2KMMYMJW

LIOFILIZZAZIONE

Il processo della liofilizzazione è stato inventato nel 1906 dai francesi Arsène d'ARSONVAL e F. BORDAS, ricercatori presso il Collège de France.

Un sistema di disidratazione simile veniva già utilizzato dagli indiani delle Ande per essiccare gli alimenti, specialmente le carni a grande altitudine e questo a motivo della bassa pressione atmosferica.

VANTAGGI E SVANTAGGI DELLA LIOFILIZZAZIONE

VANTAGGI

- SCARSA PERDITA DI ATTIVITA' PER PRODOTTI DELICATI E TERMOLABILI
- OTTENIMENTO DI UN PRODOTTO POROSO ED IMMEDIATAMENTE REIDRATABILE
- POSSIBILITA' DI OTTENERE PRODOTTI STERILI
- DOSAGGIO PRECISO ED ACCURATO DI PRODOTTO (LIQUIDO) NEI CONTENITORI FINALI

SVANTAGGI

- ELEVATO COSTO DEI MACCHINARI
- ELEVATI COSTI ENERGETICI
- TEMPI DI PROCESSO MOLTO LUNGHI (IN MEDIA 24 ORE/CICLO)

Con la liofilizzazione si ottiene un prodotto a basso tenore di umidità residua e una struttura molto porosa che ne consente mediante aggiunta di solvente una rapida solubilizzazione.

Portando un sistema acquoso al di sotto del punto triplo (0,098 °C e 4,8 mmHg) la rimozione dell'acqua può avvenire soltanto per sublimazione.

Fasi del processo di liofilizzazione:

- Preparazione del materiale da trattare
- Congelamento
- Liofilizzazione
- Rottura del vuoto e confezionamento finale

Preparazione del materiale da trattare

Tale fase comprende le seguenti operazioni:

- Dissoluzione o sospensione nel solvente delle sostanze attive e dell'eventuale supporto;
- Filtrazione normale o sterilizzazione della soluzione*;
- Ripartizione della soluzione o sospensione in contenitori, generalmente fiale o flaconcini oppure in bacinelle (liofilizzazione in bulk).

CARATTERISTICHE DELLA SOLUZIONE

- **STERILIZZAZIONE: PER OTTENERE LIOFILIZZATI STERILI SI PARTE DA SOLUZIONI STERILIZZATE (IN GENERE PER FILTRAZIONE); ESSENDO I PRODOTTI DA LIOFILIZZARE IN GENERE TERMOLABILI, NON E' POSSIBILI STERILIZZARE IL LIOFILIZZATO**

- **CONCENTRAZIONE DELLA SOLUZIONE: LA CONCENTRAZIONE DEL SOLUTO NON PUO' ESSERE INFERIORE AD UN CERTO VALORE LIMITE ALTRIMENTI SI OTTIENE UN LIOFILIZZATO CHE NON HA STABILITA' MECCANICA (CONC. ≥ 15-20%)**

- **AGGIUNTA DI DILUENTI (PER CONFERIRE RESISTENZA MECCANICA AL LIOFILIZZATO NEL CASO CHE LA QUANTITA' DI PRINCIPIO ATTIVO SIA TROPPO BASSA)**

Congelamento

- Il congelamento deve essere eseguito ad **alta velocità** → un'elevata velocità di congelamento impedisce durante la cristallizzazione dell'acqua la formazione di gradienti di concentrazione → d*enaturazione del prodotto per separazione selettiva dei componenti.*

  Non esiste una velocità ideale, va studiata caso per caso in relazione al tipo di prodotto da liofilizzare.

- Alta velocità di congelamento porta alla formazione di cristalli di piccole dimensioni che porta vantaggi per:

  → struttura finale

  → attitudine alla reidratazione

  → qualità organolettiche in generale.

La temperatura utilizzata dovrebbe risultare sufficiente a garantire la solidificazione anche delle soluzioni eutettiche a più basso punto di fusione.

