento dei flaconi esterni del *LyoStar*, un secondo con una temperatura delle pareti a -33°C , in modo da simulare i flaconi centrali del *LyoStar*. I risultati mostrano che in entrambi i test il *MiniFD* riesce ad emulare quasi perfettamente le condizioni di scambio termico che si avrebbero in liofilizzatori molto più grandi, semplicemente controllando la temperatura delle pareti.

La novità di questo prototipo di liofilizzatore è data dal numero ridotto di flaconi, il quale fa sì che la maggior parte di essi si trovi sul bordo del ripiano, rispetto al caso di un liofilizzatore industriale in cui i flaconi posizionati al centro sono decisamente superiori in numero. Il vantaggio di avere più flaconi al bordo è che essi presentano un coefficiente di trasferimento di calore più elevato rispetto a quelli al centro, risultando in temperature del prodotto maggiori e, di conseguenza, in tempi di essiccamento minori (Obeidat et al., 2017). Pertanto, utilizzando una configurazione

di questo tipo (numero ridotto di flaconi e pareti della camera termo-controllate), si è dimostrato che è possibile riprodurre il comportamento di sistemi in scala industriale, sviluppando cicli di liofilizzazione con una quantità notevolmente inferiore di prodotto.

Al pari del *MiniFD*, un'altra importante tecnologia nel campo dei liofilizzatori da laboratorio è stata ideata dalla Millrock Technology, azienda americana operante nel campo della liofilizzazione di prodotti farmaceutici, che si occupa della produzione e distribuzione di liofilizzatori. Thompson et al. hanno infatti progettato e brevettato un micro-liofilizzatore, denominato *MicroFD*, con cui poter effettuare prove sperimentali con un minor quantitativo di risorse e di tempo. L'obiettivo che si sono proposti è stato quello di sviluppare una tecnologia in grado di mantenere la stessa "storia termica" nel passaggio dalla scala di laboratorio a quella commerciale (Thompson et al., 2017), utilizzando un quantitativo estremamente minore di prodotto.

La novità proposta da questa apparecchiatura in particolare consiste nell'utilizzo di un anello termo-controllato, chiamato *LyoSim*[®], che circonda la camera, influenzando sullo scambio termico dei flaconi con cui entra a contatto, ovvero i flaconi di bordo, simulando il comportamento di un ulteriore fila di flaconi in cui la sublimazione ha luogo, i quali agiscono da sorgenti di calore. La temperatura di tale anello è calibrata sulla base della temperatura media del prodotto, monitorato in tempo reale tramite apposite termocoppie. Gli esperimenti eseguiti si sono basati sul confronto tra il coefficiente di scambio termico K_v misurato nel *MicroFD* dal sensore termico *AccuFlux*[®], tecnologia innovativa brevettata dall'azienda che rileva il flusso termico proveniente dal ripiano, e quello gravimetrico misurato nel liofilizzatore *REVO*, progettato ancora una volta dalla Millrock Technology, che ospita un numero decisamente superiore di flaconi. I risultati di queste prove hanno dimostrato che, a parità di condizioni operative, si possono ottenere storie termiche molto simili e, conseguentemente, parametri di processo equivalenti per i due casi, semplicemente variando la temperatura dell'anello *LyoSim*[®] nel *MicroFD*.

Un'altra serie di esperimenti svolti utilizzando solamente il *MicroFD* si sono concentrati sul confronto tra il K_v misurato dall'*AccuFlux*[®] e quello gravimetrico, portando alla conclusione che il sensore così progettato è in grado di stimare esattamente il coefficiente ottenuto dalla pesatura dei campioni prima e dopo il ciclo

di liofilizzazione (Thompson et al., 2017); in questo modo è possibile ridurre notevolmente non solo il tempo impiegato dall'operatore nello svolgere tale lavoro, ma anche di ridurre a valori praticamente trascurabili gli errori dovuti all'elevato numero di misurazioni manuali.

1.4.1 Effetti di bordo

Il problema dei cosiddetti “effetti di bordo” è diventato, negli ultimi tempi, uno dei principali ambiti di studio nel campo della liofilizzazione, poiché da essi dipendono alcuni aspetti importanti del processo, primo fra tutti la temperatura massima che si ottiene nel lotto di flaconi processato. Diversi studi sono stati realizzati per comprendere il ruolo giocato da ogni elemento della camera per quanto riguarda gli effetti di bordo. Nel 2017 Scutellà et al. hanno infatti avvalorato l'idea per cui tali effetti influenzano il trasferimento di calore nei flaconi portando ad una disuniformità tra quelli posizionati sul bordo e quelli centrali. Risulta, infatti, che la temperatura media del prodotto è più elevata nei flaconi di bordo rispetto agli adiacenti flaconi per via del fatto che questi vengono riscaldati sia dal ripiano che, principalmente, dalle pareti. Questo effetto di riscaldamento aggiuntivo generato viene però smorzato allontanandosi da queste fonti. La prima fila di flaconi adiacenti a quelli di bordo risulta infatti poco influenzata dall'irraggiamento dalle pareti; in quelle centrali è quasi completamente assente. Il vantaggio fornito da micro-liofilizzatori come il *MicroFD*, accoppiato all'utilizzo dell'anello *LyoSim*[®], è proprio quello di eliminare gli effetti di bordo, simulando il comportamento dei flaconi centrali per tutti i flaconi del lotto, creando un ambiente tale da avere velocità di sublimazione uguale, o comunque molto simile, in ogni flacone.

Come detto, il flusso di calore dipende da diversi contributi, che agiscono in maniera più o meno accentuata in base alla posizione del flacone sul ripiano, ciò è evidenziato in Figura 1.4. Scutellà et al. hanno dimostrato, tramite un modello matematico tridimensionale in condizioni stazionarie, che il flusso termico proveniente dal ripiano, seppur uguale per tutti i flaconi, ha un contributo maggiore, rispetto al flusso termico totale, in quelli centrali piuttosto che in quelli di bordo. Allo stesso tempo, lo scambio termico attraverso il gas in camera risulta avere un contributo più significativo, per il flusso totale, nei flaconi situati al bordo del ripiano. Il contributo dell'irraggiamento, sia quello dalle pareti della camera o dei

flaconi, sia quello dall'anello o binario inserito attorno al ripiano, risulta invece di minor impatto sul flusso termico totale. Si ha comunque il maggior effetto dell'anello sui flaconi con cui esso è in contatto diretto, ovvero quelle di bordo (Scutellà et al., 2017).

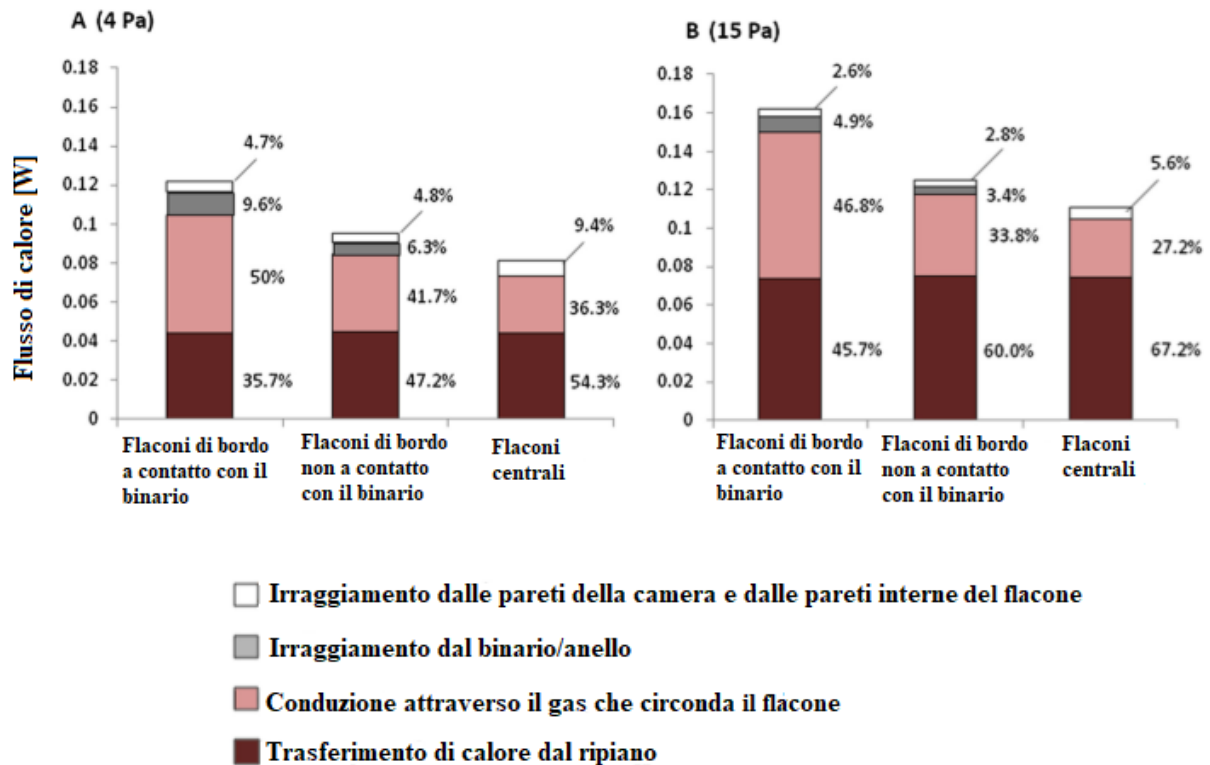


Figura 1.4: Contributi del flusso di calore e loro percentuale relativa rispetto al meccanismo di scambio termico totale per flaconi in diverse posizioni all'interno della camera. I risultati sono ottenuti per due diverse pressioni in camera e ad una temperatura del ripiano di 0 °C (immagine da Scutellà et al., 2017, modificata)

1.5 Obiettivi della Tesi

Lo studio effettuato e che verrà trattato in questa Tesi consiste proprio nell'utilizzo del *MicroFD*, fornito dall'azienda americana Millrock Technology. Sono stati interpretati i risultati ottenuti sperimentalmente con l'apparecchiatura, in un numero prefissato di test, con un modello matematico monodimensionale, in modo che essi possano essere replicati anche su liofilizzatori industriali, mantenendo per quanto possibile inalterate le condizioni operative. Inoltre, per ogni prova sperimentale è stata verificata l'uniformità del lotto, considerando la perdita di peso media in termini di grammi d'acqua sublimati durante l'essiccamento primario, per

un intervallo di tempo ben definito, e la sua deviazione standard, informazione utilizzata per stabilire se tutti i flaconi si comportino allo stesso modo e quanto si discostano rispetto al comportamento medio del lotto. Minore è il valore della deviazione standard ottenuta in una prova, maggiori sono le possibilità di poterla replicare su scala industriale ed ottenere i medesimi parametri durante il processo e una qualità del prodotto finale analoga.

L'obiettivo è stato quindi quello di comprendere quali elementi risultino più incisivi nel miglioramento delle condizioni del processo, modificando uno solo di essi alla volta e considerando tutti gli altri costanti. Sono stati presi in esame, fra i tanti parametri, la temperatura del ripiano, la temperatura dell'anello *LyoSim*[®] e la pressione in camera. A questa campagna sperimentale è stata aggiunta una serie di prove sperimentali in cui è stato fatto avvenire il processo di nucleazione controllata, per valutarne concretamente gli effetti sul sistema durante la fase di essiccamento primario. Di minor importanza, ma comunque rilevanti dal punto di vista sperimentale, sono stati alcuni test che hanno permesso di valutare il contributo che la differente tipologia di flacone impiegato può avere sul processo globale, oppure l'effetto del numero e della posizione delle termocoppie inserite in camera per la misura della temperatura del prodotto.

Nel Capitolo 2 verranno analizzate singolarmente le metodologie sperimentali e di calcolo impiegate e verranno approfondite le principali caratteristiche della macchina e del sistema di controllo annesso, nonché le verifiche necessarie alla convalida dei risultati, dando una descrizione ben precisa del modello matematico utilizzato, e le relative formule utilizzate. Tutte le prove sperimentali, invece, verranno esposte e commentate nel Capitolo 3 della trattazione e, per ognuna, verranno mostrati i relativi risultati tramite grafici e tabelle. Sono stati quindi valutati e confrontati i principali parametri del processo, come il coefficiente di scambio termico K_v o il coefficiente di resistenza della matrice solida al trasporto di vapore R_p , analizzando il loro trend in funzione della variabile di processo modificata.

Inoltre, noti tali parametri, per ogni prova è stato possibile stimare, tramite il modello matematico monodimensionale, il comportamento del sistema fino al termine reale del ciclo, verificando che gli andamenti della temperatura del prodotto e dello spessore di ghiaccio residuo rispecchino quelli sperimentali.

2 - Metodologie e strumenti impiegati

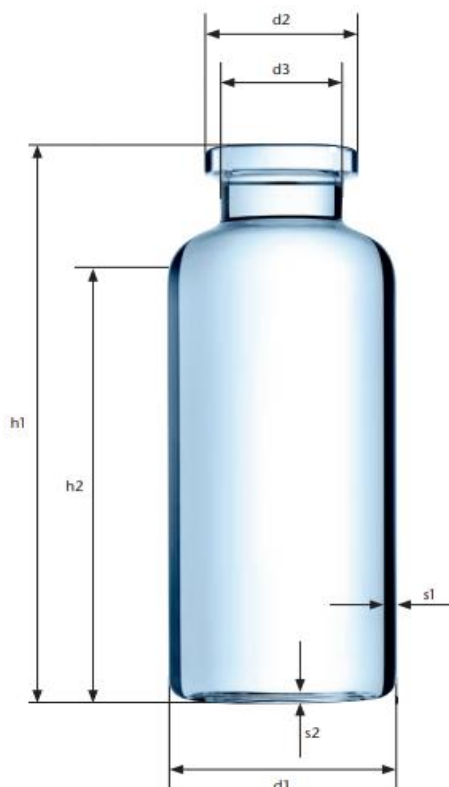
In questo capitolo verranno approfondite le varie metodologie impiegate durante il lavoro di Tesi. Verrà, inoltre, presentata un'analisi completa degli strumenti e delle apparecchiature utilizzate, in particolare del *MicroFD* utilizzato per le prove sperimentali, schematizzandone la struttura in tutti i suoi componenti ed il sistema di controllo *LyoPat*[®] ad esso collegato, con cui la macchina elabora i diversi parametri del processo. Tra questi verrà posta particolare attenzione sui due coefficienti di scambio, K_v e R_p , valutando come essi variano in funzione degli altri parametri. Inoltre, questi coefficienti sono utilizzati per convalidare i calcoli effettuati dalla macchina tramite un modello matematico monodimensionale. Si andrà infatti a valutare il discostamento dai valori empirici e, da questo, la reale efficienza della macchina nell'acquisire ed elaborare i calcoli durante il processo, in modo che essi possano essere replicati in un liofilizzatore industriale.

2.1 Apparecchiature utilizzate

Ogni esperimento è stato eseguito utilizzando la stessa tipologia, nonché la stessa concentrazione di prodotto, ovvero saccarosio ($C_{12}H_{22}O_{11}$), prodotto dalla Sigma-Aldrich[®] (St.Louis, MO, USA), che possiede una purezza $> 99,5\%$. La scelta di tale composto non è casuale: tra tutti quelli testati, sembra che i migliori stabilizzanti delle proteine durante la liofilizzazione sono proprio i disaccaridi, poiché le proteggono durante le fasi di congelamento ed essiccamento e, inoltre, tendono a rimanere allo stato amorfo nel corso della liofilizzazione (Carpenter et al., 2002). In particolare, il saccarosio puro possiede una temperatura di transizione vetrosa $T_g = -32^\circ C$ (molto simile alla temperatura di collasso T_c) valore discretamente superiore a quello raggiunto dal prodotto durante la fase di essiccamento nei test condotti in questo studio; in tal modo la struttura creata durante il congelamento riesce a resistere alla successiva sublimazione senza collassare sotto il suo stesso peso.

Per quanto riguarda i flaconi in cui inserire la soluzione di saccarosio, sono stati adoperati, per tutte le prove sperimentali, i flaconi 6R. In generale, per ogni dimensione dei flaconi esistono, inoltre, due diverse configurazioni, dette *Molded* e *Tubing*. Queste si distinguono per via del processo produttivo e, conseguentemente, dello spessore di parete; infatti, quelli del primo tipo posseggono uno spessore leggermente maggiore dei secondi, ed un fondo più convesso, a differenza dell'altro che invece è quasi completamente piatto, per via di un differente metodo di produzione. Ciò comporta nei flaconi *Molded* un peggior scambio termico tra il ripiano ed il prodotto, per via di una maggior resistenza al trasporto generata da questo spessore aggiuntivo e disomogeneo. In particolare, sono state compiute alcune prove sperimentali utilizzando i flaconi 6R *Molded*, in modo tale da eseguire un confronto diretto dei risultati ottenuti (flusso scambiato, coefficienti di trasporto, ecc.) con quelli ottenuti, nelle stesse condizioni operative, coi flaconi 6R *Tubing*.

Tabella 1: Caratteristiche geometriche del flacone (tipo *Tubing*) adoperato per i test



Tipologia flacone	6R Tubing
Capacità, ml	10 ± 0,5
d₁, mm	22 ± 0,2
d₂, mm	20 ± 0,2
d₃, mm	16,5
h₁, mm	40 ± 0,5
h₂, mm	26
s₁, mm	1 ± 0,4
s₂, mm	0,7
Massa, g	7,9

Sulla base della loro dimensione, il numero massimo di flaconi che sono stati inseriti in camera per i test è 19. Bisogna tenere in considerazione che ogni flacone possiede dei difetti di produzione, pertanto il diametro e la massa degli stessi,

utilizzati nei calcoli relativi all'analisi dei risultati ed alla loro convalida, sono stati stimati come valor medio.

Per la misura della pressione in camera, vengono utilizzati il sensore Pirani (calibrato in aria), che rileva pressioni da 0 a 760.000 mTorr, ed il manometro capacitivo (MKS Baratron), che invece rileva pressioni da 0 a 2000 mTorr, quindi fornisce un valore numerico solo quando viene raggiunto un vuoto molto spinto. Il dispositivo Pirani rileva una pressione circa il 60% maggiore di quella letta dal manometro capacitivo durante l'essiccamento primario per via del fatto che la conducibilità termica del vapor d'acqua è circa 1,6 volte maggiore di quella dell'azoto (Patel et al., 2010). Da questi due valori di pressione misurati è possibile individuare il termine della fase di essiccamento primario, come mostrato in Figura 2.1: dato che la concentrazione d'acqua in camera risulta essere molto bassa arrivati alla parte terminale del processo, il sensore Pirani rileva una pressione pari a quella misurata dal sensore di pressione capacitivo (Andrieu, et al., 2011), quindi il loro rapporto tende ad uno, e la sublimazione del ghiaccio può essere ritenuta completata (Fissore et al., 2017).

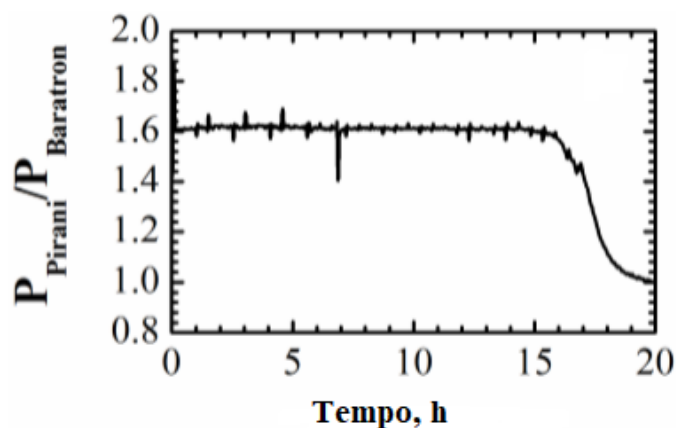


Figura 2.1: Rapporto tra le due misure di pressione in camera, in funzione del tempo (immagine tratta da Fissore et al., 2017, modificata)

Per la misura della temperatura, invece, sono messe a disposizione un massimo di 8 termocoppie, che possono essere inserite all'interno dei flaconi contenenti il prodotto, come mostrato in Figura 2.2 (a sinistra), permettendo di misurarne la temperatura sul fondo, a contatto con il vetro, in tempo reale. È possibile selezionare

tutte o solo alcune termocoppie per il calcolo della temperatura media del prodotto, che verrà utilizzata per i calcoli associati a tale parametro. Vi è poi un altro sensore, l'*Accuflux*[®], installato direttamente sul ripiano della camera, come in Figura 2.2 (a destra), che permette di valutare quantitativamente lo scambio termico, tramite il flusso di calore, nonché la temperatura del ripiano, in tempo reale.

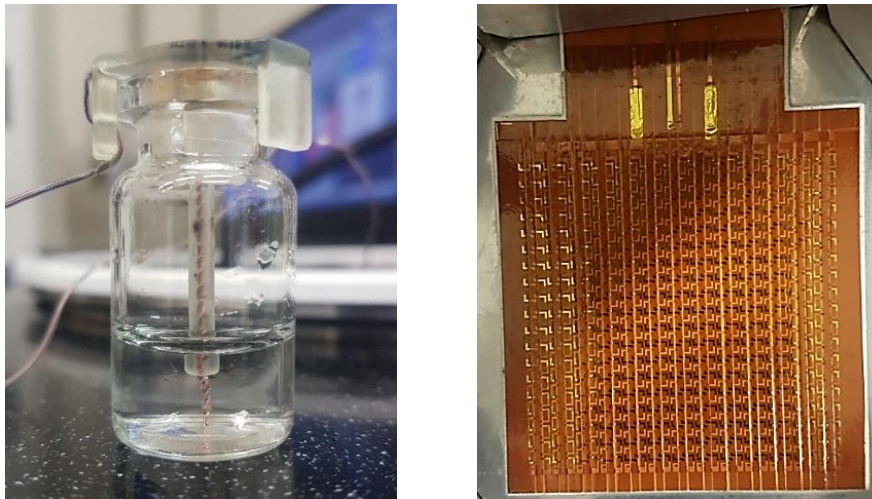


Figura 2.2: Fotografia di una termocoppia inserita all'interno di un flacone (sinistra) e del sensore *Accuflux*[®] per misurare il flusso termico dal ripiano (destra)

2.2 *MicroFD*

Il micro-liofilizzatore o *MicroFD*, Figura 2.3 (a), è costituito da diverse parti meccaniche collegate efficacemente fra loro in uno spazio ridotto, così da risultare di minor ingombro (dimensioni 30" x 20" x 67") rispetto ad un liofilizzatore industriale o di laboratorio tradizionale. La sezione più importante dell'apparecchiatura è costituita dalla camera circolare posizionata in cima, Figura 2.3 (b), chiusa ermeticamente tramite un coperchio a pistone che sigilla completamente la camera con l'ausilio di un anello in silicone posto fra le due parti. Sul fondo della camera si trova un ripiano, o *shelf* (con un diametro di 6"), all'interno del quale viene fatto circolare il fluido termovettore necessario allo scambio termico con il prodotto; qui viene posizionato il lotto costituito dai flaconi contenenti il prodotto desiderato, il cui numero varia in base all'esperimento da eseguire ed alla dimensione dei flaconi stessi. Tale numero è, in genere, standardizzato in base alla dimensione tipica dei flaconi utilizzabili; è possibile infatti scegliere tra configurazioni con 7, 19 o 37

flaconi; questi sono quelli suggeriti poiché consentono ai flaconi di essere a stretto contatto gli uni agli altri e, contemporaneamente, alle pareti della camera, ma è sempre possibile, qualora si voglia effettuare un test sperimentale con un numero diverso di flaconi, inserirne un numero differente. Come il ripiano, anche il coperchio risulta essere termo-controllato tramite lo stesso fluido, in modo da simulare la presenza di un ulteriore ripiano posto superiormente, come si avrebbe in un liofilizzatore più grande; è inoltre possibile selezionare manualmente la spaziatura fra questi, una volta che il processo è avviato e la pressione è scesa sotto i 500.000 mTorr. Un'altra modalità operativa consente al coperchio di pressare i flaconi in modo da sigillarli, al termine del processo di essiccamento, qualora si operi con prodotti ad alto rischio di contaminazione.