Sistemi di congelamento

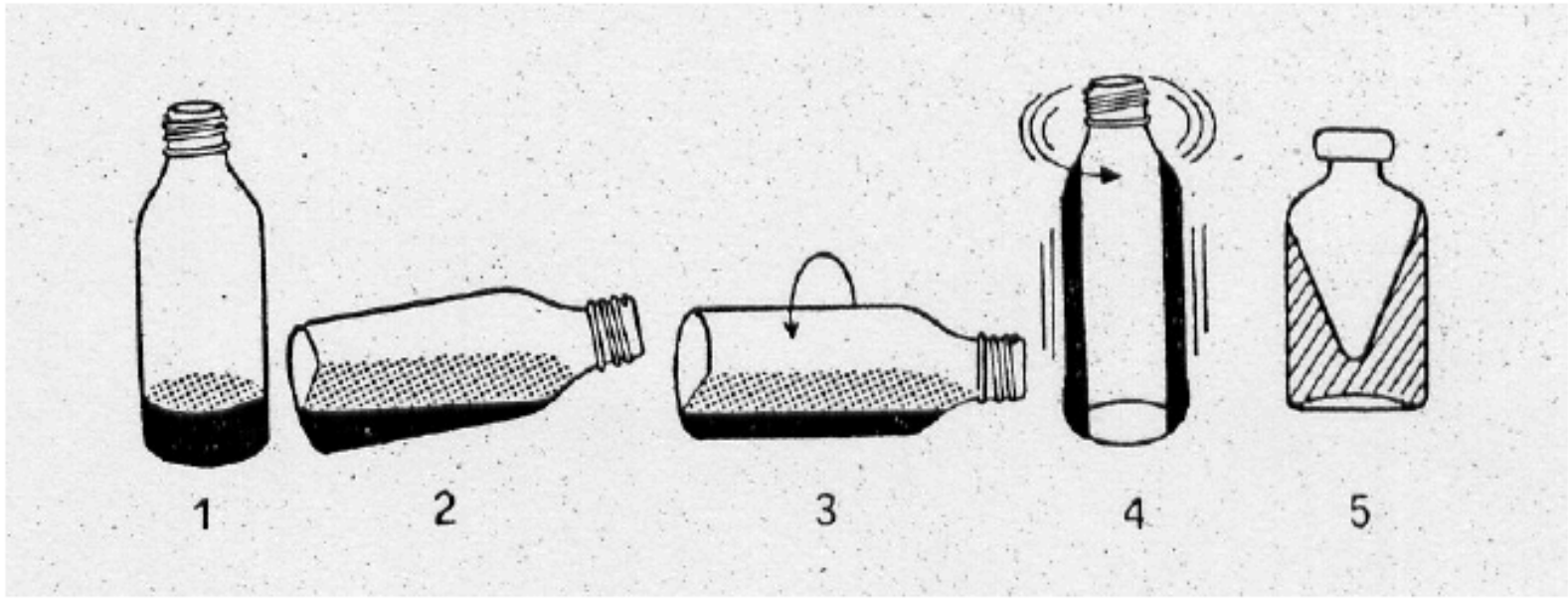
- Evaporazione sotto vuoto (utilizzato solo in alcuni apparecchi da laboratorio);
- Congelamento per raffreddamento (utilizzato nella pratica industriale).

TEMPERATURE EUTETTICHE

Sostanza	Temperatura dello eutettico in °C
Acqua e Na_2SO_4	— 1,25
Acqua e K_2SO_4	— 1,52
Acqua e Na_2CO_3	— 2,1
Acqua e KNO_3	— 2,9
Acqua e $MgSO_4$	— 5,2
Acqua e KCl	— 10,7
Acqua e $Ca(NO_3)_2$	— 16,0
Acqua e NaCl	— 21,2
Acqua e $MgCl_2$	— 33,6
Acqua e K_2CO_3	— 36,5
Acqua e $CaCl_2$	— 54,9
Acqua e HCl	— 86,0

IL GRAFICO MOSTRA ALCUNE TEMPERATURE EUTETTICHE DI SOLUZIONI ACQUOSE DILUITE DI VARI SALI. IL PUNTO EUTETTICO E' DIVERSO PER OGNI SALE; INOLTRE GLI EUTETTICI DI MISCELE DI SALI SONO PIU' BASSI DEGLI EUTETTICI DEI SINGOLI SALI E DEVONO ESSERE DETERMINATI SPERIMENTALMENTE.

SISTEMI DI CONGELAMENTO



VARI METODI DI PRECONGELAMENTO

1) STATICO 2) A BECCO DI FLAUTO 3) PER LENTA ROTAZIONE (*SHELL FREEZING*) 4) PER ROTAZIONE VELOCE IN POSIZIONE ERETTA (*SPIN FREEZING*) 5) A CONCHIGLIA

PRECONGELAMENTO STATICO

NEL PRECONGELAMENTO STATICO LE FIALE SONO TENUTE IN PIEDI E FERME.

IN TEORIA NON SAREBBE NEMMENO NECESSARIO EFFETTUARE IL PRECONGELAMENTO PERCHE' QUANDO SI FA IL VUOTO SPINTO IL CONTENUTO DELLE FIALE VIENE RAFFREDDATO E CONGELA. TUTTAVIA IL PRODOTTO VA INCONTRO A SCHIUMEGGIAMENTO INTENSO.

IL PRECONGELAMENTO STATICO VIENE EFFETTUATO IN PRECONGELATORI (O FRIGOCELLE) OPPURE DIRETTAMENTE SULLE PIASTRE DI ESSICCAMENTO DEL LIOFILIZZATORE (AUTOCLAVE).

IN ENTRAMBI I CASI LE BASSE TEMPERATURE SONO OTTENUTE CON UNO DI QUESTI SISTEMI:

- **ESPANSIONE DIRETTA DI UN FLUIDO FRIGORIGENO IN SERPENTINE ALL'INTERNO DELLE PIASTRE;**
- **CIRCOLAZIONE DI UN FLUIDO RAFFREDDATO NELLE SERPENTINE ALL'INTERNO DELLE PIASTRE;**
- **CIRCOLAZIONE DI AZOTO LIQUIDO ALL'INTERNO DELLE SERPENTINE.**

PRECONGELAMENTO STATICO

QUESTO TIPO DI CONGELAMENTO E' IL PIU' DIFFUSO

L'INCONVENIENTE PIU' FREQUENTE E' LO SVILUPPO, ALL'INTERNO DELLA MASSA LIOFILIZZATA, DI STRIATURE O ZONE DI DIVERSO COLORE (SE SI LIOFILIZZANO SOSTANZE COLORATE).

CIO' E' DOVUTO AL CARICAMENTO DE MATERIALE SU PIASTRE TROPPO FREDDE CHE CONGELANO ALLA BASE DELLE FIALE UNA SOLUZIONE TROPPO RICCA DI ACQUA, MENTRE SOPRA RESTA UNA SOLUZIONE MOLTO CONCENTRATA.

SI PUO' OVVIARE A QUESTO INCONVENIENTE CARICANDO LE FIALE SU PIASTRE NON PRERAFFREDDATE E RIVEDENDO LA CONCENTRAZIONE DELLA SOLUZIONE DI PARTENZA.

PRECONGELAMENTO A BECCO DI FLAUTO

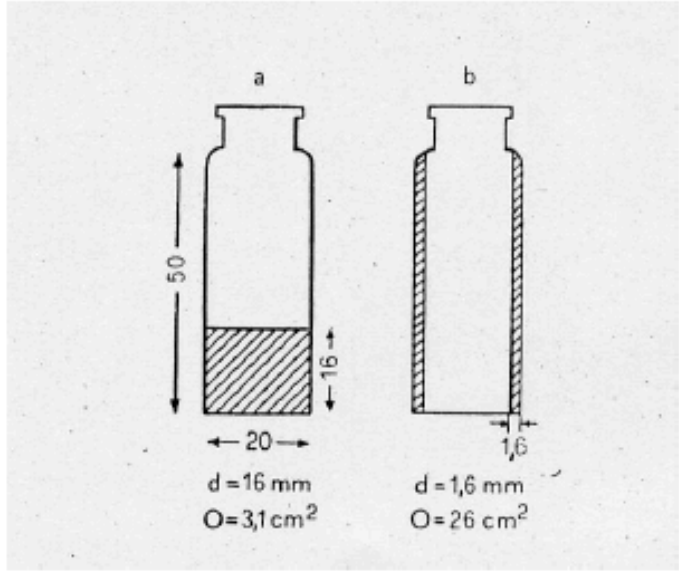
RISPETTO AL PRECONGELAMENTO STATICO QUELLO A BECCO DI FLAUTO AUMENTA, A PARITA' DI VOLUME, LA SUPERFICIE DI EVAPORAZIONE.