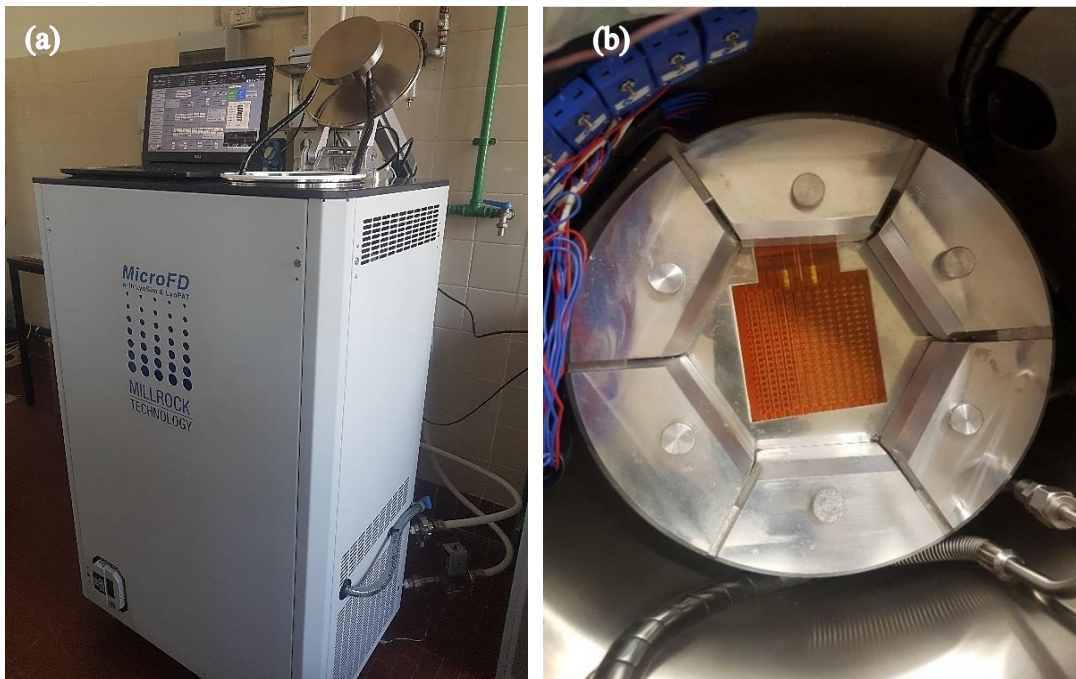


Figura 2.3: Fotografia del MicroFD, prodotto dalla Millrock Technology (a) e dell'interno della camera di liofilizzazione (b)

Al fine di garantire un miglior scambio termico con i flaconi disposti sul bordo, è previsto, attorno al ripiano, un anello d'acciaio, il *LyoSim*[®], al cui interno viene fatto circolare, ancora una volta, un fluido termovettore (indipendente da quello usato per il ripiano). Tramite un condotto laterale nella camera il vapore sublimato dalla soluzione di prodotto passa al condensatore, con scambiatore di forma a spirale, dove scorre un fluido refrigerante (a circa -70°C), consentendone la completa

condensazione. Il ghiaccio che si viene a creare attorno alle spire del condensatore deve essere eliminato al termine di ogni ciclo in modo da non inficiare l'efficienza del ciclo successivo, poiché la presenza del ghiaccio porta ad un peggioramento dello scambio termico tra il vapore ed il fluido refrigerante: tanto maggiore è lo spessore di ghiaccio formatosi, tanto peggiore sarà il trasferimento di calore e quindi l'efficienza della condensazione.

Infine, un ulteriore apparecchio indispensabile al processo è la pompa da vuoto, il cui funzionamento va tenuto sotto stretta sorveglianza. La pompa permette il raggiungimento in camera di pressioni molto inferiori a quella atmosferica, prossime al vuoto assoluto. In particolare, le pressioni che devono essere raggiunte arrivano fino a circa 8-9 Pa, in fase di essiccamento. Queste pressioni così spinte permettono, infatti, di far avvenire il processo a temperature molto al di sotto degli 0°C, senza comprometterne la fattibilità termodinamica, poiché la tensione di vapore del ghiaccio a tali pressioni consente la sublimazione a partire da -44°C, valore di temperatura decisamente più basso di quello solitamente utilizzato per far avvenire l'essiccamento. In Figura 2.4 è possibile vedere una rappresentazione del *MicroFD* in ogni sua parte: le zone verdi rappresentano parti in funzione, mentre quelle rosse rappresentano le parti spente e sconnesse dal processo al momento in cui l'immagine è stata tratta dal software di gestione dell'apparecchiatura.

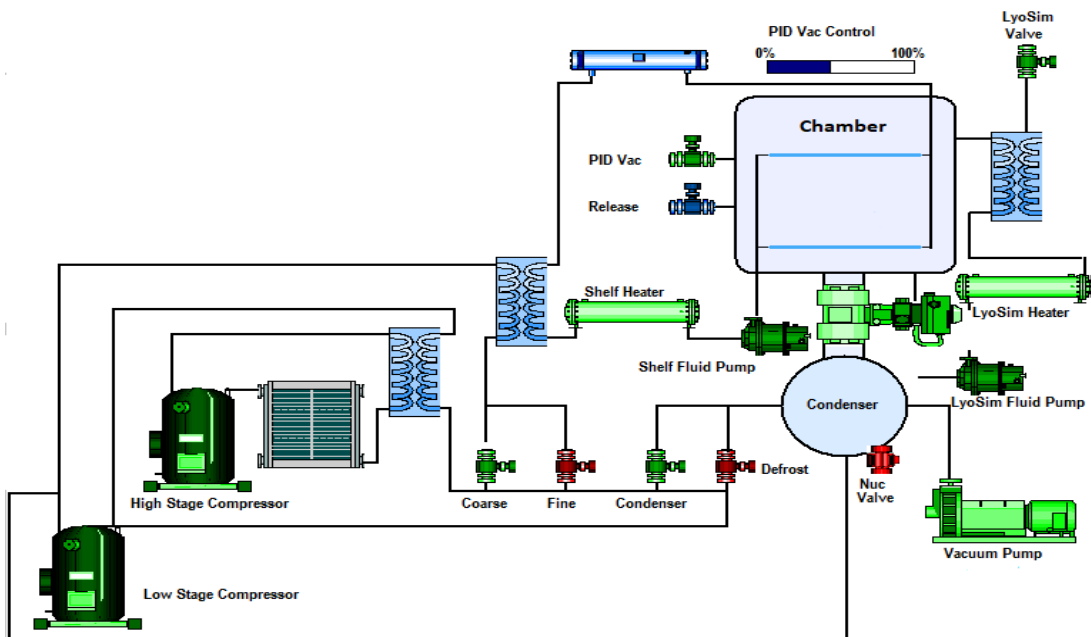


Figura 2.4: Rappresentazione schematica del *MicroFD*, con i relativi collegamenti delle singole apparecchiature

Infine, tra le utilities necessarie alla macchina, si hanno: l'allacciamento alla rete elettrica, che assicura voltaggio e amperaggio necessari; aria compressa, necessaria per l'attuazione della valvola di isolamento del sistema; azoto, necessario ad assicurare la tenuta in camera; acqua refrigerata (opzionale) a 15 °C.

2.3 LyoPat[®]

Il *MicroFD* è direttamente collegato ad un sistema di controllo che presenta un'interfaccia grafica semplice ed intuitiva. Al suo interno sono disponibili diverse funzioni che permettono all'operatore di impostare, preliminarmente, le variabili del sistema associate al lotto che si sta trattando:

1. Caratteristiche del flacone
 - Numero di flaconi
 - Massa del flacone
 - Superficie interna flacone
 - Superficie esterna flacone
 - K_v (se noto ed in casi specifici)
2. Caratteristiche del prodotto
 - Concentrazione (g/g)
 - Temperatura critica del prodotto (T_g , T_c o T_e)
3. Caratteristiche di riempimento
 - Volume di riempimento (ml)
 - Peso di riempimento (mg)

Inoltre, una volta avviato il processo, è possibile monitorare, in tempo reale, l'avanzamento dello stesso in funzione dei diversi parametri (flusso di calore e di materia, coefficienti di trasporto, percentuale di essiccamento ottenuta, etc.), come è riportato in Figura 2.5, o di visualizzare l'andamento grafico di tali parametri nel tempo, riferito all'intera durata del processo o solamente ad una sua parte.

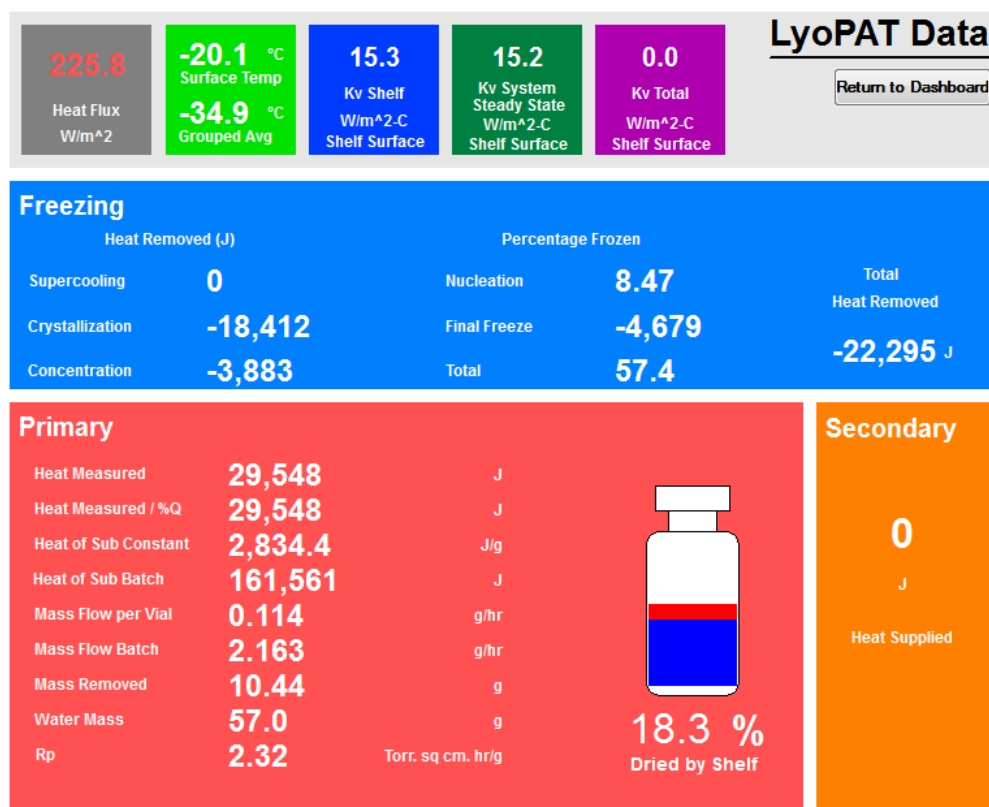


Figura 2.5: Interfaccia del LyoPat che permette di monitorare in tempo reale tutti i parametri fondamentali di processo

Qualora si volessero monitorare i vari componenti del sistema (condensatore, pompa, etc.), vi è il pannello di controllo che permette di agire sulle singole apparecchiature: questa funzione è estremamente utile poiché l'operatore può visualizzare eventuali malfunzionamenti ed eseguire, prontamente, le dovute modifiche e/o riparazioni.

Infine, alcune opzioni del LyoPat[®] consentono di effettuare la liofilizzazione con differenti modalità: *Analyze mode*, *Optimize mode* e *Pro mode*, con crescente grado di autonomia e di precisione dei risultati tramite calcoli ottimizzati impostati di default dal sistema di controllo stesso; a questi si aggiunge anche il *Manual mode* che, al contrario, permette di effettuare cicli semplificati e dipendenti dall'operatore.

2.3.1 Analyze mode

Questa modalità è la più utile a livello sperimentale perché consente all'operatore di inserire manualmente tutte le variabili richieste, quali ad esempio la temperatura a

cui portare il ripiano durante i vari step del processo oppure la pressione alla quale far sublimare il prodotto. Per questo motivo è stata, infatti, la modalità principalmente utilizzata per i test sperimentali di questo lavoro. Un esempio di come impostare i dati è mostrato in Figura 2.6, dove è rappresentato il pannello di controllo suddiviso in diverse sezioni:

- a) *Batch Info*: qui è possibile inserire i dati relativi esclusivamente al tipo di lotto preso in esame, per cui possono distinguersi numero e caratteristiche dei flaconi utilizzati (diametro e peso), tipologia e quantità di prodotto utilizzato, da cui la temperatura critica (che non deve essere raggiunta dal prodotto durante l'essiccamento primario), concentrazione in peso della fase solida e volume d'acqua inserito in ogni flacone.
- b) *Freezing*: sezione relativa alla fase di congelamento. Si ha la possibilità di definire la temperatura del ripiano per 10 diversi step, ognuno dei quali può essere controllato nella sua durata. Vi è inoltre uno step extra, il *Final Freeze*, qualora si voglia mantenere una certa temperatura del ripiano finché, completato il congelamento, la pressione non scende autonomamente fino al valore, preimpostato, a cui si vuole dar inizio all'essiccamento primario. Infine, l'opzione *Track offset* si riferisce alla temperatura a cui si vuole portare l'anello *LyoSim*[®] rispetto alla temperatura media del prodotto, potendo scegliere quanti e quali flaconi monitorate considerare nel calcolo della media.
- c) *Primary Drying*: sezione specifica dell'essiccamento primario, molto simile alla precedente, ma con un numero maggiore di step consentiti in cui poter variare i parametri. La differenza sostanziale sta nella possibilità aggiuntiva di controllare la pressione in camera per ogni step. In basso a destra, l'EOPD, è un'opzione che consente l'interruzione automatica della fase di essiccamento non appena la differenza tra la pressione misurata con il sensore Pirani e quella misurata dal manometro capacitivo Baratron scende al di sotto di un certo valore impostato, ad indicare l'effettivo completamento della sublimazione. Ciò avviene anche se la durata precedentemente inserita non è conclusa, bypassando il sistema all'ultima fase del processo.
- d) *Secondary Drying*: la sezione dell'essiccamento secondario è decisamente più piccola della precedente, avendo un solo step a disposizione per consentire

l'eventuale desorbimento dell'acqua rimasta legata al prodotto. Ai soliti parametri, si aggiunge anche la rampa termica a cui far avvenire il passaggio dalla temperatura del ripiano durante l'essiccamento primario a quella durante l'essiccamento secondario.

- e) *Storage Setpoint*: sezione di immagazzinamento dopo il termine del ciclo. È possibile infatti definire la temperatura e la pressione a cui riportare la camera del liofilizzatore non appena anche l'ultimo step di essiccamento è concluso. Funzione molto utile qualora l'operatore non sia presente al momento finale della prova, consentendo al prodotto di rimanere sigillato all'interno della camera senza che subisca alterazioni.
- f) *Alarm Setting*: si ha infine la possibilità di settare le condizioni critiche a cui la macchina produce un segnale di allarme, in seguito al discostamento dalle condizioni di sicurezza, come il sovraccarico del condensatore o il superamento di un certo valore di pressione in camera.

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

Figura 2.6: Pannello di controllo per la modalità Analyze

Il procedimento, seguito per tutte le prove svolte utilizzando questa modalità, è stato il seguente:

1. Raggiungimento della temperatura del ripiano di 20°C, il più velocemente possibile (condizione raggiungibile impostando come durata $t=0$);
2. Mantenimento della temperatura del ripiano a 20°C per 10 minuti, in maniera tale da stabilizzare il prodotto ed uniformarne la temperatura;
3. Raggiungimento della temperatura del ripiano a -40°C nei successivi 60 minuti, quindi con una rampa pari a 1 °C/min, durante la quale avviene la completa nucleazione dei cristalli di ghiaccio;
4. Mantenimento della temperatura di -40°C per ulteriori 60 minuti, in modo da assicurare il completo congelamento della soluzione (quantomeno della frazione d'acqua che può congelare);
5. Raggiungimento e mantenimento della temperatura del ripiano di -40°C per 10 minuti extra (step facoltativo).
6. Raggiungimento della temperatura di ripiano desiderata per la fase di essiccamento primario nel minor tempo possibile ($t=0$), mentre la pressione in camera si porta al valore impostato (60 o 90 mTorr);
7. Mantenimento di tale temperatura e di tale pressione per un tempo pari a 360 minuti, avendo stabilito che fosse un tempo adeguato ad avere una perdita di peso rilevante ai fini degli esperimenti in oggetto.

Per l'essiccamento secondario non sono stati impiegati particolari accorgimenti, per via del fatto che ogni esperimento è stato interrotto durante la fase di essiccamento primario, dopo le 6 ore previste dal test, prevenendo il raggiungimento della fase successiva. Infine, per l'eventuale *storage*, è consigliabile riportare le condizioni della camera a quelle ambientali (20 °C e 760 Torr), per evitare che si abbiano alterazioni nel prodotto una volta che la prova è stata terminata.

2.3.2 Optimize Mode

Questa modalità, più complessa della precedente, consente di ottimizzare il processo di liofilizzazione grazie alla possibilità di utilizzare, insieme o separatamente, alcune caratteristiche opzionali:

- i. *FreezeBooster*[®]: tramite questa opzione è possibile far avvenire il processo di nucleazione controllata, in fase di congelamento, che aumenta l'efficienza della successiva sublimazione; questo trattamento verrà approfondito successivamente.

- ii. *AccuFlux*[®]: consente di far svolgere in automatico il processo di congelamento dopo la nucleazione. Gli unici input richiesti saranno la temperatura a cui raffreddare la camera all'inizio del processo ed il valore del flusso termico, che verrà mantenuto costante da quando finisce la nucleazione fino al termine del congelamento del prodotto.
- iii. *AutoDry*[®]: consente di ottimizzare la fase di essiccamento primario, tramite controllo feedback a ciclo chiuso. Gli input richiesti dall'operatore sono ad esempio la dimensione/tipologia di flacone usato, oppure la % di vuoto che si vuole avere in camera (solitamente 30% rispetto alla pressione del vapore sul ghiaccio).

Select your optimization mode here: Loading: Off

FreezeBooster[®]: Shelf °C 0.0

Freezing Method: LyoSim °C 0.0

Primary Drying Method: Ready?

BATCH INFO

Percent Qshelf % Num of Vials

Concentration %w/w Vial OD cm

Critical Temp (Tc) °C Vial ID cm

Water mass per vial g Vial Mass g

FREEZING

Step: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

FreezeBooster[®] °C

After STEP #: min

LyoSim Track From: Track Offset: °C

End SC Based on Heat Flow

End FRZ Based on Heat Flow

EXTRA FREEZE

Shelf °C

Hold Time min

Primary Vac Start mT

PRIMARY DRYING

Step: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Shelf °C

Time min

Vacuum mT

LyoSim Track From: Track Offset: °C

Auto EOPD mT

SECONDARY DRYING

Shelf Ramp °C/min Vacuum mT

Shelf °C LyoSim

Time min Track Offset: °C

STORAGE SETPOINT

Shelf °C

LyoSim °C

ALARM SETTINGS

Cond Overload °C

Vacuum Overload mT

Power Outage min

Figura 2.7: Pannello di controllo per la modalità Optimize

Dalla Figura 2.7 è possibile notare che non sono molte le differenze rispetto alla precedente modalità *Analyze*, in particolare risulta in più solo il riquadro del *FreezeBooster*[®], che consente di far avvenire la nucleazione controllata dopo lo step indicato dall'operatore. Selezionando i moduli di ottimizzazione, *AccuFlux*[®] e *AutoDry*[®], invece, cambia completamente l'interfaccia grafica, non consentendo

all'operatore di inserire manualmente i parametri di temperatura, pressione e tempo delle singole fasi, poiché questi vengono automaticamente determinati per ottimizzare il ciclo di congelamento e quello di essiccamento primario. In aggiunta è presente la possibilità di effettuare dei test di incremento di pressione ad intervalli regolari in modo da risolvere eventuali discostamenti dalle condizioni ottimali.

Questa modalità è stata utilizzata solo per determinate prove pur mantenendo la possibilità di controllare manualmente il processo di congelamento, ovvero impostando solamente il *FreezeBooster*[®] e lasciando inalterato il resto. L'obiettivo principale di ciò è stato quello di valutare la differenza quantitativa, per quanto riguarda la perdita media di peso e l'uniformità del lotto, e qualitativa, ovvero i valori dei coefficienti di scambio misurati e la temperatura media raggiunta dal prodotto, nelle due condizioni di nucleazione, spontanea e controllata.

In questa procedura, contrariamente alla precedente, è stato necessario evitare di ridurre la temperatura al di sotto di una determinata soglia, per prevenire l'eventuale nucleazione spontanea, e quindi non controllata, dei cristalli di ghiaccio all'interno dei flaconi. Pertanto, il programma impostato ha subito una leggera variazione, in tal modo:

1. Raggiungimento e mantenimento della temperatura del ripiano a 20 °C fino a che il prodotto non sia stabilizzato (circa 10 minuti);
2. Raggiungimento della temperatura del ripiano di -5°C in 25 minuti, ovvero con una rampa di 1 °C/min;
3. Mantenimento della temperatura di -5°C per 40 minuti, affinché il prodotto raggiunga, mediamente in tutto il lotto, la temperatura di -4/-5 °C (temperatura leggermente superiore a quella in cui avviene la nucleazione spontanea);
4. Fase di nucleazione controllata tramite il *FreezeBooster*[®], richiedente circa 30 minuti per consentire il *seeding*, ovvero la fase di prelevamento dell'acqua che, giunta al condensatore, genera l'*ice fog* da inviare in camera; dopodiché l'effettiva nucleazione è istantanea in ogni flacone;
5. Raggiungimento della temperatura del ripiano di -40°C in 35 minuti, quindi con una rampa di 1 °C/min;
6. Mantenimento della temperatura a -40°C per 60 minuti, per permettere il completamento omogeneo del congelamento;

7. Fase extra di congelamento per ulteriori 10 minuti alla temperatura di $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (facoltativo).
8. Raggiungimento della temperatura di ripiano desiderata per la fase di essiccamento primario nel minor tempo possibile ($t=0$), mentre la pressione in camera si porta al valore impostato (60 o 90 mTorr);
9. Mantenimento di tale temperatura e di tale pressione per un tempo pari a 360 minuti, dopodiché la prova è stata interrotta.

Anche in questo caso, come per la modalità *Analyze*, non sono stati applicate particolari condizioni per l'essiccamento secondario, mentre per lo *storage* sono analoghe a quelle precedentemente citate.

2.3.3 *Pro Mode*

Le impostazioni di questa modalità sono analoghe a quelle dell'*Optimize Mode* con l'unica differenza di poter inserire manualmente il valore del K_v . Questo consente all'operatore di effettuare predizioni per quanto riguarda la temperatura media del prodotto durante l'essiccamento primario, invece che misurarla direttamente tramite le termocoppie, che risulteranno quindi disattivate. Questa modalità non è mai stata usata, pertanto approfondimenti in merito non sono presenti in questa trattazione.

2.3.4 *FreezeBooster*[®] e nucleazione controllata

Il processo di nucleazione durante la fase di congelamento risulta essere indispensabile per aumentare l'efficienza della liofilizzazione e ridurre la durata complessiva. Per questo motivo la Millrock Technology ha sviluppato un modulo denominato *FreezeBooster*[®] che, implementato nel sistema di controllo *LyoPat*[®], consente di controllare la nucleazione, assicurando che essa inizi allo stesso tempo, in tutti i flaconi del lotto, fornendo un punto di partenza comune per il congelamento, come evidente dalla Figura 2.8. Solo una piccola percentuale d'acqua comincia a nucleare, circa il 3-5 %, e la restante parte dei cristalli infatti si forma solo in seguito alla nucleazione (Thompson T. N., 2013). Il risultato di questo metodo è un'uniformità strutturale del prodotto che porta a migliori rese finali e ad una migliore qualità del prodotto, oltre che durate di essiccamento ridotte (Wiltwyck, 2018). Normalmente, nel caso di nucleazione non controllata, il fenomeno comincia dal fondo proseguendo verso l'alto, però la velocità di crescita dei cristalli

diminuisce, risultando in cristalli più piccoli in basso e cristalli più grandi in alto. Impiegando invece un controllo sul fenomeno di nucleazione, esso avrà inizio a partire dalla superficie superiore fino in fondo al flacone, mostrando una distribuzione di cristalli più omogenea (Thompson T. N., 2013). Le tecniche alla base della nucleazione controllata sono diverse ma tutte ugualmente valide. Quella usata dall'apparecchiatura in esame è la tecnica dell'*ice fog*: i cristalli di ghiaccio vengono generati nel condensatore, dove il vapore viene cristallizzato grazie alle basse temperature raggiunte: si forma quindi una vera e propria nebbia costituita dai cristalli che, successivamente, viene inviata all'interno della camera. Entrati in contatto con la superficie del prodotto (la quale si trova già in condizioni di sottoraffreddamento), questi cristalli fungono da agenti nucleanti scatenando il fenomeno di nucleazione in tutti i punti della superficie ed allo stesso istante, mostrando come risultato una struttura del ghiaccio uniforme in ogni flacone (Thompson T. N., 2013).

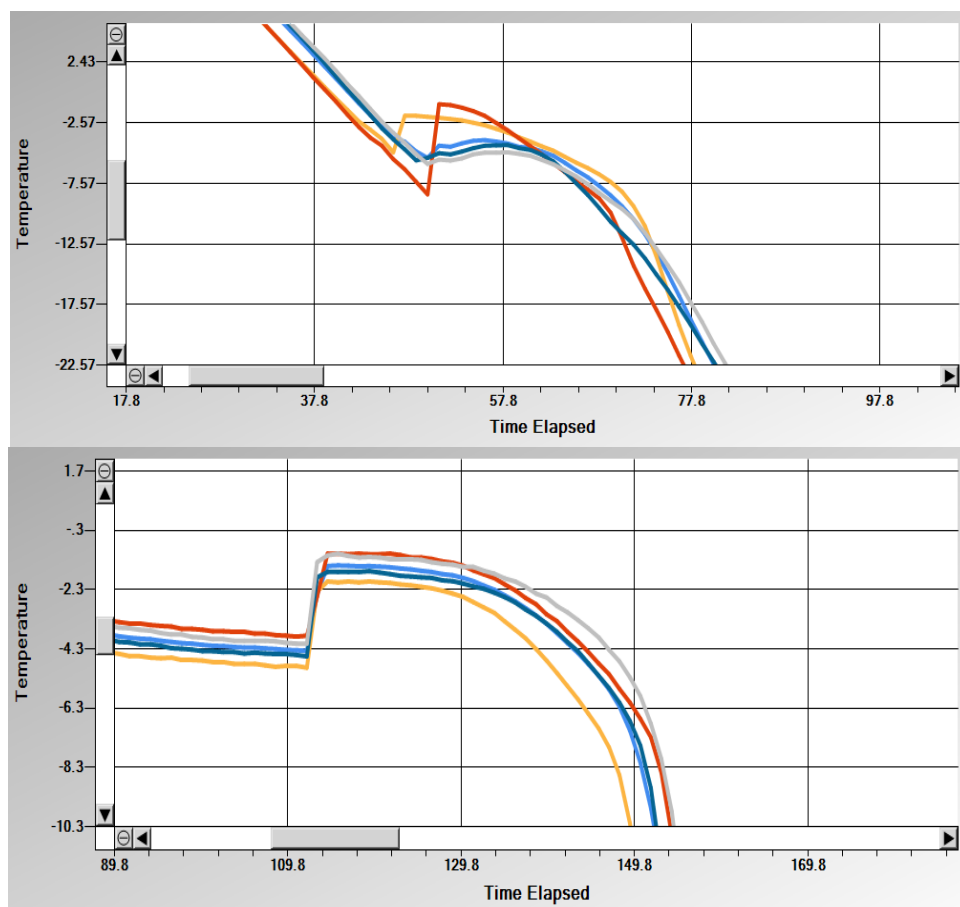


Figura 2.8: Andamento delle temperature del prodotto misurate tramite termocoppie nel caso di nucleazione non controllata (sopra) e controllata (sotto)

2.3.5 Manual Mode

Scegliendo tale modalità, l'operatore ha la capacità di testare funzioni individuali del sistema per validazioni o eventuale risoluzione di problemi. La schermata di controllo, che si presenta come in Figura 2.9, permette di modificare o impostare i singoli set-point per la temperatura del ripiano e la rampa con cui raggiungere tale temperatura o il valore della pressione in camera o, ancora, la temperatura dell'anello *LyoSim*[®]. Le altre opzioni presenti concedono solo l'accensione/spengimento di quella particolare funzione.

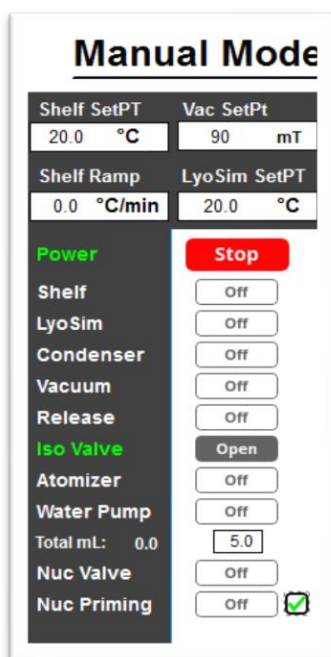


Figura 2.9: Pannello di controllo per la modalità Manual Mode

Per tutte le prove effettuate con la modalità *Optimize*, è stato necessario avviare la pompa attraverso questa modalità manuale. Essa viene utilizzata per il prelevamento dell'acqua da un recipiente esterno alla macchina durante la fase di preparazione alla nucleazione, il *seeding* delle particelle di ghiaccio, secondo i seguenti passaggi:

1. Accensione dell'*Atomizer* per circa 2 minuti, necessario affinché il ghiaccio venga atomizzato per poter formare la nebbia;
2. Apertura della valvola di nucleazione, che connette il condensatore con la pompa dell'acqua;
3. Accensione del *Nuc Priming*, necessario per poter in seguito ottenere l'innesco della nucleazione;

4. Accensione della pompa dell'acqua, che comincerà a prelevare una quantità d'acqua preimpostata (5 ml) per attivarsi;
5. Accensione del condensatore, impostando una temperatura adeguata, per riuscire a vedere la nebbia di ghiaccio formarsi attorno ad esso (facoltativo).

Una volta terminato questo processo manuale, apparirà una spunta verde indicante l'avvenuta attivazione della pompa per la nucleazione, affianco all'opzione del *Nuc Priming*, come in Figura 2.9. A questo punto è indispensabile effettuare il scongelamento del condensatore (fuori dalla modalità manuale) per 10-15 minuti. La mancata esecuzione di tutti questi step, nell'ordine sopracitato, porterebbe il *FreezeBooster*[®] a non riuscire nell'intento di realizzare la nucleazione controllata durante la fase di congelamento.

2.4 *LyoSim*[®]

Il *LyoSim*[®] è un anello di acciaio inossidabile che circonda il ripiano sul quale vengono poggiati i flaconi da liofilizzare. Sopra di esso possono essere inseriti dei blocchi metallici che fungono da conduttori termici, opportunamente incastrati tra loro all'interno della camera, come in Figura 2.10, e di diversa misura in base al numero di flaconi che si vuole utilizzare. All'occorrenza, può inoltre essere utilizzata una pasta termica da applicare al contatto tra l'anello e tali blocchi, in modo da garantire una miglior adesione ed una migliore conduzione del calore. Come precedentemente detto, all'interno del *LyoSim*[®] scorre un fluido termovettore, diverso da quello usato per controllare il ripiano; la sua temperatura, variabile in un range tra -60°C e +60°C, viene impostata manualmente dall'operatore in funzione della temperatura media del prodotto in camera, e quindi variabile durante il processo di liofilizzazione. L'obiettivo principale di questo componente è quello di simulare un'ulteriore fila di flaconi sublimanti e compensare i cosiddetti effetti di bordo permettendo ai flaconi esterni di comportarsi come quelli interni (Thompson et al., 2017); per tale motivo è indispensabile che i flaconi esterni siano non solo a stretto contatto gli uni agli altri, ma anche alle pareti di questi blocchi metallici.

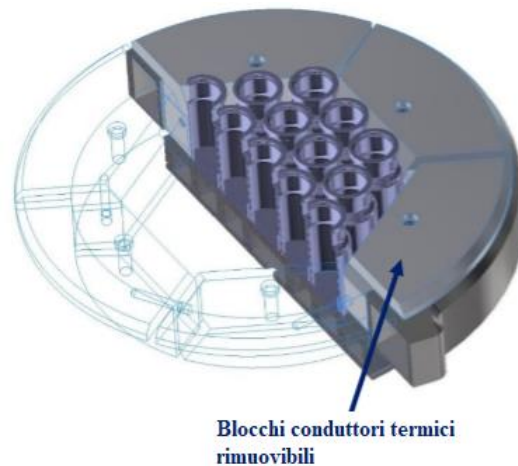


Figura 2.10: Disposizione blocchi termici metallici attorno al LyoSim® (immagine da Thompson et al., 2017, modificata)

2.5 Modello matematico monodimensionale

Per i processi di liofilizzazione la letteratura propone diversi modelli matematici per descrivere l'andamento della temperatura del prodotto o della quantità di ghiaccio sublimata nel tempo in funzione delle diverse condizioni operative (Bosca & Fissore, 2011). Essi si basano sulla risoluzione dei bilanci di massa e di calore per il prodotto congelato e quello secco, ottenendo modelli multidimensionali complessi da risolvere e che richiedono parametri molto spesso sconosciuti, o comunque calcolabili con enorme imprecisione. Risulta essere comunque adeguato, per le condizioni tipiche utilizzate nei processi di liofilizzazione, un modello monodimensionale, per via del fatto che il gradiente di temperatura radiale appare piccolo da poter essere trascurato (Giordano et al., 2011).

Il modello presentato ed utilizzato in questo lavoro si basa essenzialmente su un algoritmo che risolve un sistema di equazioni differenziali costituiti dai bilanci di materia e di calore dello stato solido congelato ed elabora i dati utili al processo al fine di convalidare i risultati sperimentali ottenuti nel *MicroFD*. È necessario, innanzitutto, che siano note le principali variabili del processo, quali ad esempio le proprietà fisiche del ghiaccio (ρ_{frozen} , λ_{frozen}), lo spessore L_{tot} della soluzione prima del trattamento di liofilizzazione, ovvero l'altezza di riempimento, e la percentuale ε di acqua in soluzione (da cui la complementare frazione solida di prodotto), la pressione in camera P_c e le temperature T_{frozen} e T_{shelf} impostate durante la prova, ecc. Occorre inoltre che siano noti i due coefficienti di scambio (K_v e R_p), ottenibili

sperimentalmente attraverso svariati metodi. La prima equazione del modello non è altro che il bilancio di massa per il prodotto congelato:

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

da cui si ricava l'andamento nel tempo dello strato secco, come illustrato in Figura 2.11.

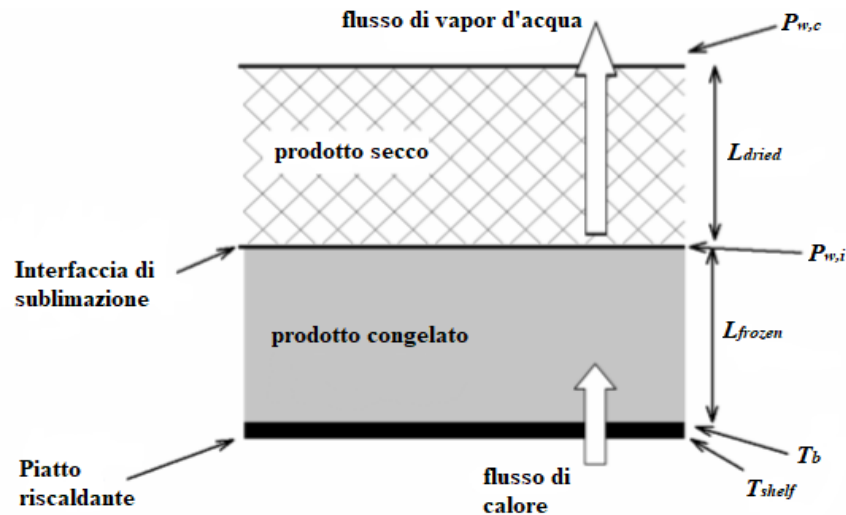


Figura 2.11: Rappresentazione grafica del processo di sublimazione, dove sono evidenziate le principali variabili usate nel modello matematico (immagine da Fissore et al., 2017, modificata)

2.5.1 Coefficiente di scambio termico K_v

Il coefficiente di scambio termico tra il prodotto interno ai flaconi ed il ripiano della camera può essere calcolato in diversi modi. Bisogna, innanzitutto, tenere in considerazione che il coefficiente di scambio K_v è dato dalla somma di tre diversi contributi corrispondenti ai tre diversi meccanismi con cui avviene lo scambio termico:

$$K_v = K_c + K_r + K_g \quad (2)$$

Il primo termine è quello relativo al contatto diretto tra il ripiano riscaldante ed il flacone (K_c), il secondo quello relativo all'irraggiamento con le pareti della camera (K_r), ed il terzo quello relativo alla convezione attraverso il gas disperso all'interno della camera (K_g) (Pisano et al., 2011). Per tal motivo il valore di questo parametro risulta differente tra i vari flaconi, poiché dipendente dalla posizione che essi

occupano sul ripiano. I flaconi che si trovano sui bordi esterni, ad esempio, risultano più soggetti all'effetto di irraggiamento delle pareti rispetto a quelli più interni, risultando in un diverso valore di K_v .

Passando all'effettivo calcolo del coefficiente K_v , l'equazione comunemente utilizzata lega direttamente il K_v al flusso termico scambiato secondo l'equazione:

$$K_v = \frac{J_q}{(T_{shelf} - T_b)} \quad (3)$$

dove la temperatura del prodotto è misurata attraverso le termocoppie poste accuratamente all'interno dei flaconi in modo tale da rilevarne la temperatura sul fondo. Il modulo *Accuflux*[®] valuta il coefficiente di scambio applicando la stessa relazione, considerando il gradiente di temperatura allo stato stazionario. Questo è, però, solo riferito allo scambio termico ottenuto tramite il ripiano, come è rappresentato in Figura 2.12; non tutto il calore infatti viene fornito da questo, bensì anche dalle pareti, da cui la particolarità nell'utilizzo di questo tipo di apparecchiatura, e dalla convezione nel gas circostante; infatti, nei liofilizzatori industriali tutto il calore scambiato risulta invece provenire solo dal basso, ovvero dal ripiano.

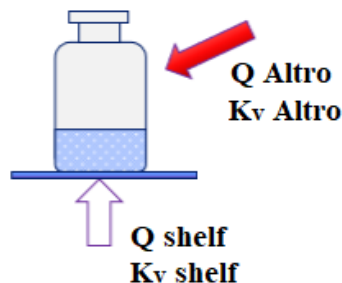


Figura 2.12: Rappresentazione schematica del flusso di calore proveniente dal basso e di quello proveniente lateralmente (immagine tratta da Thompson et al., 2017, modificata)

Per valutare la percentuale di calore effettivamente scambiato dal ripiano verso il prodotto si fa uso della seguente relazione:

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

dove il J_q_{shelf} non è altro che l'integrale del flusso termico calcolato a partire dall'inizio dell'essiccamento primario fino al termine della prova, mentre il

denominatore corrisponde alla quantità di calore scambiato per far sublimare la massa Δm . Per ricavare, infine, il K_v globale del processo bisogna dividere per questa percentuale di calore dal basso, il K_v scambiato dal ripiano e fornito dall'apparecchiatura, calcolato secondo la (3):

$$K_v \text{ total} = \frac{K_v \text{ shelf}}{\%Q \text{ shelf}} \quad (5)$$

Sulla base del modello matematico monodimensionale, il coefficiente di scambio è funzione della pressione che si ha in camera durante l'essiccamento primario, P_c . Per un dato sistema si ha che:

$$K_v = a_{K_v} + \frac{b_{K_v} \cdot P_c}{1 + c_{K_v} \cdot P_c} \quad (6)$$

Questi tre coefficienti a_{K_v} , b_{K_v} , c_{K_v} possono essere calcolati sperimentalmente attraverso diverse espressioni disponibili in letteratura, ma richiede che per ogni sistema vengano effettuate almeno tre misurazioni a differente pressione P_c in modo da riuscire a determinarle (Bosca & Fissore, 2011).

Si è fatto quindi uso della relazione gravimetrica, ricavabile dal bilancio di calore per il prodotto congelato (Fissore et al., 2017), ottenendo un'equazione legata alla perdita di massa sublimata rilevata durante il *primary drying*, pesando i provini prima e dopo un certo intervallo di tempo Δt :

$$K_v = \frac{\Delta m \cdot \Delta H_s}{A_v \cdot \int_0^{\Delta t} (T_{shelf} - T_b) dt} \quad (7)$$

dove l'integrale rappresenta il gradiente di temperatura misurato a partire dall'inizio del *primary drying* fino all'interruzione della prova e si può calcolare attraverso diversi metodi numerici (può essere sostituito, in alternativa, il suo valore medio, con buona approssimazione, poiché dopo una piccola frazione di tempo tale gradiente diviene circa costante).

Una volta ottenuto il coefficiente di scambio K_v gravimetrico è possibile calcolare anche la relazione di dipendenza tra R_p e L_{dried} . Essendo note infatti le temperature del ripiano e del prodotto, quindi il gradiente termico per lo scambio, si può calcolare il flusso termico dalla (3) e, in seguito, il flusso di materia sublimata, tramite l'equazione risultante dal bilancio di energia all'interfaccia di sublimazione (Fissore

et al., 2017), la quale corrisponde alla seconda equazione principale del modello matematico:

$$J_w = \frac{J_q}{\Delta H_s} \quad (8)$$

2.5.2 Coefficiente di resistenza al flusso di vapore R_p

Il parametro R_p definisce la resistenza della matrice del prodotto al flusso di vapore durante la fase di sublimazione. Secondo il modello matematico proposto questo sarà dipendente dallo spessore dello strato secco all'interno di ogni flacone secondo l'equazione:

$$R_p = R_{p,0} + \frac{A_{R_p} \cdot L_{dried}}{1 + B_{R_p} \cdot L_{dried}} \quad (9)$$

Tale equazione è molto simile alla (5), ma utilizza parametri diversi e dipendenti dal prodotto in esame. Questi vengono ancora una volta ricavati sperimentalmente; nel caso di questo studio sono stati estrapolati dalla curva R_p vs L_{dried} , di cui un esempio in Figura 2.13, cercando di ottenere una curva quanto più possibile simile a quella ottenuta dai dati sperimentali, ovvero i dati ricavabili dall'equazione semplificata:

$$R_p = \frac{P_{w,i} - P_{w,c}}{J_w} \quad (10)$$

dove $P_{w,c}$ può essere assimilabile alla pressione in camera P_c , dato che in essa è presente essenzialmente vapor d'acqua, la quale è nota, poiché impostata dall'operatore durante la fase di avvio del processo, mentre il flusso di sublimazione è calcolabile tramite la (7).

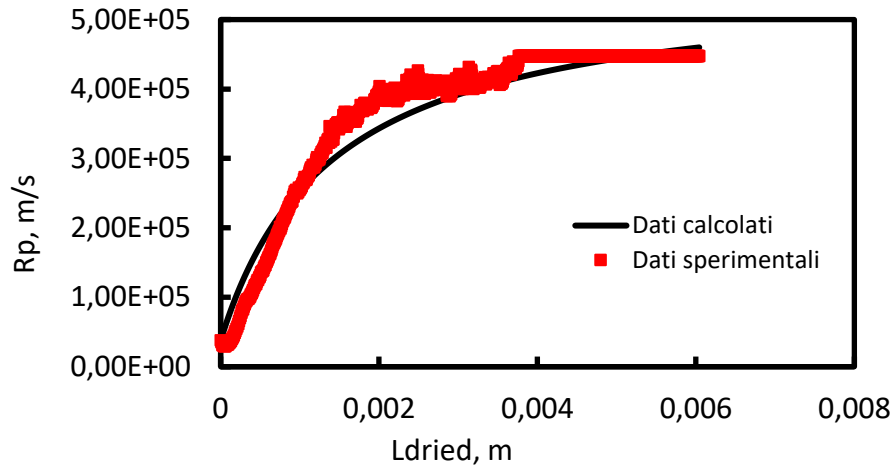


Figura 2.13: Esempio di andamento del coefficiente R_p in funzione dello spessore dello strato essiccato, la curva rossa rappresenta l'insieme di punti ricavati dall'eq. (9), la curva nera quella ottenibile approssimando i risultati sperimentali con l'eq. (8)

Risulta invece più complesso rilevare la pressione all'interfaccia di sublimazione. È possibile però calcolarla tramite la temperatura del prodotto all'interfaccia di sublimazione attraverso alcune correlazioni sperimentali, come quella proposta da Pikal o quella proposta da Goff e Gratch, funzioni solamente della temperatura, in gradi Kelvin, assumendo che questa sia approssimabile alla temperatura del prodotto T_b al fondo del flacone, essendo il gradiente assiale di temperatura nel prodotto congelato praticamente trascurabile (Fissore, 2017).

La pressione in camera P_c deve essere accuratamente fissata sulla base della tensione di vapore del ghiaccio alla temperatura alla quale si sta lavorando durante la fase di essiccamento, poiché da essa dipende la velocità di sublimazione del vapore. La pressione deve essere più bassa della tensione di vapore del ghiaccio al fronte di sublimazione per consentire la sublimazione, ma sufficientemente alta per consentire uno scambio di calore elevato in tutti i flaconi disposti nella camera. Per stabilire il range di pressione a cui lavorare si fa comunemente uso della Tabella 2.