SI PUO' OTTENERE O INCLINANDO LE FIALE IN APPOSITI VASSOI OPPURE UTILIZZANDO LIOFILIZZATORI CENTRIFUGHI. IN QUESTI ULTIMI IL VUOTO PROVOCA UNA VELOCISSIMA EVAPORAZIONE DEL LIQUIDI ED UN INTENSO RAFFREDDAMENTO DEL MATERIALE CHE SI CONGELA. LO SCHIUMEGGIAMENTO NON SI VERIFICA A CAUSA DELLA FORZA CENTRIFUGA.

PRECONGELAMENTO A ROTAZIONE

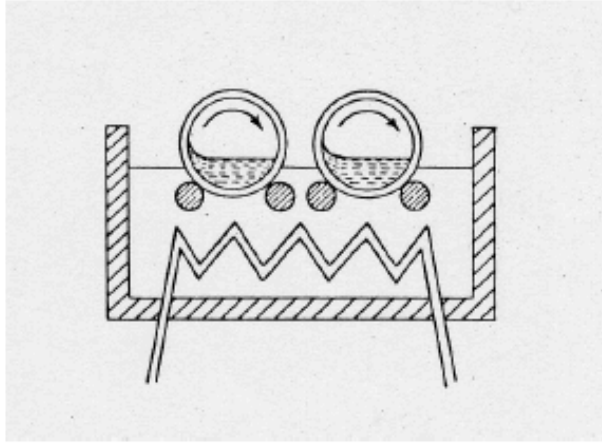
IL CONGELAMENTO A ROTAZIONE E' NECESSARIO QUANDO I VOLUMI DA LIOFILIZZARE SONO PIUTTOSTO GRANDI (500-1000 mL, es. PLASMA) E CONSISTE NEL MUOVERE I CONTENITORI IN MODO TALE CHE IL LIQUIDO VENGA DISTRIBUITO SULLE PARETI DEL CONTENITORE, ASSUMENDO UNA GRANDE SUPERFICIE MA UN PICCOLO SPESSORE.

SI POSSONO REALIZZARE DIVERSI TIPI DI ROTAZIONE, UTILIZZANDO DIVERSE APPARECCHIATURE.



LA FIGURA MOSTRA LA STESSA QUANTITA' DI PRODOTTO CONGELATO STATICAMENTE (a) E PER ROTAZIONE (b). NEL SECONDO CASO IL PRODOTTO OCCUPA UNA SUPERFICIE MOLTO PIU' GRANDE MA HA UNO SPESSORE MOLTO PIU' PICCOLO