Tabella 2: Tensione di vapore del ghiaccio in funzione della temperatura del fronte di sublimazione del ghiaccio

Degree °C	milliTorr	Pascal	milliBars	Degree °C	milliTorr	Pascal	milliBars
0	4579.7	610.6	6.091	-32	231.4	30.9	0.308
-2	3879.5	517.2	5.160	-34	187.0	24.9	0.249
-4	3278.2	437.1	4.360	-36	150.6	20.1	0.200
-6	2763.2	368.4	3.675	-38	120.8	16.1	0.161
-8	2323.0	309.7	3.090	-40	96.5	12.9	0.128
-10	1947.9	259.7	2.591	-42	76.8	10.2	0.102
-12	1628.9	217.2	2.166	-44	60.9	8.1	0.081
-14	1358.4	181.1	1.807	-46	48.1	6.4	0.064
-16	1129.6	150.6	1.502	-48	37.8	5.0	0.050
-18	936.7	124.9	1.246	-50	29.6	3.9	0.039
-20	774.4	103.2	1.030	-52	23.1	3.1	0.031
-22	638.3	85.1	0.849	-54	17.9	2.4	0.024
-24	524.4	69.9	0.698	-56	13.8	1.8	0.018
-26	429.6	57.3	0.571	-58	10.6	1.4	0.014
-28	350.7	46.8	0.466	-60	8.1	1.1	0.011
-30	285.4	38.0	0.380	-62	6.2	0.8	0.008

3 - Prove sperimentali e risultati

In questo capitolo saranno esposte le prove sperimentali effettuate con il micro-liofilizzatore ed i relativi risultati ottenuti. Un totale di 36 prove è stato eseguito modificando una singola variabile operativa alla volta, in modo da evidenziarne l'effettivo contributo nei confronti dei principali parametri di processo, quali il flusso di calore, la temperatura del prodotto, i coefficienti di trasferimento K_v e R_p o, infine, la deviazione standard per quanto riguarda la perdita di peso.

I set di prove sperimentali, elencati in Tabella 3, sono suddivisi sulla base del parametro modificato e, per ognuno di questi, sono stati effettuati tre test al variare della sola temperatura dell'anello *LyoSim*[®], passando da una temperatura di -1, -3 e -5°C rispetto alla temperatura media del prodotto. Le variabili più significative per lo studio sperimentale effettuato sono state:

- Temperatura dell'anello *LyoSim*[®] (T_{ring})
- Temperatura del ripiano (T_{shelf})
- Pressione in camera (P_c)
- Tipologia di nucleazione (controllata o non controllata)
- Numero e posizione delle termocoppie (TC)

Tabella 3: Elenco delle prove sperimentali effettuate

N. Prova	Modalità	Flacone	Numero e Posizione TC	T _{shelf} (°C)	P _c (mTorr)	T _{ring} (°C)
1	Analyze	Tubing	6 TC sparse	-20	60	T _{avg} - 1
2	Analyze	Tubing	6 TC sparse	-20	60	T _{avg} - 3
3	Analyze	Tubing	6 TC sparse	-20	60	T _{avg} - 5
4	Analyze	Tubing	5 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 1
5	Analyze	Tubing	5 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 3
6	Analyze	Tubing	5 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 5
7	Analyze	Tubing	2 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 1
8	Analyze	Tubing	2 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 3
9	Analyze	Tubing	2 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 5
10	Analyze	Tubing	5 TC sparse	-10	60	T _{avg} - 1
11	Analyze	Tubing	5 TC sparse	-10	60	T _{avg} - 3
12	Analyze	Tubing	5 TC sparse	-10	60	T _{avg} - 5
13	Analyze	Tubing	2 TC centrali	0	60	T _{avg} - 1
14	Analyze	Tubing	2 TC centrali	0	60	T _{avg} - 3
15	Analyze	Tubing	2 TC centrali	0	60	T _{avg} - 5
16	Analyze	Tubing	2 TC centrali	-20	90	T _{avg} - 1
17	Analyze	Tubing	2 TC centrali	-20	90	T _{avg} - 3
18	Analyze	Tubing	2 TC centrali	-20	90	T _{avg} - 5
19	Analyze	Tubing	2 TC centrali	0	90	T _{avg} - 1
20	Analyze	Tubing	2 TC centrali	0	90	T _{avg} - 3
21	Analyze	Tubing	2 TC centrali	0	90	T _{avg} - 5
22	Analyze	Molded	6 TC sparse	-20	60	T _{avg} - 1
23	Analyze	Molded	6 TC sparse	-20	60	T _{avg} - 3
24	Analyze	Molded	6 TC sparse	-20	60	T _{avg} - 5
25	Optimize	Tubing	2 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 1
26	Optimize	Tubing	2 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 3
27	Optimize	Tubing	2 TC centrali	-20	60	T _{avg} - 5
28	Optimize	Tubing	2 TC centrali	0	60	T _{avg} - 1
29	Optimize	Tubing	2 TC centrali	0	60	T _{avg} - 3
30	Optimize	Tubing	2 TC centrali	0	60	T _{avg} - 5
31	Optimize	Tubing	2 TC centrali	-20	90	T _{avg} - 1
32	Optimize	Tubing	2 TC centrali	-20	90	T _{avg} - 3
33	Optimize	Tubing	2 TC centrali	-20	90	T _{avg} - 5
34	Optimize	Tubing	2 TC centrali	0	90	T _{avg} - 1
35	Optimize	Tubing	2 TC centrali	0	90	T _{avg} - 3
36	Optimize	Tubing	2 TC centrali	0	90	T _{avg} - 5

Le prove così ripartite sono state eseguite con i flaconi 6R inizialmente nella modalità *Analyze* e, alcune di esse, replicate anche nella modalità *Optimize* al fine di valutare l'effettiva influenza della nucleazione controllata sul processo, mettendo a confronto i risultati ottenuti dalle rispettive prove, nelle stesse condizioni. A queste sono stati aggiunti esperimenti di minor rilievo: alcuni in cui sono stati utilizzati i flaconi *Molded*, per valutare la concreta differenza rispetto all'altra tipologia *Tubing*, usata preferenzialmente per tutte le altre prove, altri in cui è stato analizzato il contributo che la velocità di congelamento, successivamente alla nucleazione, possa avere sul processo di essiccamento primario. Infine, per quanto riguarda la disposizione delle termocoppie utilizzate per il monitoraggio, questa è mostrata in Figura 3.1, per ogni differente caso di studio.

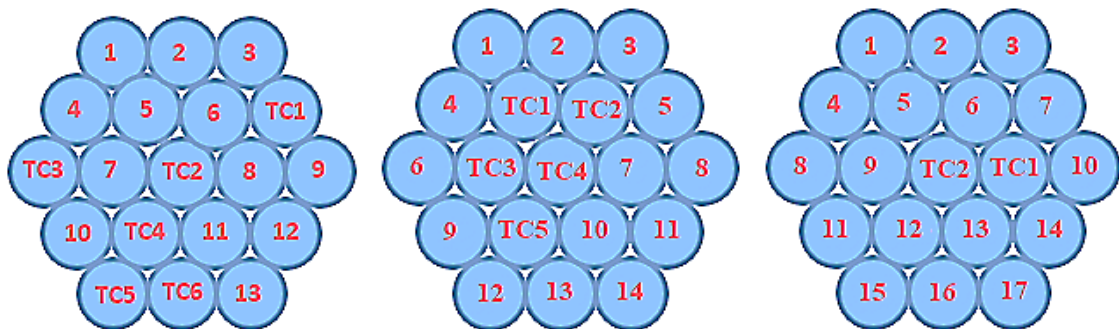


Figura 3.1: Disposizione flaconi in camera, in ordine da sinistra verso destra: 6 termocoppie sparse, 5 termocoppie centrali e 2 termocoppie centrali

3.1 Preparazione e termine prova

Preliminarmente all'avvio di una prova sperimentale bisogna allestire i flaconi da inserire in camera. Il primo passo è la preparazione della soluzione: ad un certo volume d'acqua è stato miscelato un quantitativo di prodotto, il saccarosio, tale da ottenere una soluzione al 5% in peso dello stesso, utilizzando un agitatore magnetico (MS-200) per la miscelazione delle due fasi. Una volta che il prodotto si è completamente solubilizzato viene prelevato un campione di soluzione, in base al tipo di flacone impiegato ed al volume di riempimento che si vuole avere (nel caso specifico pari a 3 ml di soluzione), ed inserito all'interno del flacone. Questo viene, in seguito, pesato tramite una bilancia digitale (Mettler Toledo, modello MS204S/01) ed accuratamente disposto all'interno della camera del *MicroFD*. Si procede allo stesso modo finché la camera non è completamente riempita, ovvero fino a quando i

flaconi non si ritrovano ben incastrati gli uni con gli altri e, contemporaneamente, a stretto contatto con le pareti dell'anello *LyoSim*[®]. A questo punto vengono inserite le termocoppie all'interno dei flaconi, con la disposizione mostrata in Figura 3.2, in modo che siano ben ferme e che la parte terminale con il sensore tocchi il fondo del flacone; i restanti flaconi vengono invece parzialmente chiusi con un tappino in gomma (numerato) in modo che il vapore riesca ugualmente a fuoriuscire durante la fase di sublimazione. A questo punto la prova viene avviata ed i dati cominciano ad essere monitorati minuto per minuto.

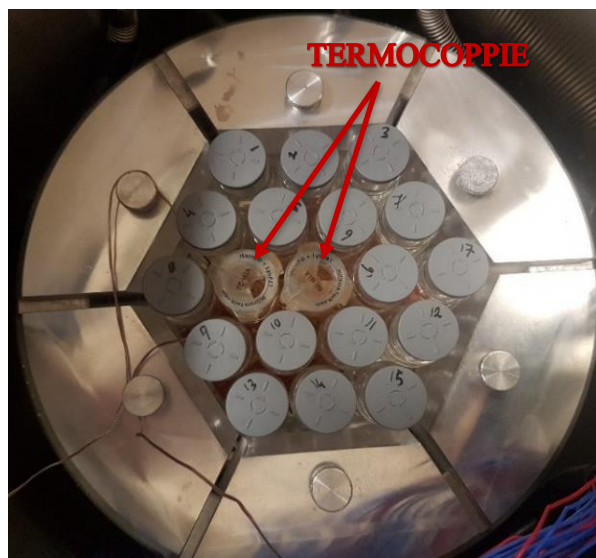


Figura 3.2: *Disposizione in camera dei 19 flaconi 6R, di cui due monitorati da termocoppie*

Una volta che il processo è alla sua fase terminale, ovvero dopo essere trascorse le 6 ore previste di essiccamento primario, il processo viene interrotto, così che il vuoto venga rilasciato. In particolare, il coperchio della camera non può essere sollevato finché la pressione al suo interno non raggiunge le condizioni atmosferiche. Dopodiché, con estrema attenzione, i singoli flaconi vengono prelevati dalla camera e, rimossi i tappini di gomma o le eventuali termocoppie inserite, nuovamente pesati affinché se ne possa valutare la perdita di peso Δm avvenuta durante le 6 ore di sublimazione. Infine, si opera un processo di *Defrost*, per un tempo adeguato e gestibile tramite il sistema di controllo, corrispondente al scongelamento del condensatore in cui si è venuto a creare uno spesso strato di ghiaccio durante la fase di sublimazione del vapore. L'aspetto dei campioni prima e dopo il ciclo di liofilizzazione eseguito, è mostrato in Figura 3.3. Si evidenzia che il volume

occupato dal prodotto è praticamente lo stesso al termine della prova, con la differenza che la fase solida costituita dal saccarosio, sopra, si è separata dal ghiaccio, rimasto sul fondo, formando una struttura molto porosa, come conseguenza del processo di sublimazione subito.

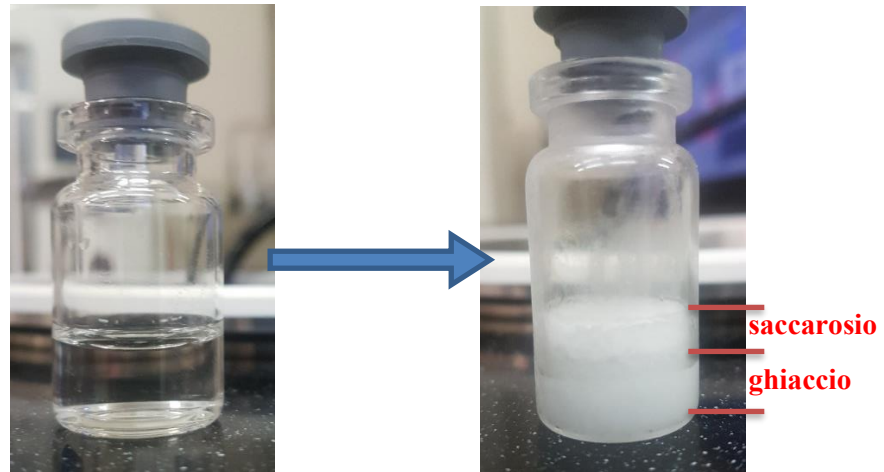


Figura 3.3: Fotografia del campione prima (sinistra) e dopo (destra) il ciclo di liofilizzazione

3.2 Ruolo della temperatura dell'anello *LyoSim*[®]

Il punto di partenza nella sperimentazione eseguita con il *MicroFD* è stato quello di valutare l'effetto che la temperatura dell'anello generava sul prodotto, in particolare sulla sua temperatura media all'interno del lotto. A titolo d'esempio, si può valutare il funzionamento del *LyoSim*[®] confrontando il suo andamento di temperatura con quello del prodotto monitorato in camera, nei tre differenti casi di studio, come in Figura 3.4.

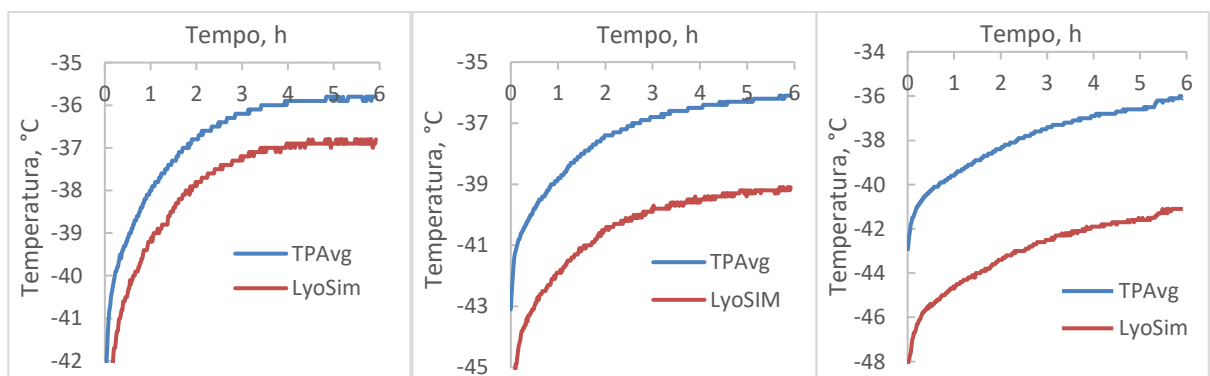


Figura 3.4: Confronto degli andamenti tipici della T_{avg} e della T_{ring} nei tre casi distinti, con differenza di -1, -3 e -5 °C (in ordine da sinistra a destra) tra la prima e la seconda curva

Il setpoint inserito per la T_{ring} non è altro che la temperatura a cui si porta il fluido inviato al *LyoSim*[®]; risulta però che la temperatura realmente percepita dal prodotto è leggermente maggiore, soprattutto per i flaconi posizionati al bordo, per via di una certa dispersione termica attraverso i blocchi metallici, che comunque presentano uno spessore non indifferente. Pertanto, in base a queste considerazioni, bisogna tener conto, per ogni prova, che l'anello può a volte riscaldare il prodotto piuttosto che raffreddarlo. Analizzando l'andamento della temperatura media del prodotto, rappresentato a sinistra in Figura 3.5, si può determinare l'effettivo contributo che l'anello laterale produce. Si è scelta come esempio la sequenza di prove n.1,2,3, svolte nella modalità *Analyze*, utilizzando flaconi *Tubing*, con una $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ ed una $P_c = 60$ mTorr.

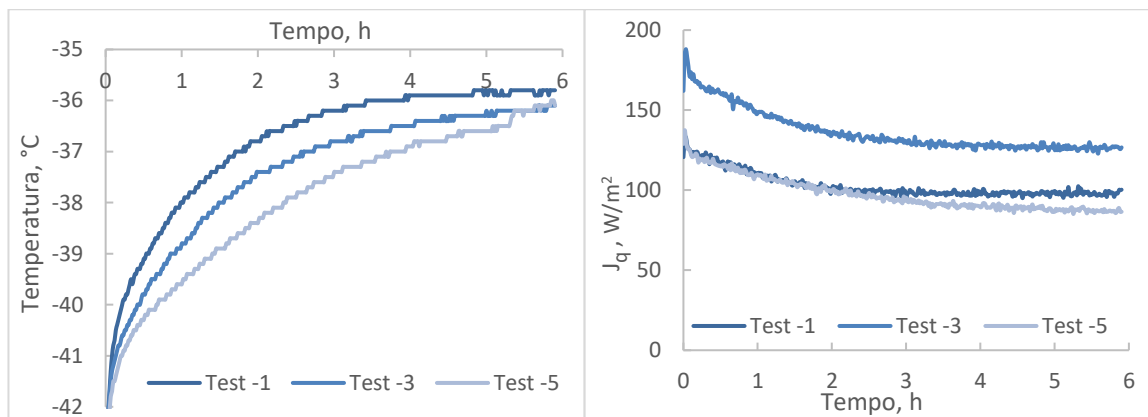


Figura 3.5: Andamento della T_{avg} e del flusso termico durante l'essiccamento primario nelle tre differenti prove al variare della T_{ring}

La curva della T_{avg} risulta essere più bassa al diminuire della T_{ring} , fenomeno che può essere spiegato considerando la natura dell'anello stesso: questo infatti viene utilizzato come ulteriore fonte termica, raffreddando i flaconi di bordo ad una temperatura progressivamente più bassa, rendendo conseguentemente minore la T_{avg} . Inoltre, la pendenza iniziale delle curve è ugualmente ridotta al diminuire della T_{ring} , ad indicare una velocità decrescente per raggiungere un valore stazionario di temperatura, fattore derivante da un maggior gradiente termico generato tra il prodotto e l'anello. Allo stesso tempo, però, viene impiegato maggior tempo per raggiungere tale stazionario: mentre la prova n.1 raggiunge un valore costante dopo circa 4 ore dall'inizio dell'essiccamento primario, la prova n.3, al termine delle 6 ore previste dal ciclo, risulta ancora con trend crescente. Questo effetto comporta una

maggior omogeneità del prodotto all'interno dei flaconi, che si ritrovano per maggior tempo con una temperatura mediamente costante, tanto da evidenziare una minor deviazione standard nella prova n.1, con T_{ring} più alta rispetto alla prova n.3, come mostrato in Tabella 4. La prova n.2 espone invece un evidente discostamento dalle altre due per quanto riguarda la deviazione standard, a dimostrazione che ogni prova è influenzata, oltre che dalle variabili prese in considerazione, da altri parametri incontrollabili. In tabella sono contenuti tutti i risultati ritenuti significativi nell'analisi sperimentale proposta.

Tabella 4: Principali risultati del set di prove eseguito nella modalità Analyze con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60 \text{ mTorr}$, al variare della T_{ring}

Prova	T_{ring}	K_v gravimetrico, $\text{W/m}^2 \text{ K}$	$\%Q$ shelf	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm medio interno, g	Differenza tra esterno ed interno	Dev. standard totale %
1	$T_{avg} -1$	16.82	36.5	0.86	0.879	0.816	0.063	6.30
2	$T_{avg} -3$	16.27	48.2	0.84	0.884	0.781	0.103	14.16
3	$T_{avg} -5$	14.11	38.6	0.75	0.745	0.774	-0.029	9.83

Analizzando nel dettaglio le perdite di peso medie totali valutate nel lotto in esame, è possibile notare un trend decrescente passando da una temperatura dell'anello più alta ad una progressivamente più bassa. L'obiettivo proposto dal *LyoSim*[®], come introdotto inizialmente, è quello di assicurare un'omogeneità tra i flaconi esterni ed interni pertanto, per un'analisi più accurata, è stata considerata separatamente anche la perdita di peso media dei soli flaconi esterni, a stretto contatto con l'anello laterale, e quella dei soli flaconi interni, che invece non sono a contatto, valutandone la differenza. Nella sequenza di prove considerate, si ha un buon risultato in tal senso, essendo la differenza tra la perdita di peso nei flaconi esterni e quella nei flaconi interni molto bassa. In particolare, considerando per il momento solo le prove n.1 e n.3, un abbassamento della temperatura dell'anello laterale ha portato ad una riduzione di tale differenza, arrivando addirittura ad avere una maggior perdita di peso nei flaconi interni che negli esterni. Questo è dovuto presumibilmente al fatto che, raffreddando maggiormente l'anello nella prova n.3 piuttosto che nella n.1, il prodotto contenuto nei flaconi esterni avrà una temperatura

più bassa di quello contenuto nei flaconi interni e pertanto perderà una minor quantità d'acqua durante la sublimazione. Nella prova n.2, invece, questa differenza è discretamente più elevata, portando ad avere una maggior eterogeneità del lotto, effetto che si ripresenta anche nel valore della %Q shelf, la quale risulta nettamente più elevata delle altre due, evidenziando una certa incongruenza, ma che è strettamente legata al valore del flusso termico proveniente dal ripiano che, come si evidenzia in Figura 3.5 risulta decisamente più alto che nelle altre due prove. La %Q shelf è stata valutata in ogni prova al fine di confrontare il valore del coefficiente K_v gravimetrico, stimato tramite la perdita di peso riportata, con quello misurato sperimentalmente dal *MicroFD*. A tal scopo è bene specificare che in tutte le prove risulta una certa uguaglianza tra i due valori, a meno di una piccola percentuale di errore (inferiore all'1%), presumibilmente dovuta all'incertezza di calcolo dell'integrale con cui vengono calcolati sia il K_v gravimetrico sia la %Q shelf, pertanto verrà preso in considerazione nei risultati soltanto una volta. Il coefficiente di scambio termico risulta più alto nella prova n.1, diminuendo leggermente nella n.2 e notevolmente nella n.3, comportando un peggior scambio termico con il prodotto e, conseguentemente, una minor perdita media di peso. Questo effetto è intrinsecamente legato a quello visto precedentemente per la temperatura del prodotto: un maggior scambio di calore dal ripiano verso il prodotto non produce altro che un innalzamento della sua temperatura.

Una volta calcolati i coefficienti di scambio K_v sono state ricavate le curve R_p vs L_{dried} , messe a confronto in Figura 3.6, a partire dal flusso di materia e dal gradiente di pressione.

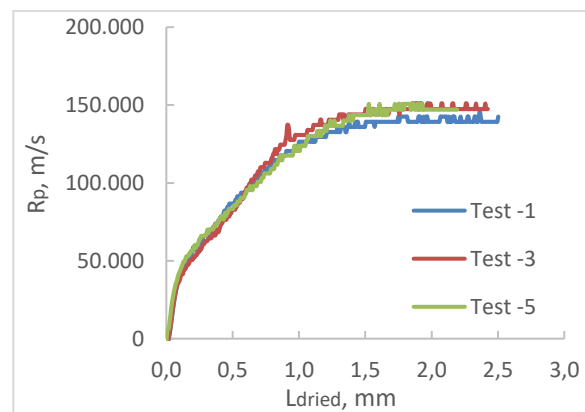


Figura 3.6: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p in funzione dello strato essiccato L_{dried} , nelle prove n.1,2,3, con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60 \text{ mTorr}$ costanti, e T_{ring} variabile

Le tre curve risultano quasi sovrapposte, ad indicare che la temperatura dell'anello laterale non influenza particolarmente il coefficiente di resistenza R_p , come è giusto aspettarsi dato che in tutte e tre le prove il prodotto si mantiene al di sotto della sua temperatura di collasso T_c .

A questo punto è stato possibile utilizzare il modello matematico per la convalida dei risultati: ottenuti i dati misurati e confrontati con quelli sperimentali, si è giunti alla conclusione che il modello usato rappresenta molto accuratamente l'andamento di tali prove; inoltre, le une dalle altre, non evidenziano particolari differenze pertanto viene mostrata una sola di queste, in Figura 3.7. I valori ottenuti sono confrontati sulla base della temperatura monitorata dalla termocoppia TC2 che, all'interno della camera, occupa la posizione centrale. Come si evince, gli andamenti della temperatura del prodotto, del flusso di materia e dello spessore di ghiaccio residuo, durante la fase di essiccamento primario, seguono perfettamente i dati calcolati, confermando la buona omogeneità delle prove.

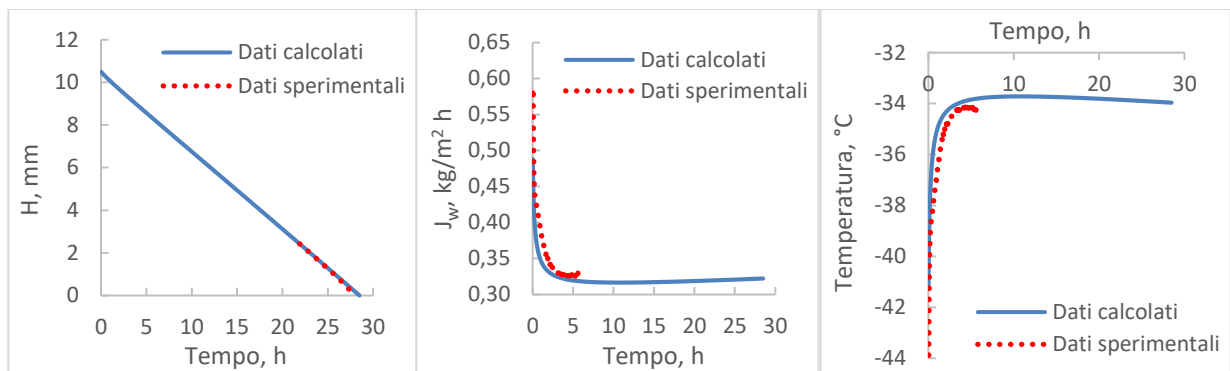


Figura 3.7: Convalida dei dati sperimentali ottenuti nel MicroFD con quelli calcolati dal modello matematico, nella prova n.1: $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$, $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$

3.3 Ruolo del numero e posizione delle termocoppie

Nel corso della sperimentazione, sono state effettuate diverse prove identiche in cui si è valutato solamente l'effetto che un diverso numero e posizionamento delle termocoppie sul ripiano potesse avere sul processo globale e sui risultati desiderati. Inizialmente, dei 19 flaconi totali 6 sono stati monitorati tramite termocoppia e sparsi all'interno della camera in modo tale da verificare che in ogni punto del ripiano il prodotto percepisse lo stesso flusso termico e, quindi, presentasse lo stesso andamento di temperatura. A titolo d'esempio viene mostrato, in Figura 3.8, il profilo

delle temperature per ogni flacone monitorato nella prova n.1; nelle altre (n.2 e n.3) la situazione è pressoché analoga.

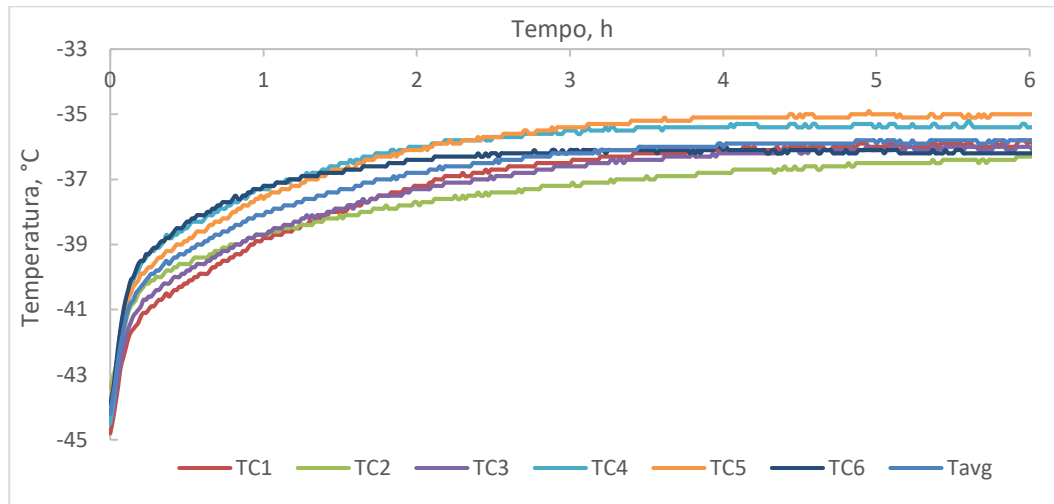


Figura 3.8: Andamento della temperatura del prodotto nei diversi flaconi monitorati dalle sei termocoppie e della temperatura media totale, nella prova n.1 con $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$

Le temperature, considerando la disposizione delle termocoppie mostrata in Figura 3.1, hanno una differenza massima di 1.5°C durante la fase di essiccamento primario, nonostante seguano tutte lo stesso andamento nel tempo. In particolare, la TC2, corrispondente al flacone posizionato esattamente al centro del ripiano, risulta avere la temperatura minima, mentre quelli di bordo presentano una temperatura maggiore, come è giusto aspettarsi in questa situazione. Dato che, come detto precedentemente, la T_{ring} impostata a -1°C rispetto alla T_{avg} essenzialmente riscalda il prodotto con cui entra in contatto, la TC2 risulta meno influenzata da questo effetto, essendo schermata dagli altri flaconi presenti.

La decisione di effettuare le successive prove con un minor numero di termocoppie dipende fondamentalmente da un fattore di rischio. Ogni termocoppia può fornire un segnale leggermente alterato da elementi incontrollabili, che possono ad esempio essere legati allo spostamento del sensore all'interno del flacone durante la fase di essiccamento, venendo a mancare la stabilità fornita dallo strato di ghiaccio. Questo significa che, maggiore è il numero di termocoppie inserite, maggiore è la percentuale di errore accumulata, che andrebbe a riflettersi sull'esito della prova, poiché da questa dipenderà il valore della T_{avg} e, secondariamente, sui parametri che da essa dipendono.

La scelta, invece, per il posizionamento delle termocoppie in camera, deriva dal fatto che il *LyoSim*[®] debba contribuire all'omogeneità del lotto, rendendo la storia termica dei flaconi di bordo simile, se non uguale, a quella dei flaconi centrali. Risulta più corretto, infatti, che il monitoraggio della temperatura venga effettuato sui soli flaconi interni, in modo che l'anello, simulando il loro comportamento, riesca nel suo scopo.

A dimostrazione di quanto detto, in Figura 3.9, viene mostrato l'andamento della temperatura media del prodotto nel tempo durante le tre prove eseguite a parità di tutte le condizioni (T_{shelf} , P_c , T_{ring}), cambiando solamente la configurazione dei flaconi in camera, passando da 6 TC sparse, a 5 TC centrali, a 2 TC centrali. Pur mantenendo la temperatura dell'anello costante nei tre casi, risulta ugualmente una differenza, seppur minima, nel valore di stazionario raggiunto dalla T_{avg} : risulta più alta nella prova eseguita con solo 2 termocoppie posizionate al centro del ripiano, migliorando lo scambio termico. Analizzando invece le singole configurazioni, sia quella con 5 TC centrali che quella solo con 2 TC centrali, le prove hanno evidenziato differenze poco significative nella temperatura media del prodotto al variare della T_{ring} .

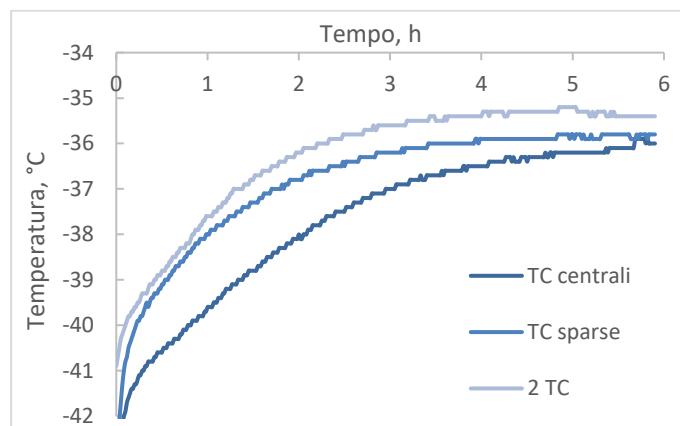


Figura 3.9: Andamento della T_{avg} al variare della disposizione e numero di termocoppie utilizzate, in prove con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$, $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$

Situazione analoga si presenta nell'analisi dei coefficienti di scambio termico e delle perdite di peso, esposte in Tabella 5, dove verranno considerati i risultati ottenuti dalle prove n.4-5-6, effettuate con 5 termocoppie centrali, e dalle prove n.7-8-9, effettuate invece con 2 sole termocoppie centrali, nelle stesse condizioni di

temperatura (ripiano e anello) e pressione, avendo già approfondito i risultati delle altre tre nel precedente paragrafo. Il trend decrescente nel valore del coefficiente di scambio K_v e della perdita di peso si ripresenta nuovamente, indicando il corretto funzionamento del *LyoSim*[®] nel raffreddare adeguatamente il prodotto. Così anche la differenza nella perdita di peso tra i flaconi esterni ed interni, segue l'andamento evidenziato in precedenza, almeno nelle prove n.4-5-6, ovvero un attenuamento al diminuire della T_{ring} , effetto che non si presenta invece nell'altra sequenza di prove (n.7-8-9), poiché il primo dei tre test (n.7) mostra una perdita di peso media nei flaconi interni leggermente maggiore di quanto ci si aspetterebbe: viene garantita comunque, nel caso di 2 sole TC centrali, una omogeneità migliore che nelle altre due configurazioni precedenti.

Tabella 5: Principali risultati dei set di prove eseguite nella modalità Analyze con $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$ e $P_c = 60$ mTorr, nelle tre impostazioni della T_{ring} , al variare del numero di termocoppie

<i>Prova</i>	T_{ring}	K_v gravimetrico, $W/m^2 K$	$\%Q$ shelf	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm medio interno, g	Differenza tra esterno ed interno	Dev. standard totale %
4	$T_{avg} -1$	15.8	43	0.84	0.86	0.806	0.054	7.7
5	$T_{avg} -3$	15.61	43.1	0.815	0.831	0.787	0.044	7.2
6	$T_{avg} -5$	15.26	42.9	0.813	0.819	0.802	0.017	5.23
7	$T_{avg} -1$	17.227	32.2	0.842	0.8206	0.8303	-0.0097	6.95
8	$T_{avg} -3$	16.484	31.4	0.81	0.818	0.792	0.026	7.88
9	$T_{avg} -5$	16.47	58.1	0.787	0.7904	0.781	0.0094	6.88

I valori del coefficiente K_v risultanti dalla sequenza di prove effettuate con le 5 TC centrali si mostrano minori di quelli ottenuti con la configurazione a 6 TC sparse, nelle rispettive prove a parità di T_{ring} , eccetto che nell'ultima dove invece si ha un ribaltamento e risulta essere più basso con il posizionamento sparso in camera. Questo effetto rispecchia pienamente l'andamento della temperatura media del prodotto, che risultava più attenuato nelle prove con configurazione centrale piuttosto che quella sparsa. Dall'altro lato, nella sequenza di prove con sole 2 TC centrali, i coefficienti di scambio termico esibiscono un valore maggiore di quelli ottenuti nelle

analoghe prove con 6 TC sparse, sempre in collegamento con ciò che prevedeva il valore della T_{avg} raggiunto.

Una volta noti i coefficienti di scambio K_v e le temperature medie del prodotto, sono state tracciate le curve del coefficiente di resistenza R_p in funzione di L_{dried} , nelle prove prese in esame al variare del numero di termocoppie utilizzate, in Figura 3.10, considerando come temperatura quella monitorata dalla termocoppia TC2, posizionata nel flacone al centro del ripiano. La differenza rilevata tra le curve, specialmente nel caso della configurazione con 5 termocoppie centrali, è dovuta all'incertezza di misura: essendo la temperatura del prodotto monitorata simile (sempre al di sotto della temperatura di collasso T_c), ci si aspetterebbe infatti curve sovrapposte, come nella precedente configurazione con 6 termocoppie sparse, o comunque vicine tra loro. E' interessante notare che nel passaggio da questa configurazione a quella con 2 sole TC centrali, tale differenza si riduca, indice di una minore incertezza e, quindi, una maggior omogeneità del lotto.

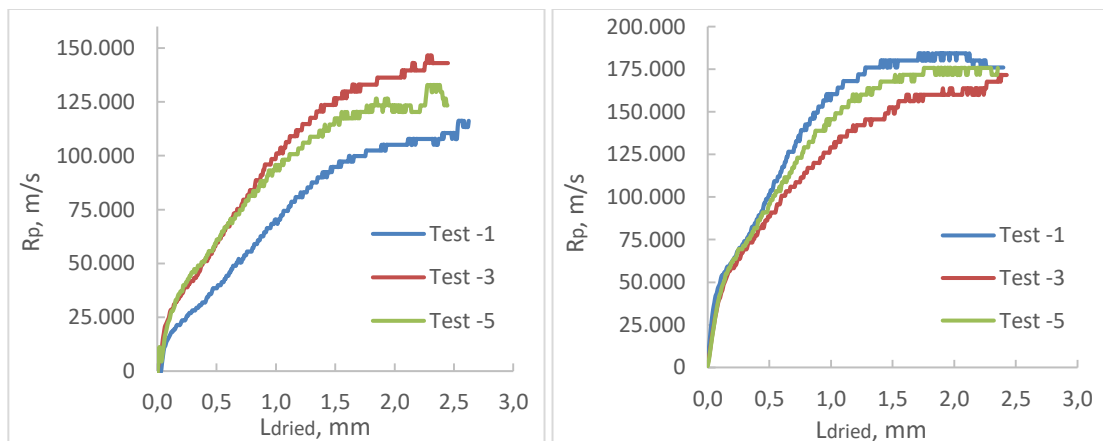


Figura 3.10: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della T_{ring} nelle prove effettuate a $P_c=60$ mTorr e $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$, con 5 TC centrali (a sinistra) e 2 TC centrali (a destra)

Il modello matematico, applicato a queste sequenze di prove prese in esame, mostra un buon risultato, riuscendo ancora una volta a stimare i dati sperimentali con ottima approssimazione. In particolare, i dati misurati tramite il modello, risultano molto simili sia nel caso in cui si utilizzino 5 TC centrali che solo 2 TC centrali, come si evidenzia in Figura 3.11, specialmente se si guarda alle curve dello spessore di ghiaccio residuo, le quali sono praticamente identiche.

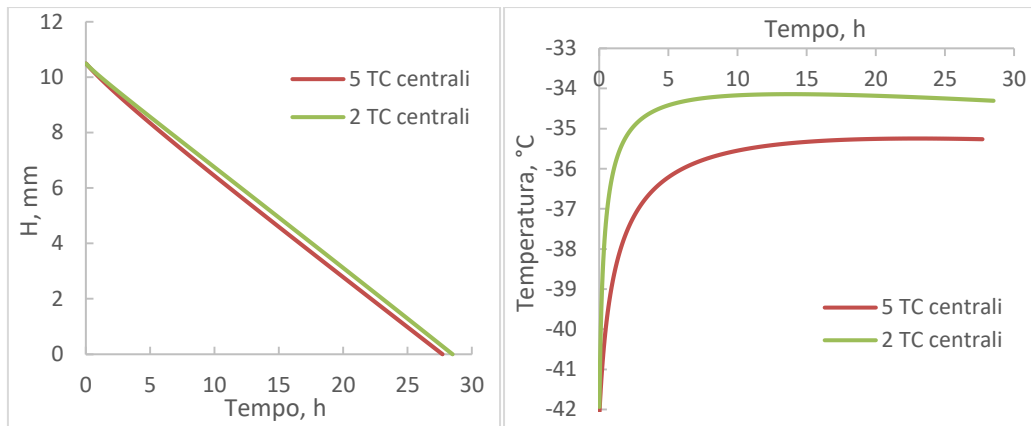


Figura 3.11: Confronto dei dati misurati con il modello matematico al variare del numero di termocoppie, a parità di T_{shelf} , P_c e T_{ring}

3.4 Ruolo della temperatura del ripiano

Dal punto di vista termodinamico la temperatura del ripiano gioca un ruolo molto importante nel processo di liofilizzazione poiché aumenta notevolmente la velocità di sublimazione del ghiaccio all'interno dei flaconi, incrementando il flusso termico inviato al prodotto. Per tal motivo la sperimentazione ha previsto uno studio approfondito sugli effetti della temperatura, passando dalla temperatura di -20°C a quella di 0°C ; un set di prove con una temperatura intermedia di -10°C è stato effettuato per verificare che l'andamento dei vari parametri in gioco rispetto alla temperatura venisse rispettato. Per far sì che solo un parametro per volta influenzi il processo, le prove n.10-11-12, ovvero quelle con $T_{shelf} = -10^{\circ}\text{C}$, sono state confrontate solo con le prove n.4-5-6, dato l'ugual numero di termocoppie utilizzate, in Figura 3.12. Le prove con $T_{shelf} = 0^{\circ}\text{C}$, invece, sono confrontate con le prove n.7-8-9, per motivazione analoga alle precedenti.

Partendo dal primo confronto, è indispensabile considerare la differenza che si presenta nel flusso termico scambiato tra il ripiano ed il prodotto, che quasi raddoppia in valore nel passaggio da una $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ ad una di -10°C ; effetto che si ripercuote, come è logico aspettarsi, anche sulla T_{avg} che aumenta discretamente, per via anche di un maggior gradiente termico che si genera tra le due fonti.

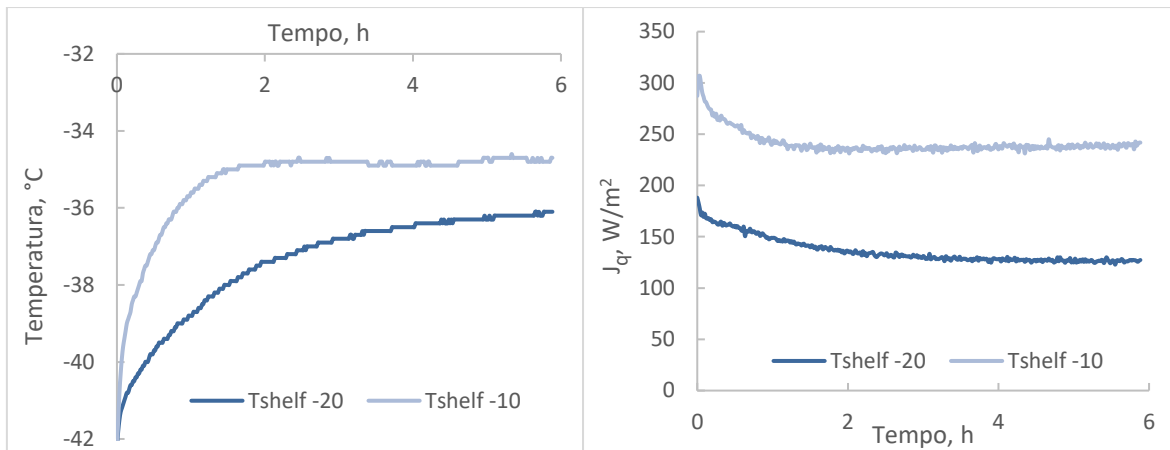


Figura 3.12: Confronto degli andamenti della T_{avg} e del flusso termico per diverse T_{shelf} (-20 e -10°C) a parità di $P_c=60$ mTorr e $T_{ring}=T_{avg}-1^{\circ}\text{C}$

In Tabella 6, si nota il classico andamento al diminuire della T_{ring} per quanto riguarda il coefficiente di scambio termico K_v e la perdita di peso media totale, oltre che la sola perdita media interna ed esterna, mostrando, anche se non regolarmente, una differenza tra le due molto bassa. Le deviazioni standard, invece, risultano piuttosto alte nelle prove con $T_{shelf} = -10^{\circ}\text{C}$, sintomo del fatto che le termocoppie sono in numero elevato, provocando errori e disuniformità nel lotto, e hanno probabilmente contribuito a questo innalzamento. Confrontando questi valori con quelli ottenuti nelle analoghe prove con una temperatura del ripiano più bassa, l'elemento più evidente che si nota è il netto aumento della perdita di peso media nel lotto, quasi il doppio rispetto al caso precedente, contribuendo pertanto ad un notevole miglioramento nell'efficienza del processo, che porterebbe ad avere una diminuzione significativa della durata del ciclo di liofilizzazione. In particolare, puntando l'attenzione sulle differenze relative tra perdite di peso esterne ed interne, si nota che i flaconi interni subiscono maggiormente l'influenza della temperatura del ripiano rispetto ai flaconi di bordo che, invece, sono influenzati anche dall'anello laterale.

Rilevante anche la differenza nella %Q shelf, leggermente più alta dove la T_{shelf} è maggiore, come è logico aspettarsi: maggiore è la temperatura del ripiano, maggiore sarà il calore che questo può fornire al prodotto dal basso, raggiungendo una percentuale persino superiore al 50% e diventando il contributo preponderante per il riscaldamento del prodotto. Questo potrebbe, inoltre, essere il motivo per il quale l'anello in questa circostanza non influenza apprezzabilmente la T_{avg} .

Tabella 6: Principali risultati nei set di prove eseguiti per differente T_{shelf} (-20 e -10°C) nella modalità Analyze, con 5 TC centrali, $P_c = 60$ mTorr, nelle tre differenti T_{ring}

Prova	T_{ring}	K_v gravimetrico, W/m^2K	%Q shelf	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm medio interno, g	Differenza tra esterno ed interno	Dev. standard totale %
4	$T_{avg} -1$	15.8	43	0.84	0.86	0.806	0.054	7.7
5	$T_{avg} -3$	15.61	43.1	0.815	0.831	0.787	0.044	7.2
6	$T_{avg} -5$	15.26	42.9	0.813	0.819	0.802	0.017	5.23
10	$T_{avg} -1$	19.04	41.6	1.41	1.395	1.437	-0.042	13.1
11	$T_{avg} -3$	16.8	57.6	1.28	1.30	1.28	0.02	10.84
12	$T_{avg} -5$	15.16	47.7	1.15	1.14	1.179	-0.039	11.63

Dal secondo confronto, quanto finora detto viene ad essere accentuato ulteriormente. Il flusso termico, rappresentato in Figura 3.13, è persino tre volte più elevato aumentando la temperatura del ripiano da -20 a 0°C, e la temperatura media del prodotto ne subisce le stesse conseguenze analizzate precedentemente. Risulta infatti avere un valore più di 1°C superiore rispetto a quanto si presentava con una T_{shelf} più bassa; nonostante questo aumento consistente del gradiente termico, il prodotto non mostra segni di denaturazione dovuti a micro-collapsi della struttura, poiché non viene superata la temperatura di collasso T_c .