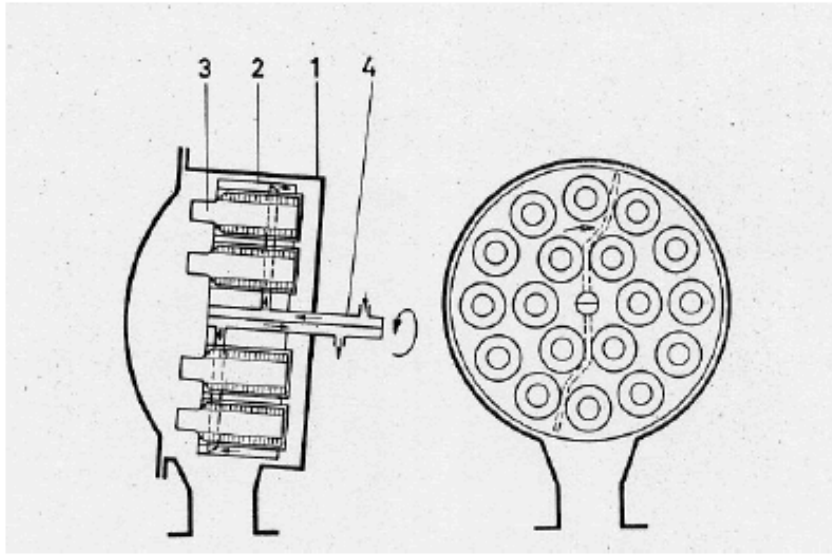
PRECONGELAMENTO A ROTAZIONE



UN SISTEMA MOLTO USATO E' QUELLO DI FAR RUOTARE I CONTENITORI (ES., FLACONI DI PLASMA) LUNGO IL LORO ASSE ORIZZONTALE MENTRE LA SUPERFICIE VIENE RAFFREDDATA. DURANTE LA ROTAZIONE I CONTENITORI SONO PARZIALMENTE IMMERSI IN UNA SOLUZIONE REFRIGERANTE.

SCHEMA DI LIOFILIZZATORE CHE EFFETTUA IL PRECONGELAMENTO A ROTAZIONE DI FLACONI

1=CAMERA DI PRECONGELAMENTO ED ESSICCAZIONE; 2=CONTENITORE ROTANTE DEI FLACONI; 3=FLACONI; 4) CICLO DEL FLUIDO REFRIGERANTE E RISCALDANTE



PRECONGELAMENTO A STRATI

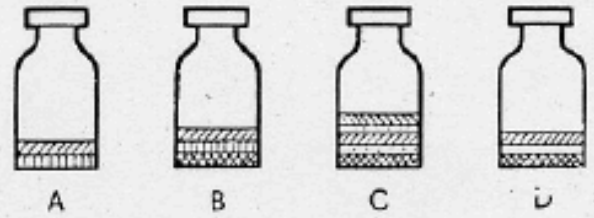
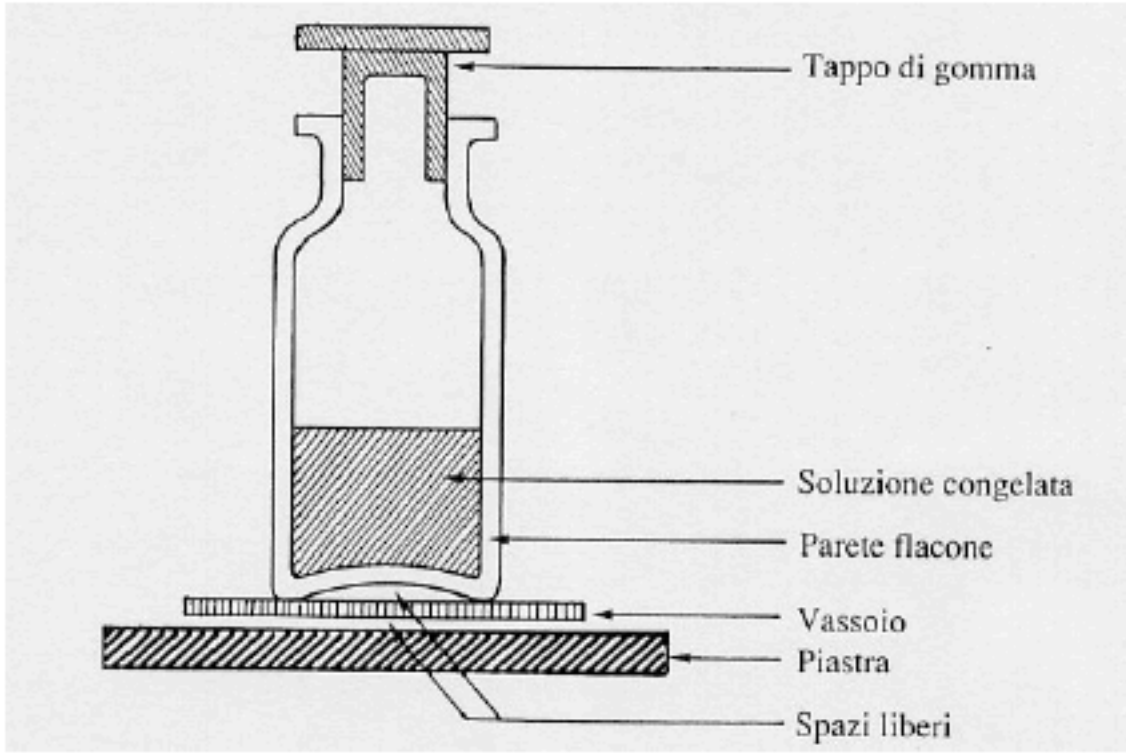