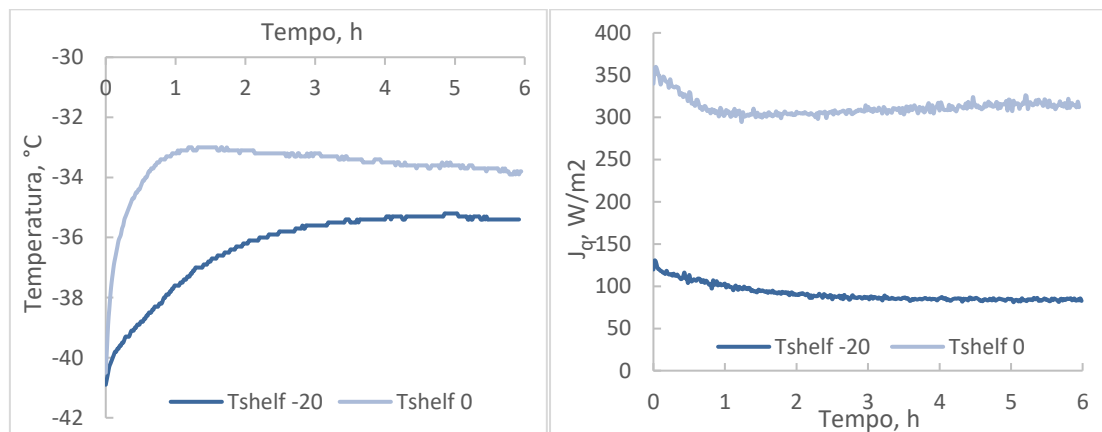


Figura 3.13: Confronto degli andamenti della T_{avg} e del flusso termico per differente T_{shelf} , a parità di $P_c=60$ mTorr e $T_{ring}=T_{avg} -1^\circ C$

Anche in questa sequenza di prove non si hanno rilevanti effetti della temperatura dell'anello laterale sulla temperatura media del prodotto, pertanto viene proposto solo uno dei tre casi con T_{ring} pari a -1°C rispetto alla T_{avg} : sintomo ancora una volta dell'influenza preponderante della temperatura del ripiano rispetto alle altre fonti termiche. Risulta stavolta una minor influenza della T_{shelf} sul coefficiente di scambio K_v , in Tabella 7, che rimane pressappoco uguale in tutta la sequenza di tre prove eseguito a $T_{shelf} = 0^{\circ}\text{C}$ al variare della T_{ring} , così come la perdita di peso media totale; effetti probabilmente legati alla scarsa divergenza dei valori di T_{avg} che, come detto, non variano con la temperatura dell'anello. I bassi valori di deviazione standard e le differenze individuate tra le perdite di peso, esterne ed interne, comunque evidenziano un buon successo delle prove, dal punto di vista dell'omogeneità del lotto.

Tabella 7: Principali risultati nei set di prove eseguiti per differente T_{shelf} (-20 e 0°C) nella modalità Analyze, con 2 TC centrali, $P_c = 60$ mTorr, nelle tre differenti T_{ring}

<i>Prova</i>	<i>T_{ring}</i>	<i>K_v</i> <i>gravimetrico,</i> <i>W/m²K</i>	<i>%Q</i> <i>shelf</i>	<i>Δm</i> <i>medio</i> <i>totale, g</i>	<i>Δm medio</i> <i>esterno, g</i>	<i>Δm medio</i> <i>interno, g</i>	<i>Differenza</i> <i>tra esterno</i> <i>ed interno</i>	<i>Dev.</i> <i>standard</i> <i>totale %</i>
7	$T_{avg}-1$	17.22	32.2	0.84	0.82	0.83	-0.01	6.95
8	$T_{avg}-3$	16.48	43.1	0.815	0.831	0.787	0.044	7.2
9	$T_{avg}-5$	16.47	58.1	0.787	0.79	0.781	0.009	6.88
13	$T_{avg}-1$	15.78	60	1.58	1.6	1.552	0.048	5.55
14	$T_{avg}-3$	16.27	50.1	1.58	1.602	1.56	0.042	4.42
15	$T_{avg}-5$	15.25	55.6	1.55	1.527	1.581	-0.054	3.57

La considerazione fatta precedentemente sulla %Q shelf è ancora valida: sono stati ottenuti valori notevolmente più alti in media rispetto alle altre prove, effetto legato intrinsecamente all'enorme crescita del flusso termico visto precedentemente. Passando alla determinazione dei coefficienti di resistenza R_p in funzione dello strato secco, le considerazioni sono pressoché analoghe a quelle analizzate nel precedente confronto, premettendo che i valori sono determinati sulla base della temperatura monitorata dalla sola termocoppia centrale, TC2. Il confronto delle curve R_p vs L_{dried}

nelle due differenti sequenze evidenziano un andamento regolare, con tendenza ad aumentare al diminuire del valore del K_v , più marcatamente nel primo caso ($T_{shelf}=-10^{\circ}\text{C}$) e meno nel secondo ($T_{shelf}=0^{\circ}\text{C}$). Si evince inoltre un altro importante fenomeno guardando con attenzione ciò che accade al coefficiente R_p all'aumentare solamente della T_{shelf} , in Figura 3.14, dove vengono confrontate le relative curve considerando analoghe prove sperimentali con $T_{ring} = T_{avg} - 5^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60$ mTorr.

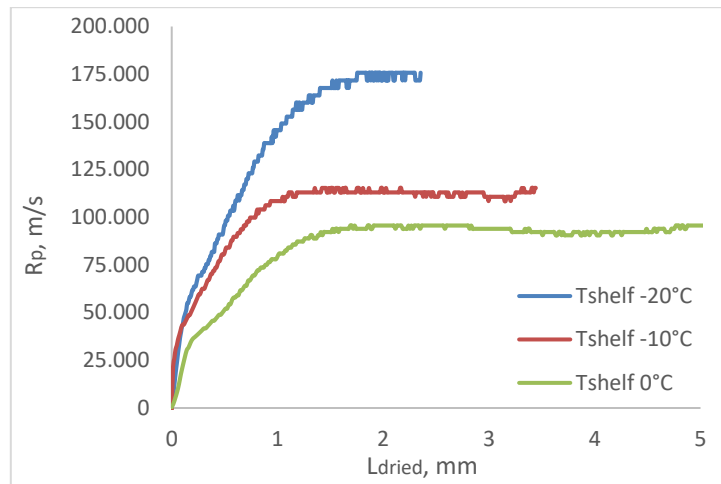


Figura 3.14: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della T_{shelf} , a parità di P_c e T_{ring}

L'effetto della temperatura del ripiano è quello di schiacciare la curva R_p vs L_{dried} verso il basso, diminuendo quindi la resistenza al trasporto del vapore all'interno del prodotto ed aumentando lo spessore di strato essiccato durante la sublimazione. Questo effetto è talmente marcato che, mentre nella prova sperimentale con $T_{shelf}=-20^{\circ}\text{C}$ sublimano poco più di 2 mm di ghiaccio nelle 6 ore previste di essiccamento primario, con T_{shelf} pari a 0°C si arriva persino a 5 mm, passando quindi da un prodotto che ha perso il 20-25% del ghiaccio inizialmente presente ad uno che ne ha perso quasi il 50%. L'abbassamento rinvenuto della resistenza del prodotto può essere spiegato considerando che l'aumento di temperatura del prodotto, dovuto all'aumento della T_{shelf} , ha provocato micro-collapsi nella struttura del saccarosio e questo ha causato la riduzione del valore di R_p .

Si riscontra lo stesso risultato, a conferma di quanto detto, confrontando i dati ottenuti dal modello matematico, in Figura 3.15, in cui sono stati inseriti i valori di K_v e R_p calcolati, per due prove sperimentali eseguite con $P_c = 60$ mTorr e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costanti, al variare della sola T_{shelf} . Aumentando quest'ultimo parametro, la

T_b misurata risulta più elevata, come constatato precedentemente anche per la temperatura media; così anche l'andamento dello spessore di ghiaccio residuo nel flacone subisce una consistente variazione al passaggio da una T_{shelf} di -20°C ad una di 0°C : risulta infatti un dimezzamento della durata necessaria al completo essiccamento del prodotto.

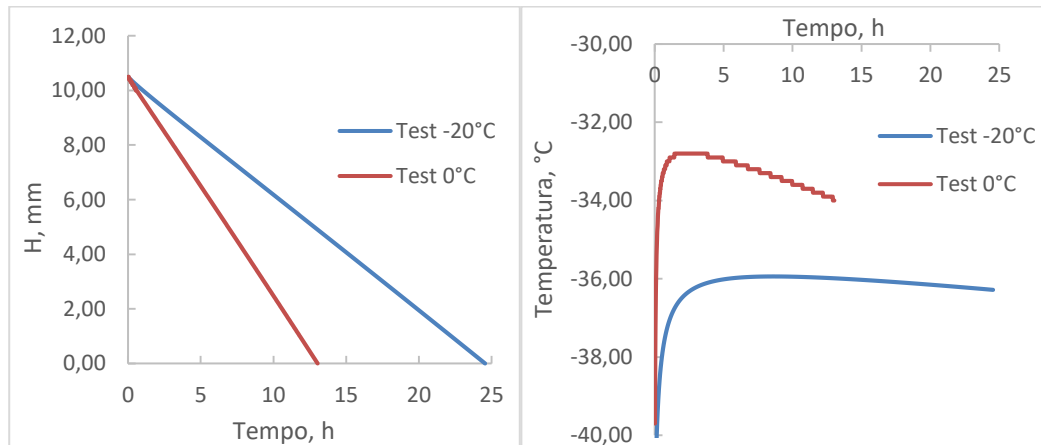


Figura 3.15: Confronto dei dati misurati con il modello matematico al variare della T_{shelf} , a parità di P_c e T_{ring}

3.5 Ruolo della pressione

Analogamente alla temperatura, anche la pressione della camera gioca un ruolo fondamentale dal punto di vista termodinamico nel processo di liofilizzazione, specificamente per la fase di essiccamento. La pressione infatti ha effetto sia sul flusso di materia, che viene diminuito al suo aumentare, a parità di temperatura del prodotto, sia sul flusso di calore, che viene aumentato al suo aumentare, a causa dell'incremento della conducibilità termica nel meato tra ripiano riscaldante e fondo del flacone; la combinazione di questi due effetti porta a risultati interessanti dal punto di vista sperimentale. Un primo contributo è evidente in Figura 3.16, dove vengono considerati come esempi due distinti confronti al variare della pressione in camera: tra le sequenze di prove con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e quelle con $T_{shelf} = 0^{\circ}\text{C}$, si presenta lo stesso andamento nella T_{avg} e nel flusso termico, in tutte le tre configurazioni di T_{ring} . La temperatura media del prodotto non subisce variazioni significative, poiché non influenzata particolarmente dalla pressione, come invece accade per il flusso termico, che invece subisce un innalzamento nel valore

raggiunto, più marcato nel primo caso rispetto al secondo, dove entra in gioco anche l'effetto della temperatura del ripiano.

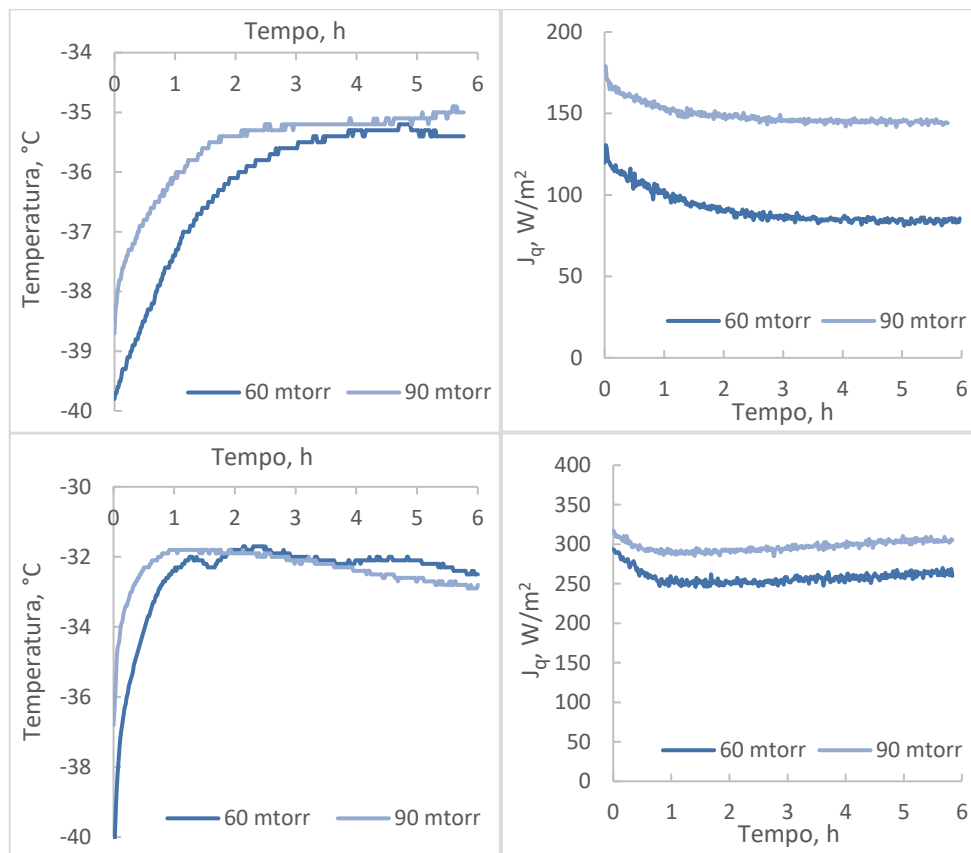


Figura 3.16: Confronto degli andamenti della T_{avg} e del flusso termico a differente P_c nel caso di $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$ (sopra) e $T_{shelf} = 0^\circ\text{C}$ (sotto), con $T_{ring} = T_{avg} - 1^\circ\text{C}$ costante

I coefficienti di scambio termico K_v , elencati in Tabella 8, presentano il classico andamento decrescente al diminuire della T_{ring} , questo effetto non viene a mancare con l'incremento di pressione; risultano inoltre avere valori maggiori del 10-15% rispetto ai corrispettivi nelle prove a pressione minore. In egual proporzione anche i Δm misurati risultano leggermente più elevati passando dai 60 mTorr ai 90 mTorr. In particolare, la prova n.16 con $T_{ring} = T_{avg} - 1^\circ\text{C}$ presenta una perdita nei flaconi esterni più alta del 10% rispetto alla perdita di peso in quelli interni, così come nella prova n.18 con $T_{ring} = T_{avg} - 5^\circ\text{C}$ dove stavolta sono i flaconi interni a perdere più di quelli esterni, presumibilmente perché l'anello ha raffreddato eccessivamente i flaconi di bordo. La situazione intermedia tra le due, corrispondente alla prova n.17, invece, sembra essere la soluzione migliore per ottenere una buona omogeneità del lotto,

fattore dimostrato anche dalla minore deviazione standard raggiunta rispetto alle due prove della sequenza.

Tabella 8: Principali risultati nella sequenza di prove eseguita nella modalità Analyze, con 2 TC centrali, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 90 \text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}

Prova	T_{ring} $^{\circ}\text{C}$	K_v gravimetrico, $\text{W}/\text{m}^2\text{K}$	%Q shelf	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm medio interno, g	Differenza esterno ed interno	Dev. standard totale %
16	$T_{avg} - 1$	20.01	48.5	0.9	0.938	0.839	0.099	10.36
17	$T_{avg} - 3$	19.77	51.7	0.85	0.867	0.831	0.036	5.99
18	$T_{avg} - 5$	18.33	47.1	0.86	0.833	0.909	-0.076	11.23

Il coefficiente di resistenza al trasporto di vapore R_p dipende fortemente dai valori della temperatura del prodotto durante la fase di essiccamento, i quali dipendono a loro volta dalla pressione raggiunta in camera: ci si aspetta pertanto una variazione non trascurabile nei valori raggiunti dal coefficiente di resistenza. Per il calcolo e confronto delle curve R_p vs L_{dried} si è considerata la temperatura del prodotto monitorata dalla TC2, flacone centrale nella camera, nelle due condizioni di T_{shelf} , -20°C e 0°C , i cui andamenti, a fini d'esempio, sono mostrati in Figura 3.17. Si può evidenziare, nel caso di T_{shelf} pari a 0°C , che la temperatura limite legata al collasso del saccarosio viene oltrepassata già alle prime ore di inizio sublimazione, causando micro-collapsi nella struttura; mentre, con una temperatura del ripiano minore, questo fenomeno è ben lontano dal verificarsi.

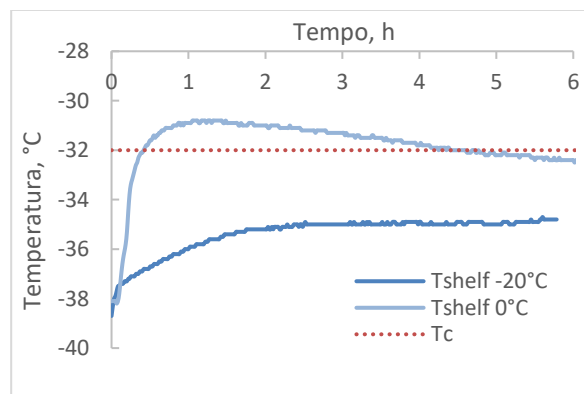


Figura 3.17: Andamento delle temperature monitorate dalla TC2 al variare della T_{shelf} , a parità di $P_c = 90 \text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$, confrontate con la T_c del prodotto

Quanto visto per il prodotto viene a riflettersi, come detto, sugli andamenti del coefficiente di resistenza R_p , rappresentati in Figura 3.18: si nota, nella prova effettuata con $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$, un decremento di circa il 60% nel valore di resistenza raggiunto allo stato stazionario della fase di essiccamento primario, possibilmente per via dell'aumento di flusso termico già verificato precedentemente. Nella prova con $T_{shelf} = 0^\circ\text{C}$, invece, il coefficiente di resistenza R_p inizia a decrescere, a confermare la presenza di micro-collassi nella struttura del saccarosio, per il superamento della sua temperatura di collasso T_c .

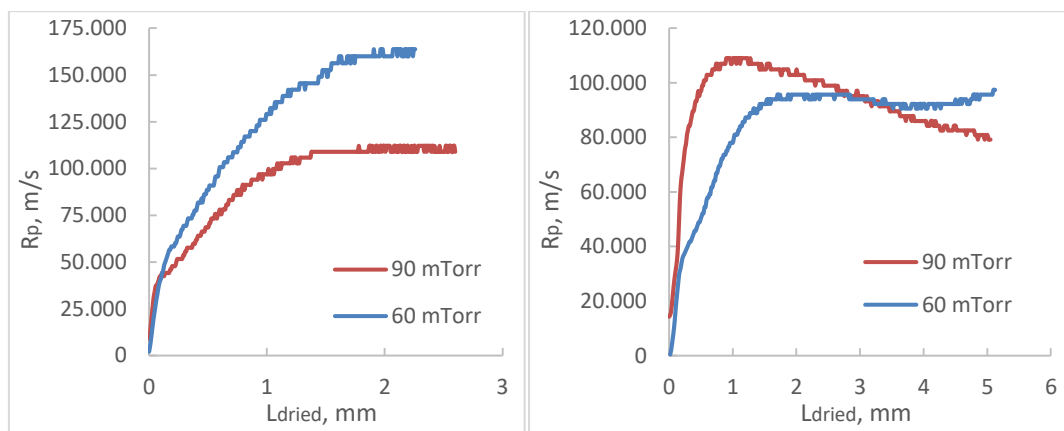


Figura 3.18: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della P_c , con $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$ (a sinistra) o $T_{shelf} = 0^\circ\text{C}$ (a destra), a parità di $T_{ring} = T_{avg} - 3^\circ\text{C}$

Questo fenomeno può essere dovuto alla presenza congiunta dei due contributi di pressione e temperatura più elevati rispetto alle classiche condizioni “soft”, ed il sistema, o più specificamente il prodotto, si ritrova sotto uno stress eccessivo, cedendo. In generale, comunque, si ha un effetto positivo della pressione prevalentemente per la fase di sublimazione, che sarà leggermente accelerata al crescere della stessa grazie alla minor resistenza del *cake* al flusso di vapore raggiunta, comportando inoltre un leggero aumento dello strato essiccato. L'applicazione del modello matematico monodimensionale funge da ulteriore prova a quanto detto: con i valori di K_v e R_p misurati nelle due condizioni di pressione della camera risulta, in Figura 3.19, un decremento di circa il 10-15% della durata necessaria alla completa disidratazione del prodotto, sia per bassi valori di T_{shelf} che per gli alti valori.

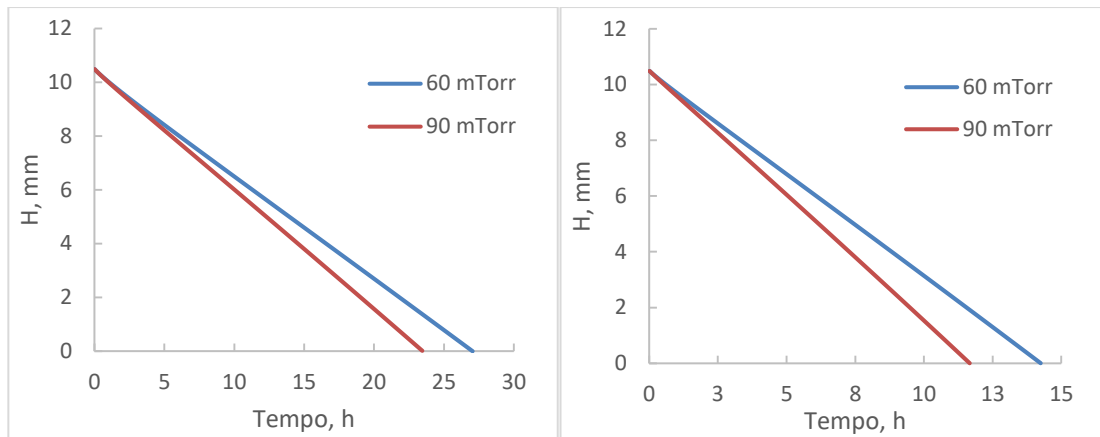


Figura 3.19: Confronto delle altezze residue di ghiaccio in funzione del tempo al variare della P_c , a parità di $T_{ring}=T_{avg} - 1^\circ\text{C}$, $T_{shelf}=-20^\circ\text{C}$ (sinistra) e $T_{shelf}=0^\circ\text{C}$ (destra)

3.6 Ruolo della nucleazione controllata

Affrontate le prove sperimentali con la modalità *Analyze*, analizzando le conseguenze che la pressione, la temperatura del ripiano o quella dell'anello potessero avere sul processo di liofilizzazione e sui principali i parametri del modello matematico, si è passati alla parte di campagna sperimentale associata alla modalità *Optimize*. Lo scopo di ciò è stato fondamentalmente quello di esaminare il comportamento del sistema in seguito al processo di nucleazione controllata, diversamente da quanto avveniva nelle precedenti prove dove la nucleazione si scatenava casualmente in ogni flacone a tempi e temperature differenti. In questo paragrafo, pertanto, verranno confrontate le sequenze di prove ripetute nella modalità *Optimize* con quelle analoghe nella modalità *Analyze*, la cui analisi non verrà più approfondita. Non tutte le sequenze sono state ripetute: sono infatti state selezionate solo quelle più significative dal punto di vista della sperimentazione, ovvero quelle al variare della sola pressione e della sola temperatura del ripiano o entrambe, in cui sono sempre state inserite due sole termocoppie posizionate al centro.

Si è inizialmente verificato, in Figura 3.20, come si comportasse la temperatura del prodotto monitorata, in seguito al fenomeno di nucleazione controllata e che, al variare della T_{ring} , la T_{avg} seguisse lo stesso trend che si era verificato nelle analoghe prove con la nucleazione spontanea.

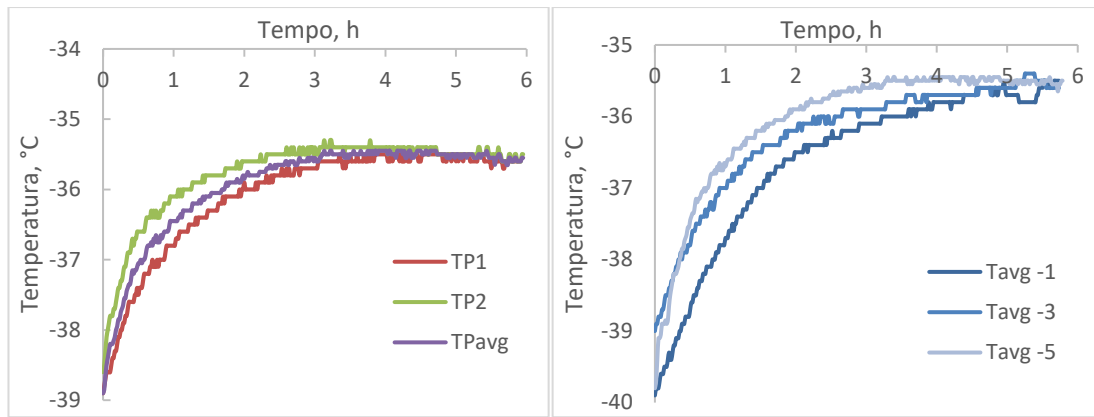


Figura 3.20: Confronto degli andamenti delle TC nella prova con $T_{ring} = T_{avg} - 5^{\circ}\text{C}$ (sinistra) e degli andamenti della T_{avg} al variare della T_{ring} (destra) in prove effettuate con la modalità Optimize, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60 \text{ mTorr}$

Partendo dalla sequenza di prove “soft”, con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60 \text{ mTorr}$, si rileva subito un miglioramento rispetto alle precedenti condizioni: aver fatto avvenire la nucleazione controllata nei flaconi in camera, ha portato gli stessi a seguire la stessa storia termica sin dall’inizio dell’effettiva fase di congelamento post-nucleazione. Guardando nel dettaglio la singola prova, nel caso dell’esempio con $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$, sia l’intera sequenza di prove al variare della T_{ring} , si arriva ad avere lo stesso valore di temperatura allo stato stazionario, o comunque con un errore trascurabile dovuto all’incertezza di misurazione.

Confrontati, in seguito, i valori ottenuti da queste prove con gli stessi della sperimentazione eseguita senza nucleazione controllata, come in Figura 3.21, si evidenzia una scarsa influenza sulla T_{avg} , più marcata invece sul flusso di calore J_q .

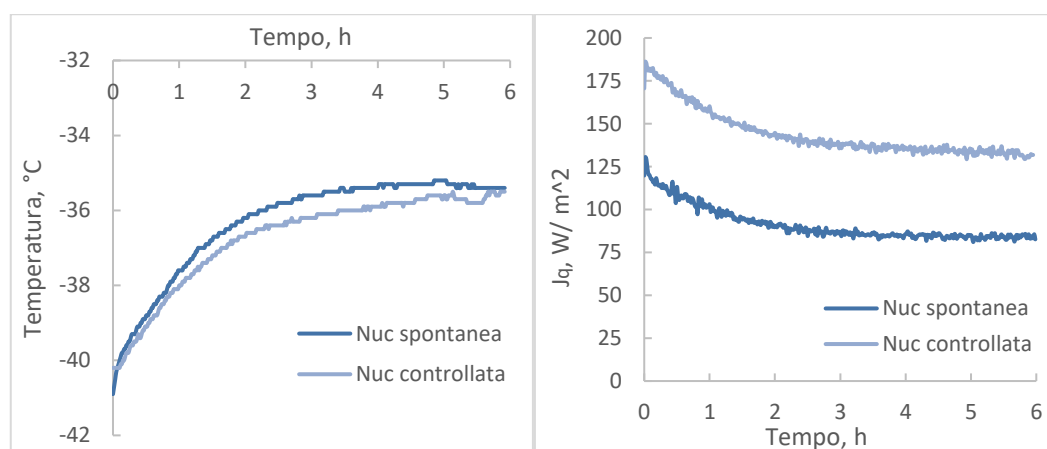


Figura 3.21: Confronto delle T_{avg} e dei flussi termici nelle prove con differente modalità di nucleazione, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costanti

L'analisi dei risultati elencati in Tabella 9 mostra valori del coefficiente di scambio termico K_v leggermente più elevati rispetto a quelli ottenuti nella modalità precedente (prove n.7-8-9), pur mantenendo pressappoco il classico andamento al diminuire della T_{ring} . Questa differenza è però dovuta solamente all'influenza, nel calcolo, del Δm complessivo che risulta modestamente più alto; non vi è infatti alcuna dipendenza del coefficiente di scambio K_v dalla modalità con cui avviene il fenomeno di nucleazione, essendo la differenza tra i valori calcolati nell'ordine del 10%, quindi compatibile nel range di incertezza. È possibile che il perfezionamento della struttura generata in seguito alla nucleazione controllata, ha contribuito ad un certo miglioramento della fase di sublimazione, garantendo una maggior perdita di peso a parità di durata del processo. Inoltre, eccetto che nel primo caso con $T_{ring} = T_{avg} - 1^\circ\text{C}$, la differenza risultante tra le perdite di peso nei flaconi esterni e negli interni evidenzia un'ottima omogeneità complessiva all'interno della camera.

Tabella 9: Principali risultati nella sequenza di prove eseguita prima nella modalità Analyze (7, 8, 9) e poi nella modalità Optimize (25, 26, 27), con 2 TC centrali, $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}

<i>Prova</i>	$T_{ring} \text{ } ^\circ\text{C}$	K_v gravimetrico, $\text{W/m}^2\text{K}$	$\%Q$ shelf	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm medio interno, g	Differenza esterno ed interno	Dev. standard totale %
7	$T_{avg} - 1$	17.227	32.2	0.842	0.8206	0.8303	-0.0097	6.95
8	$T_{avg} - 3$	16.484	31.4	0.81	0.818	0.792	0.026	7.88
9	$T_{avg} - 5$	16.47	58.1	0.787	0.7904	0.781	0.0094	6.88
25	$T_{avg} - 1$	19.67	43.3	0.91	0.94	0.864	0.076	7.65
26	$T_{avg} - 3$	18.59	38	0.885	0.888	0.879	0.009	6.02
27	$T_{avg} - 5$	18.96	40	0.9	0.905	0.888	0.017	9.65

Anche il confronto delle curve R_p vs L_{dried} , in Figura 3.22, determinate sulla base della temperatura monitorata dalla TC2 nella configurazione in esame, nelle due differenti modalità di nucleazione, a parità di T_{shelf} , P_c e T_{ring} mette in mostra chiari segni di variazione: in particolare la resistenza del prodotto al trasporto di materia diminuisce in prove dove la nucleazione controllata ha avuto luogo. Ciò avviene

presumibilmente per la formazione di una struttura del *cake* con pori più grandi, avendo subito un sottoraffreddamento minore, in grado di garantire un maggior flusso di vapore verso l'esterno.

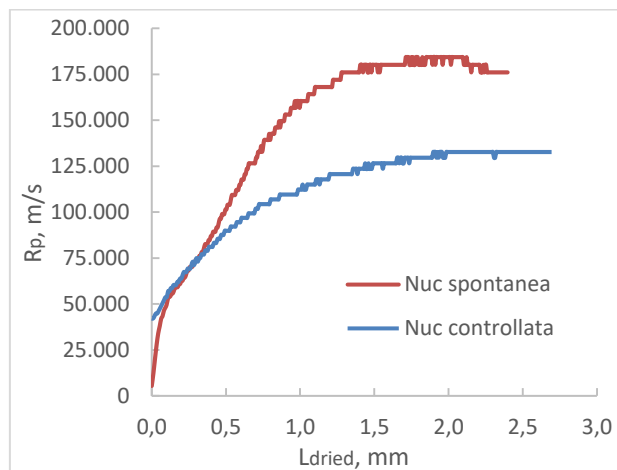


Figura 3.22: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della modalità di nucleazione, con $T_{shelf} = -20^\circ\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^\circ\text{C}$ costanti

Il modello matematico monodimensionale, anche nella modalità *Optimize*, continua a svolgere il suo ruolo di convalida dei dati sperimentali estrapolando, a partire dai valori dei coefficienti di scambio rinvenuti, delle curve di dati che stimano con buona approssimazione l'andamento del sistema durante il ciclo di liofilizzazione. Confrontando i dati ottenuti dal modello nelle due diverse modalità di nucleazione, Figura 3.23, si nota, a conferma di quanto già affermato, che la temperatura del prodotto non subisce variazioni significative agendo con nucleazione controllata o meno, tanto da seguire lo stesso andamento in entrambi i casi. Più interessante è invece la discreta diminuzione del 10% nella durata di essiccamento, comprovata dalla diversa pendenza della curva che rappresenta l'altezza di strato di ghiaccio residuo, la quale diminuisce più velocemente qualora si faccia una nucleazione controllata in fase preparatoria al congelamento.

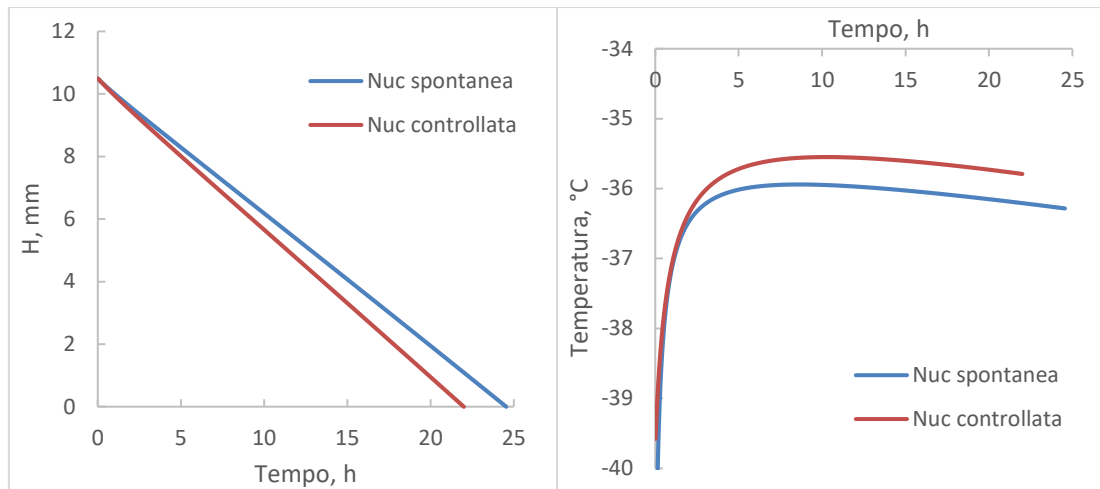


Figura 3.23: Confronto dei dati misurati dal modello matematico nelle due differenti modalità di nucleazione, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costanti

A seguito di queste prove, eseguite con le condizioni più “soft”, sono stati verificati nuovamente gli effetti della maggiore pressione (90 mTorr) e della maggior temperatura del ripiano (0°C) applicati ad un prodotto costituito dalla struttura più omogenea derivante dalla nucleazione controllata. I risultati di questi esperimenti si sono rivelati analoghi a quelli ottenuti nella modalità Analyze, ovvero con una nucleazione stocastica, e pertanto non verranno ripetuti in questo paragrafo. Bisogna comunque tenere in considerazione che la differente modalità di nucleazione aggiunge un contributo non trascurabile a quelli già visti per la pressione e la temperatura.

3.7 Ruolo della velocità di raffreddamento

Durante gli esperimenti nella modalità *Optimize* è stato verificato uno dei fattori consigliati per l’ottimizzazione del processo di liofilizzazione, ovvero la velocità di raffreddamento nella fase iniziale di congelamento post-nucleazione, tramite due differenti prove. La differenza sostanziale applicata è consistita nell’impostare, immediatamente dopo la nucleazione controllata dal *FreezeBooster*[®], una diversa rampa di raffreddamento. Per il primo test si è scelta una rampa pari a $1.2^{\circ}\text{C}/\text{min}$, mentre per il secondo, una rampa pari a $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Inoltre, entrambi sono stati effettuati con una $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, una $P_c = 8 \text{ Pa}$ ed una $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$

Ciò che risulta da questa sperimentazione, come rappresentato in Figura 3.24, è il netto cambiamento nell'andamento delle temperature del prodotto, in particolare per quello misurato dalla TC2, ovvero quella posizionata esattamente al centro del ripiano. Nel primo test, con velocità di raffreddamento maggiore, la temperatura del prodotto ha un andamento anomalo, tanto che le due termocoppie inserite in camera mostrano persino più di 20°C di differenza l'una dall'altra, nella fase centrale del raffreddamento; ciò comporta chiaramente un aumento drastico ed indesiderato della temperatura media del prodotto e conseguentemente di altri parametri in gioco, compromettendo, per quanto in misura lieve, i risultati della prova stessa. Situazione completamente differente si è ottenuta, invece, nel secondo test dove si è impostata una velocità di raffreddamento leggermente minore, ma grazie alla quale l'andamento delle temperature monitorate dalle due termocoppie risulta notevolmente più uniforme rispetto al caso precedente. In conclusione, si è ottenuto un miglioramento della fase di congelamento e, complessivamente, del processo di ottimizzazione del ciclo, poiché temperature simili possono portare alla formazione di simili strutture del prodotto e, infine, ad una maggiore omogeneità finale.

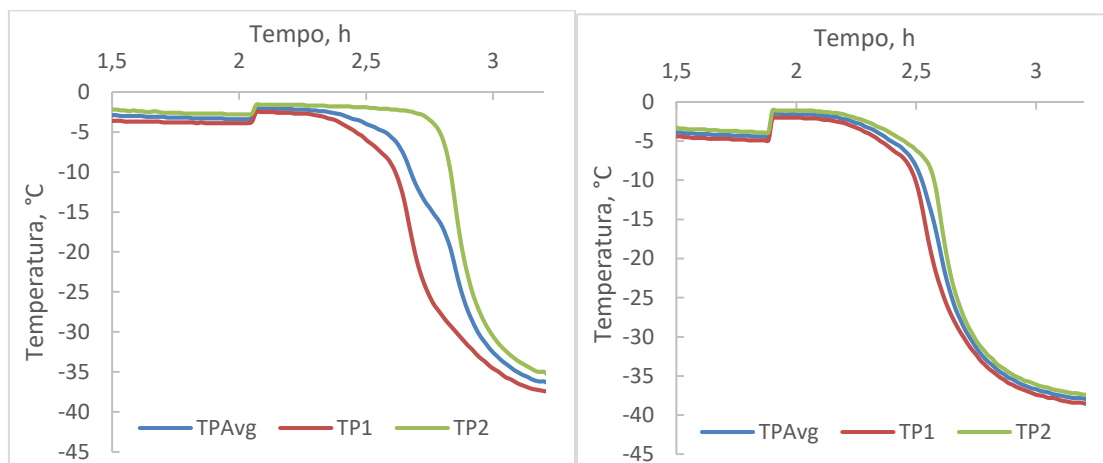


Figura 3.24: Andamento delle temperature del prodotto monitorate nel caso di raffreddamento alla velocità di 1.2°C/min (sinistra) e 1°C/min (destra)

Tramite il modello matematico, sulla base dei valori dei coefficienti di scambio K_v e R_p misurati, è stato inoltre possibile valutare l'andamento della temperatura del prodotto e realizzare un confronto diretto fra le due prove, in Figura 3.25. Nel primo caso, quando la velocità di raffreddamento è più elevata, la temperatura del prodotto risulta essere leggermente maggiore che non nel caso in cui la velocità di

raffreddamento è inferiore. Come conseguenza di ciò, per entrambi i flaconi si rileva un incremento nel flusso di materia scambiato con l'esterno, ovvero un maggior flusso di ghiaccio che sublima. Questo risultato può essere interpretato, analogamente a quanto detto precedentemente, come un miglioramento delle condizioni di congelamento del prodotto, nonché di una struttura cristallina generata in seguito alla nucleazione più omogenea. Questo effetto si riflette sulla successiva fase di essiccamento primario, che risulterà ottimizzata, producendo globalmente una riduzione della durata del processo, all'incirca dell'8%.

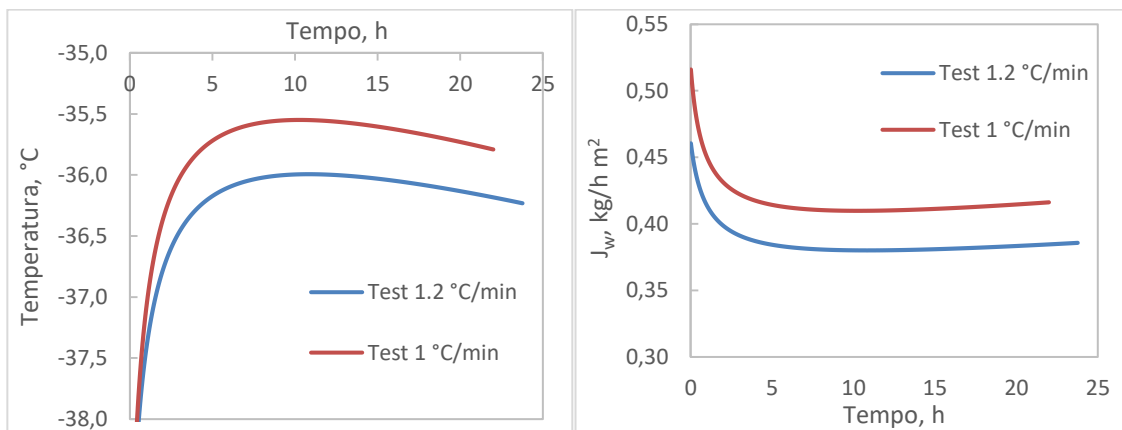


Figura 3.25: Confronto degli andamenti calcolati con il modello matematico al variare della velocità di raffreddamento della temperatura del prodotto (sinistra) e del J_w (destra)

3.8 Ruolo del flacone utilizzato

Come ultimo spunto di riflessione per la sperimentazione, si è voluto verificare cosa effettivamente cambiasse utilizzando dei diversi flaconi, in particolare i flaconi *Molded* invece dei classici *Tubing* utilizzate per eseguire le prove proposte dalla campagna sperimentale. Un confronto diretto con i risultati ottenuti precedentemente, con i flaconi *Tubing*, è poco raccomandato poiché non è possibile ritenere la tipologia di flacone una variabile di processo. È stato però possibile analizzare la sequenza di prove standard ($T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60$ mTorr) attuate con il diverso tipo di flacone, al variare della T_{ring} , fornendo alcune considerazioni in merito ai risultati ottenuti. Guardando le temperature del prodotto monitorato dalle termocoppie, in Figura 3.26, si nota subito che tra il valore massimo ed il valore minimo ci sono quasi 2°C di differenza, nonostante l'andamento misurato sia molto simile l'uno con l'altro.

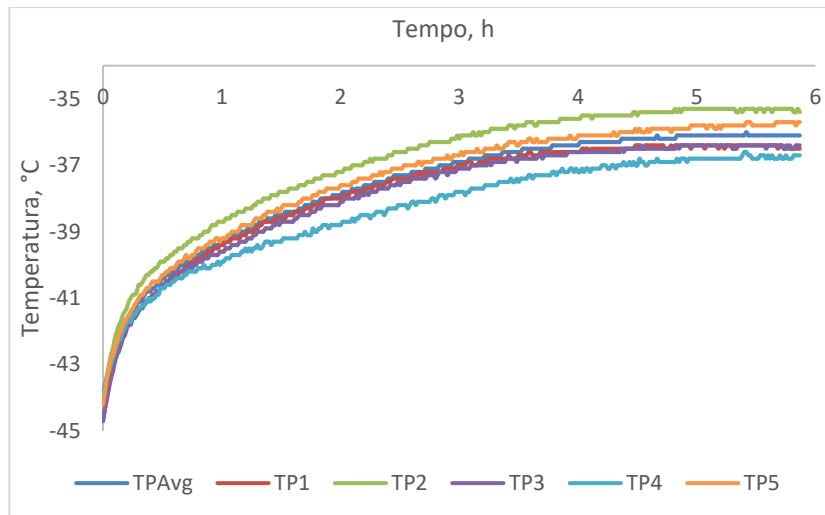


Figura 3.26: Andamento delle temperature monitorate dalle termocoppie nella sequenza di prove effettuate a $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$, $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$, utilizzando i flaconi Molded

Inoltre, i flaconi monitorati raggiungono una temperatura stazionaria quasi al termine del ciclo previsto, circa a 5 ore dall'inizio della fase di essiccamento primario, evidenziando una lenta velocità di riscaldamento dovuta al maggior spessore del fondo del flacone e quindi una maggior resistenza allo scambio termico.

Dei risultati relativi alla sequenza di prove in esame, elencati in Tabella 10, si mettono in evidenza i valori ottenuti discretamente più bassi del coefficiente di scambio termico K_v gravimetrico, indice del peggior scambio tra il prodotto ed il ripiano, aggravato da un maggior spessore di materiale fornito dal flacone.

Tabella 10: Principali risultati nelle sequenze di prove eseguite con i flaconi Molded, nella modalità Analyze, con 5 TC centrali, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60 \text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}

Prova	T_{ring} °C	K_v gravimetrico, $\text{W}/\text{m}^2 \text{K}$	%Q shelf	Δm medio totale, g	Δm medio esterno, g	Δm medio interno, g	Differenza esterno ed interno	Dev. standard totale %
22	$T_{avg} - 1$	15.66	52.3	0.8	0.804	0.81	-0.006	9.37
23	$T_{avg} - 3$	14.77	46.6	0.76	0.77	0.76	0.01	7.58
24	$T_{avg} - 5$	15.76	54	0.75	0.752	0.75	0.002	4.74

Nonostante ciò, la convalida con il modello matematico ha permesso di ricavare, con buona approssimazione, delle curve di dati che seguono l'andamento dei dati

sperimentali. Oltre ad un ulteriore conferma di quanto detto per la temperatura del prodotto, il modello non offre altri risultati significativi, in quanto né il flusso di materia scambiato né la durata del processo, rappresentata dalla diminuzione dello spessore di ghiaccio residuo, mostrano particolari differenze rispetto alle prove in cui erano usati i flaconi *Tubing*.