Fig. 483 - Forme diverse di precongelamento a strati (92).

A) Flaconcino contenente due prodotti stratificati senza strato separatore intermedio; B) flaconcino contenente tre prodotti stratificati senza strato separatore intermedio; C) flaconcino contenente tre prodotti stratificati isolati tra loro da uno strato separatore; D) flaconcino contenente due prodotti stratificati separati dall'acqua (=spazio vuoto).

Fig. 484 - Precongelamento a doppio becco di flauto.

FLACONE STOPPERING



CHIUSURA FLACONI
STOPPERING

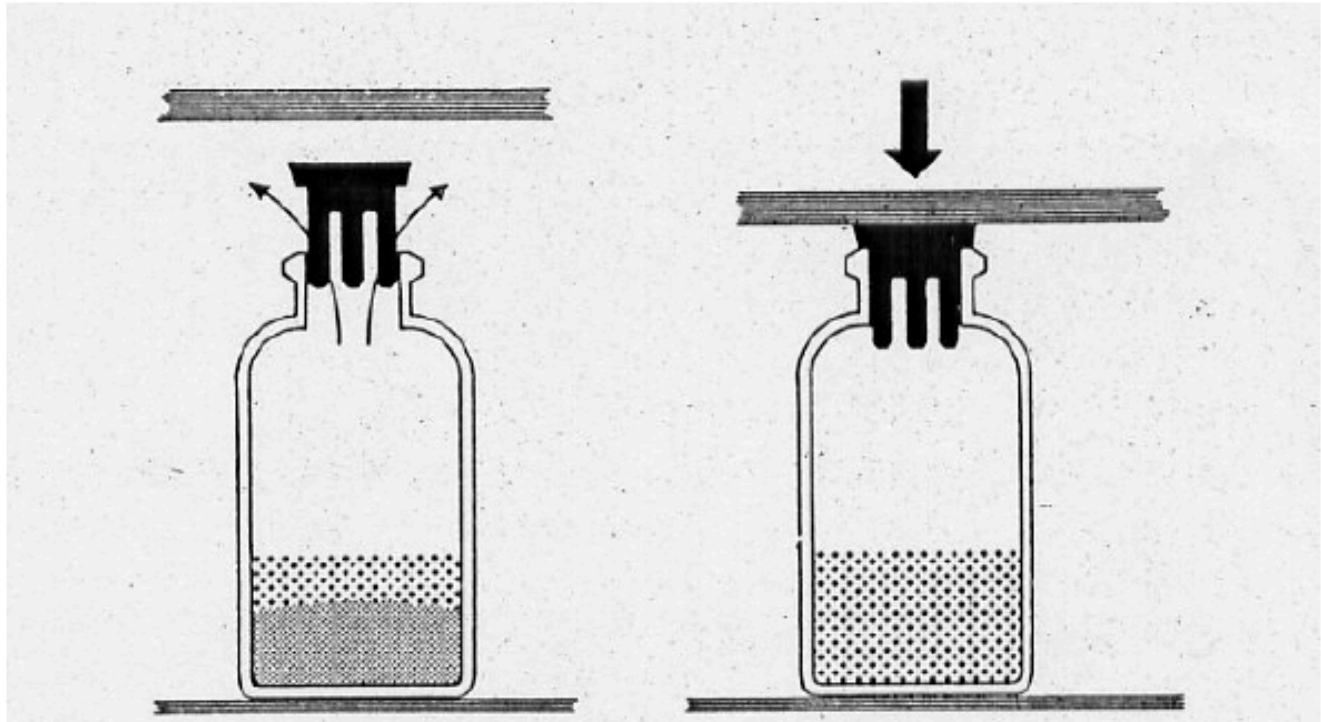
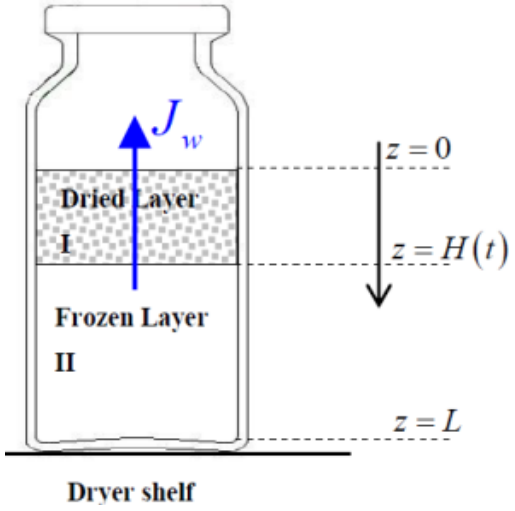