4 - Conclusioni

La liofilizzazione è un trattamento necessario alla disidratazione di un prodotto al fine di aumentarne la stabilità e permetterne la conservazione a lungo termine. Il processo è particolarmente indicato per prodotti termolabili, date le basse temperature a cui si opera, prevenendo la loro denaturazione. Il ciclo di trattamento infatti consiste in un congelamento spinto, fino a temperature anche di -40°C , durante il quale avviene il fenomeno di nucleazione e crescita dei cristalli di ghiaccio, seguito da una fase di essiccamento primario, dove il prodotto viene riscaldato a temperature più elevate per favorire la sublimazione del ghiaccio, ed infine da una fase di essiccamento secondario, il cui obiettivo è quello di separare la frazione di umidità residua rimasta legata al prodotto. Uno dei principali svantaggi della liofilizzazione è l'elevata durata che il ciclo necessita per essere portato a termine, comportando eccessivi consumi di tempo e di risorse impiegate, soprattutto in scala di laboratorio/sperimentale. L'ottimizzazione del ciclo, in particolare della fase di essiccamento primario, è alla base dei numerosi modelli matematici predisposti a tale scopo, ottenuti dalla risoluzione dei bilanci di materia ed energia dello strato solido congelato. Dell'innovazione tecnologica moderna fanno parte i cosiddetti micro-liofilizzatori, di dimensioni estremamente ridotte rispetto a quelli in scala industriale, consentendo una conduzione di prove più rapide e utilizzando un minor quantitativo di risorse. La presenza di un anello laterale termo-controllato che circonda la camera di liofilizzazione è la novità proposta per aumentare l'omogeneità del lotto di flaconi.

Lo studio effettuato in questo lavoro di Tesi è consistito nella convalida di un micro-liofilizzatore, il *MicroFD*, con il quale è stata portata avanti una campagna di 36 prove sperimentali, ognuna della quali si diversificava per una sola variabile, al fine di individuare le migliori configurazioni di processo ed effettuare uno *scale-up* su scala industriale. Numerosi sono i parametri che influenzano il processo di liofilizzazione e l'ottimizzazione del ciclo, ma solo alcuni sono stati trattati in questo lavoro: tra questi, i principali sono stati la temperatura dell'anello *LyoSim*[®] (T_{ring}), la temperatura del ripiano (T_{shelf}), la pressione della camera (P_c) e la modalità di nucleazione (spontanea o controllata). Per ogni prova sono stati valutati i parametri

necessari a descrivere il modello matematico monodimensionale utilizzato per la convalida dei dati sperimentali, ovvero i coefficienti di scambio termico K_v ed i coefficienti di resistenza del prodotto al trasporto di vapore R_p , ed il Δm risultante. L'analisi dei principali risultati ha portato alle seguenti considerazioni finali:

- i. La T_{ring} ha influenza principalmente sulla T_{avg} , riducendola al suo diminuire. Questo effetto agisce indirettamente abbassando leggermente anche il Δm ed il coefficiente di scambio K_v . Non si rilevano invece particolari dipendenze sul coefficiente R_p e sulla durata del ciclo di essiccamento. Per quanto riguarda l'omogeneità del lotto, in media, valori di T_{ring} pari a $T_{avg}-1^\circ\text{C}$ o $T_{avg}-5^\circ\text{C}$ risultano, rispettivamente, riscaldare o raffreddare troppo i flaconi di bordo. Il valore intermedio $T_{avg}-3^\circ\text{C}$ sembra essere il miglior compromesso per ottenere un Δm simile tra flaconi interni ed esterni e, quindi, una miglior omogeneità.
- ii. La T_{shelf} ha influenza prevalentemente sul flusso termico, aumentando drasticamente la quantità di calore inviata dal ripiano verso il prodotto. La sua influenza è preponderante nel riscaldamento dei flaconi rispetto alle altre fonti termiche, compresa quella dell'anello laterale. Questo effetto si riflette sulla crescita del Δm perso, riducendo enormemente la durata complessiva dell'essiccamento. Non si hanno infine grosse influenze sul coefficiente K_v , che rimane per lo più invariato, mentre sul coefficiente R_p la T_{shelf} tende ad abbassare ed allungare la relativa curva in funzione di L_{dried} .
- iii. La P_c influenza la T_b ed il flusso termico che aumentano leggermente al suo aumentare, provocando un aumento del K_v e del Δm , ma non della T_{avg} . Ciò si riflette sul coefficiente di resistenza R_p che si riduce; nel caso in cui sia presente anche l'effetto della T_{shelf} , questa diminuzione è ancora più marcata per la presenza di micro-collapsi nella struttura del saccarosio. In generale si ha una piccola ma evidente riduzione della durata del ciclo.
- iv. La nucleazione controllata, piuttosto che spontanea, migliora leggermente l'omogeneità del sistema, garantendo coefficienti di scambio più vantaggiosi.

Vi sono ancora altri parametri da analizzare per ottenere uno studio sperimentale completo, come la concentrazione di prodotto, il volume di riempimento o anche una diversa dimensione dei flaconi, valutando i loro effetti sui parametri e sull'omogeneità del sistema, passando poi ad analizzare le conseguenze che ognuna di queste variabili comporta su un diverso tipo di prodotto, come il mannitolo.

Bibliografia

- Andrieu, J., Antonyuk, S., Barresi, A. A., Bonazzi, C., Courtois, F., Dumoulin, E., . . . Walzel, P. (2011). Modern Drying Technology, *Product Quality and Formulation* **3**, 91-154. Wiley-Vhc. publisher, Weinheim, Germany
- Auffret, T. (2010). Synchronised Freezing - Controlled Nucleation. Tratto il giorno 1 Settembre 2018, da TaPrime:
http://www.taprime.co.uk/assets/file/Synchronised_Freezing.pdf
- Auffret, T. (2010). The Physics of Freezing or Why Water never Freezes at its Freezing Point. Tratto il giorno 1 Settembre 2018, da taPrime:
<http://www.taprime.co.uk/assets/file/Physics%20of%20freezing.pdf>
- Bosca, S., & Fissore, D. (2011). Design and Validation of an Innovative Soft-sensor for Pharmaceuticals Freeze-drying Monitoring. *Chemical Engineering Science* **66**(21), 5127-5136. doi:10.1016/j.ces.2011.07.008
- Bosca, S., Barresi, A., & Fissore, D. (2013). Use of a Soft sensor for the Fast Estimation of Dried Cake Resistance during a Freeze-drying Cycle. *International Journal of Pharmaceutics* **451**(1-2), 23-33. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.04.046
- Carpenter, J. F., Chang, B. S., Garzon-Rodriguez, W., & Randolph, T. W. (2002). Rational Design of Stable Lyophilized Protein Formulations: Theory and Practice. *Rationale Design of stable protein formulations-theory and practice*, (Edited by J.F. Carpenter and M.C. Manning) Kluwer Academic/Plenum publishers, New York, 109-133.
- Chakravarty, P., Lee, R., DeMarco, F., & E., R. (2012). Ice Fog as a Means to Induce Uniform Ice Nucleation During Lyophilization. *BioPharm International*, **25**(1).
- Fissore, D. (2013). Freeze Drying of Pharmaceuticals. *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology, Fourth Edition*, 1723-1737. (Edited by James Swarbrick) Taylor & Francis publishers, New York. doi:<http://dx.doi.org/10.1081/E-EPT4-120050278>
- Fissore, D. (2017). Model-based PAT for Quality Management in Pharmaceuticals Freeze-drying: State of the Art. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **5**(5). doi:10.3389/fbioe.2017.00005
- Fissore, D., Pisano, R., & Barresi, A. (2017). On the use of temperature measurement to monitor a freeze-drying process for pharmaceuticals. *IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC)*, Torino
- Fissore, D., Pisano, R., & Barresi, A. (2018). Process Analytical Technology for Monitoring Pharmaceutical Freeze-drying—A Comprehensive Review. *Drying Technology* **36**, 113-140. doi:<https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1440590>

- Giordano, A., Barresi, A., & Fissore, D. (2011). On the Use of Mathematical Models to Build the Design Space for the Primary Drying Phase of a Pharmaceutical Lyophilization Process. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **100**(1), 311-324. doi:10.1002/jps.22264
- Guidotti, M. (2003-2004). Liofilizzazione. Tratto il giorno 1 Settembre 2018 da Sito web Galenotech: <http://dctf.uniroma1.it/galenotech/liofilizz.htm>
- Hardwick, L. M., Paunicka, C., & Akers, M. J. (2008). Critical Factors in the Design and Optimisation of Lyophilisation Processes. *Innovations in Pharmaceutical Technology* **26**, 70-74.
- Khairnar, S., Kini, R., Harwalkar, M., Dr. Salunkhe, K., & Dr. Chaudhar, S. R. (2013). A Review on Freeze Drying Process of Pharmaceuticals. *International Journal of Research in Pharmacy and Science* **4**(1), 76-94.
- Malik, N., Gouseti, O., & Bakalis, S. (2017). Effect of Freezing with Temperature Fluctuations on Microstructure and Dissolution Behavior of Freeze-dried High Solid System. *Energy Procedia* **123**, 2-9. doi:10.1016/j.egypro.2017.07.277
- Nireesha, G. R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjana Babu, M., & Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/Freeze Drying - An Review. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences* **3**(4), 87-98.
- Obeidat, W. M., Sahni, E., Kessler, W., & Pikal, M. (2017). Development of a Mini-Freeze Dryer for Material-Sparing Laboratory Processing with Representative Product Temperature History. *AAPS PharmSciTech* **19**(2), 599-609.
- Patapoff, T. W., & Overcashier, D. E. (2002). The Importance of Freezing on Lyophilization Cycle Development. *BioPharm.*
- Patel, S. M., Doen, T., & Pikal, M. J. (2010). Determination of End Point of Primary Drying in Freeze-Drying Process Control. *AAPS PharmSciTech* **11**(1), 73-84. doi:10.1208/s12249-009-9362-7
- Pisano, R., Fissore, D., & Barresi, A. (2011). Heat Transfer in Freeze-Drying Apparatus. *Developments in Heat Transfer*, (Edited by Dr. Marco Aurélio dos Santos Bernardes), InTechOpen publisher, Londra, 91-114. Tratto da: <http://www.intechopen.com/books/developments-in-heat-transfer/heat-transfer-in-freeze-drying-apparatus>
- Scutellà, B., Plana-Fattori, A., Passot, S., Bourlès, E., Fonseca, F., Flick, D., & Trélea, I. (2017). 3D Mathematical Modelling to Understand Atypical Heat Transfer Observed in Vial Freeze-drying. *Applied Thermal Engineering* **126**, 226-236.
- Siew, A. (2013). Controlling Ice Nucleation During the Freezing Step of Lyophilization. *Pharmaceutical Technology*, **37**(5), p. 36-40.
- Tang, X., Pikal, M. J. (2004). Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. *Pharmaceutical Research* **21**(2), 191-200.

- Thomas, P. (2011). Controlled Ice Nucleation Moves into Manufacturing: Interview with Michael Pikal. Tratto da www.pharmamanufacturing.com/articles/2011/020/
- Thompson, T. N. (2013). LyoPAT™: Real-Time Monitoring and Control of the Freezing and Primary Drying stages During Freeze-drying for Improved Product Quality and Reduced Cycle Times. Tratto il giorno 1 Ottobre 2018 da American Pharmaceutical Review: <https://www.americanpharmaceuticalreview.com>
- Thompson, T., Wang, Q., & Reiter, C. (2017). Developing Transferable Freeze Drying Protocols using Accuflux® and a MicroFD®. Millrock Technology, Inc, San Diego.
- Verdonck, E., Schaap, K., & Thomas, L. C. (1999). A Discussion of the Principles and Applications of Modulated Temperature DSC (MTDSC). *International Journal of Pharmaceutics* **192**, 3-20.
- Wexler, E., & Brower, J. (2015). New Developments in Controlled Nucleation: VERISEQ Nucleation Technology. Tratto il giorno 1 Ottobre 2018 da: <http://www.pharmtech.com/new-developments-controlled-nucleation-veriseq-nucleation-technology>
- Wiltwyck. (2018). FreezeBooster® Controlled Nucleation Technology. Tratto il giorno 1 Ottobre 2018 da Millrock Technology: <https://www.millrocktech.com/freezebooster-controlled-nucleation-technology/>

Indice delle figure

Figura 1.1: Diagramma di stato termodinamico dell'acqua (immagine da Guidotti, 2003-2004, modificata)	2
Figura 1.2: Rappresentazione schematica dello scambio di calore e di materia nel liofilizzatore (immagine tratta da Khairnar & al., 2013, modificata)	6
Figura 1.3: Esempio di curva generata dal PRT durante la liofilizzazione di una soluzione di saccarosio 5% w/w, dopo 3 ore di essiccamento a -10 °C e 10 Pa (immagine tratta da Fissore et al., 2018, modificata)	10
Figura 1.4: Contributi del flusso di calore e loro percentuale relativa rispetto al meccanismo di scambio termico totale per flaconi in diverse posizioni all'interno della camera. I risultati sono ottenuti per due diverse pressioni in camera e ad una temperatura del ripiano di 0 °C (immagine da Scutellà et al., 2017, modificata)	14
Figura 2.1: Rapporto tra le due misure di pressione in camera, in funzione del tempo (immagine tratta da Fissore et al., 2017, modificata)	19
Figura 2.2: Fotografia di una termocoppia inserita all'interno di un flacone (sinistra) e del sensore Accuflux [®] per misurare il flusso termico dal ripiano (destra)	20
Figura 2.3: Fotografia del MicroFD, prodotto dalla Millrock Technology (a) e dell'interno della camera di liofilizzazione (b)	21
Figura 2.4: Rappresentazione schematica del MicroFD, con i relativi collegamenti delle singole apparecchiature	22
Figura 2.5: Interfaccia del LyoPat che permette di monitorare in tempo reale tutti i parametri fondamentali di processo	24
Figura 2.6: Pannello di controllo per la modalità Analyze	26
Figura 2.7: Pannello di controllo per la modalità Optimize	28
Figura 2.8: Andamento delle temperature del prodotto misurate tramite termocoppie nel caso di nucleazione non controllata (sopra) e controllata (sotto)	31
Figura 2.9: Pannello di controllo per la modalità Manual Mode	32
Figura 2.10: Disposizione blocchi termici metallici attorno al LyoSim [®] (immagine da Thompson et al., 2017, modificata)	34
Figura 2.11: Rappresentazione grafica del processo di sublimazione, dove sono evidenziate le principali variabili usate nel modello matematico (immagine da Fissore et al., 2017, modificata)	35
Figura 2.12: Rappresentazione schematica del flusso di calore proveniente dal basso e di quello proveniente lateralmente (immagine tratta da Thompson et al., 2017, modificata)	36
Figura 2.13: Esempio di andamento del coefficiente R_p in funzione dello spessore dello strato essiccato, la curva rossa rappresenta l'insieme di punti ricavati dall'eq. (9), la curva nera quella ottenibile approssimando i risultati sperimentali con l'eq. (8)	39

Figura 3.1: Disposizione flaconi in camera, in ordine da sinistra verso destra: 6 termocoppie sparse, 5 termocoppie centrali e 2 termocoppie centrali	43
Figura 3.2: Disposizione in camera dei 19 flaconi 6R, di cui due monitorati da termocoppie	44
Figura 3.3: Fotografia del campione prima (sinistra) e dopo (destra) il ciclo di liofilizzazione	45
Figura 3.4: Confronto degli andamenti tipici della T_{avg} e della T_{ring} nei tre casi distinti, con differenza di -1, -3 e -5 °C (in ordine da sinistra a destra) tra la prima e la seconda curva	45
Figura 3.5: Andamento della T_{avg} e del flusso termico durante l'essiccamento primario nelle tre differenti prove al variare della T_{ring}	46
Figura 3.6: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p in funzione dello strato essiccato L_{dried} , nelle prove n.1,2,3, con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60\text{ mTorr}$ costanti, e T_{ring} variabile	48
Figura 3.7: Convalida dei dati sperimentali ottenuti nel MicroFD con quelli calcolati dal modello matematico, nella prova n.1: $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$, $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$	49
Figura 3.8: Andamento della temperatura del prodotto nei diversi flaconi monitorati dalle sei termocoppie e della temperatura media totale, nella prova n.1 con $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$	50
Figura 3.9: Andamento della T_{avg} al variare della disposizione e numero di termocoppie utilizzate, in prove con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$, $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$	51
Figura 3.10: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della T_{ring} nelle prove effettuate a $P_c = 60\text{ mTorr}$ e $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, con 5 TC centrali (a sinistra) e 2 TC centrali (a destra)	53
Figura 3.11: Confronto dei dati misurati con il modello matematico al variare del numero di termocoppie, a parità di T_{shelf} , P_c e T_{ring}	54
Figura 3.12: Confronto degli andamenti della T_{avg} e del flusso termico per differente T_{shelf} (-20 e -10°C) a parità di $P_c = 60\text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$	55
Figura 3.13: Confronto degli andamenti della T_{avg} e del flusso termico per differente T_{shelf} , a parità di $P_c = 60\text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$	56
Figura 3.14: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della T_{shelf} , a parità di P_c e T_{ring}	58
Figura 3.15: Confronto dei dati misurati con il modello matematico al variare della T_{shelf} , a parità di P_c e T_{ring}	59
Figura 3.16: Confronto degli andamenti della T_{avg} e del flusso termico a differente P_c nel caso di $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ (sopra) e $T_{shelf} = 0^{\circ}\text{C}$ (sotto), con $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costante	60
Figura 3.17: Andamento delle temperature monitorate dalla TC2 al variare della T_{shelf} , a parità di $P_c = 90\text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$, confrontate con la T_c del prodotto	61
Figura 3.18: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della P_c , con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ (a sinistra) o $T_{shelf} = 0^{\circ}\text{C}$ (a destra), a parità di $T_{ring} = T_{avg} - 3^{\circ}\text{C}$	62
Figura 3.19: Confronto delle altezze residue di ghiaccio in funzione del tempo al variare della P_c , a parità di $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ (sinistra) e $T_{shelf} = 0^{\circ}\text{C}$ (destra)	63

Figura 3.20: Confronto degli andamenti delle TC nella prova con $T_{ring} = T_{avg} - 5^{\circ}\text{C}$ (sinistra) e degli andamenti della T_{avg} al variare della T_{ring} (destra) in prove effettuate con la modalità Optimize, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60\text{ mTorr}$	64
Figura 3.21: Confronto delle T_{avg} e dei flussi termici nelle prove con differente modalità di nucleazione, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costanti	64
Figura 3.22: Confronto dei coefficienti di resistenza R_p al variare della modalità di nucleazione, con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costanti	66
Figura 3.23: Confronto dei dati misurati dal modello matematico nelle due differenti modalità di nucleazione, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$ e $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$ costanti	67
Figura 3.24: Andamento delle temperature del prodotto monitorate nel caso di raffreddamento alla velocità di $1.2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ (sinistra) e $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ (destra)	68
Figura 3.25: Confronto degli andamenti calcolati con il modello matematico al variare della velocità di raffreddamento della temperatura del prodotto (sinistra) e del J_w (destra)	69
Figura 3.26: Andamento delle temperature monitorate dalle termocoppie nella sequenza di prove effettuate a $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$, $T_{ring} = T_{avg} - 1^{\circ}\text{C}$, utilizzando i flaconi Molded	70

Indice delle tabelle

Tabella 1: Caratteristiche geometriche del flacone (tipo Tubing) adoperato per i test	18
Tabella 2: Tensione di vapore del ghiaccio in funzione della temperatura del fronte di sublimazione del ghiaccio	40
Tabella 3: Elenco delle prove sperimentali effettuate	42
Tabella 4: Principali risultati del set di prove eseguito nella modalità Analyze con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60\text{ mTorr}$, al variare della T_{ring}	47
Tabella 5: Principali risultati dei set di prove eseguite nella modalità Analyze con $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$ e $P_c = 60\text{ mTorr}$, nelle tre impostazioni della T_{ring} , al variare del numero di termocoppie	52
Tabella 6: Principali risultati nei set di prove eseguiti per differente T_{shelf} (-20 e -10°C) nella modalità Analyze, con 5 TC centrali, $P_c = 60\text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}	56
Tabella 7: Principali risultati nei set di prove eseguiti per differente T_{shelf} (-20 e 0°C) nella modalità Analyze, con 2 TC centrali, $P_c = 60\text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}	57
Tabella 8: Principali risultati nella sequenza di prove eseguita nella modalità Analyze, con 2 TC centrali, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 90\text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}	61
Tabella 9: Principali risultati nella sequenza di prove eseguita prima nella modalità Analyze (7, 8, 9) e poi nella modalità Optimize (25, 26, 27), con 2 TC centrali, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}	65
Tabella 10: Principali risultati nelle sequenze di prove eseguite con i flaconi Molded, nella modalità Analyze, con 5 TC centrali, $T_{shelf} = -20^{\circ}\text{C}$, $P_c = 60\text{ mTorr}$, nelle tre differenti T_{ring}	70

Notazioni

a_{K_v}	Parametro usato per il calcolo di K_v , $\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$
A_{R_p}	Parametro usato per il calcolo di R_p , s^{-1}
A_v	Area interna del flacone, m^2
b_{K_v}	Parametro usato per il calcolo di K_v , $\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1} \text{Pa}^{-1}$
B_{R_p}	Parametro usato per il calcolo di R_p , m^{-1}
c_{K_v}	Parametro usato per il calcolo di K_v , Pa^{-1}
ΔH_s	Calore di sublimazione dell'acqua, J kg^{-1}
J_q	Flusso di calore, W m^{-2}
J_w	Flusso di materia, $\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$
K_v	Coefficiente di trasporto di calore, $\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$
L_{dried}	Spessore dello strato sublimante, m
L_{frozen}	Spessore dello strato congelato, m
L_{tot}	Spessore iniziale della soluzione, m
Δm	Massa sublimata, kg
P_c	Pressione in camera, Pa
$P_{w,c}$	Tensione di vapore dell'acqua nella camera, Pa
$P_{w,i}$	Tensione di vapore dell'acqua all'interfaccia di sublimazione, Pa
R_p	Coefficiente di resistenza al trasporto di materia, m s^{-1}
$R_{p,0}$	Parametro usato per il calcolo di R_p , m s^{-1}
Δt	Intervallo di tempo intercorso tra l'inizio dell'essiccamento ed il termine della prova, h
T_b	Temperatura del prodotto sul fondo del flacone, $^{\circ}\text{C}$
T_{avg}	Temperatura media del prodotto in camera, $^{\circ}\text{C}$
T_c	Temperatura di collasso del prodotto, $^{\circ}\text{C}$

T_{frozen} Temperatura durante la fase di congelamento, °C

T_{ring} Temperatura dell'anello *LyoSim*[®], °C

T_{shelf} Temperatura del ripiano termo-controllato, °C

Grecismi

ε Percentuale d'acqua in soluzione, -

λ_{frozen} Conducibilità termica del ghiaccio, W m⁻¹ K⁻¹

ρ_{frozen} Densità del ghiaccio, kg m⁻³