Fig. 490 - Flaconcini muniti di tappini atti alla chiusura automatica sotto vuoto (a sinistra durante la sublimazione, a destra a chiusura avvenuta).

Congelamento per raffreddamento

- Il prodotto, sia ripartito in fiale/flaconi o in bulk, viene generalmente posto in vassoi e congelato nella camera di liofilizzazione stessa mediante piastre refrigerate o in adatti pre-congelatori (pratica ormai in via di abbandono data la necessità di disporre di un'ulteriore apparecchiatura e della movimentazione che comporta rischi dal punto di vista microbiologico).
- Per un rapido e completo congelamento è necessario disporre il materiale su di una ampia superficie e minimizzare lo spessore del prodotto da congelare. E' necessario che il contatto tra le superfici delle piastre refrigerate , dei vassoi contenenti i flaconi e del fondo dei flaconi sia il più uniforme e continuo possibile. Il congelamento avviene a pressione atmosferica.



ESSICCAMENTO SECONDARIO O DESORBIMENTO

L'ESSICCAMENTO PRIMARIO TERMINA QUANDO L'ULTIMO FRAMMENTO DI GHIACCIO SUBLIMA; A QUESTO PUNTO IL CALORE EVENTUALMENTE FORNITO AL PRODOTTO, NON PIU' NECESSARIO PER LA SUBLIMAZIONE, VA A SCALDARE IL PRODOTTO.

A QUESTO PUNTO PUO' ANCORA ESSERE PRESENTE ACQUA ADSORBITA SUL MATERIALE, CHE DEVE ESSERE ALLONTANATA (ESSICCAMENTO SECONDARIO O DESORBIMENTO). CIO' SI OTTIENE COL RISCALDAMENTO ED AUMENTANDO ULTERIORMENTE IL VUOTO. L'AUTOCLAVE NON DEVE PIU' ESSERE IN COMUNICAZIONE COL CONDENSATORE.

QUESTA FASE SI RITIENE COMPLETATA QUANDO IL GRADO DI UMIDITA' RESIDUA NEL PRODOTTO E' QUELLA VOLUTA (DI SOLITO 0.1-1% PER GLI ANTIBIOTICI, 1-3% PER VIRUS E BATTERI, 0.5-2% PER PRODOTTI FARMACEUTICI)

ALLONTANAMENTO DEL VAPORE

IL VAPORE PRODOTTO NELLA SUBLIMAZIONE DEVE ESSERE ALLONTANATO DALLA CAMERA. QUESTO RISULTATO SI PUO' OTTENERE IN TRE MODI:

- **CONDENSAZIONE SU SUPERFICI PIU' FREDDE DEL PRODOTTO (CONDENSATORI)**
- **SOTTRAZIONE DIRETTA A MEZZO DI POMPE**
- **ASSORBIMENTO SU SOSTANZE IGROSCOPICHE**

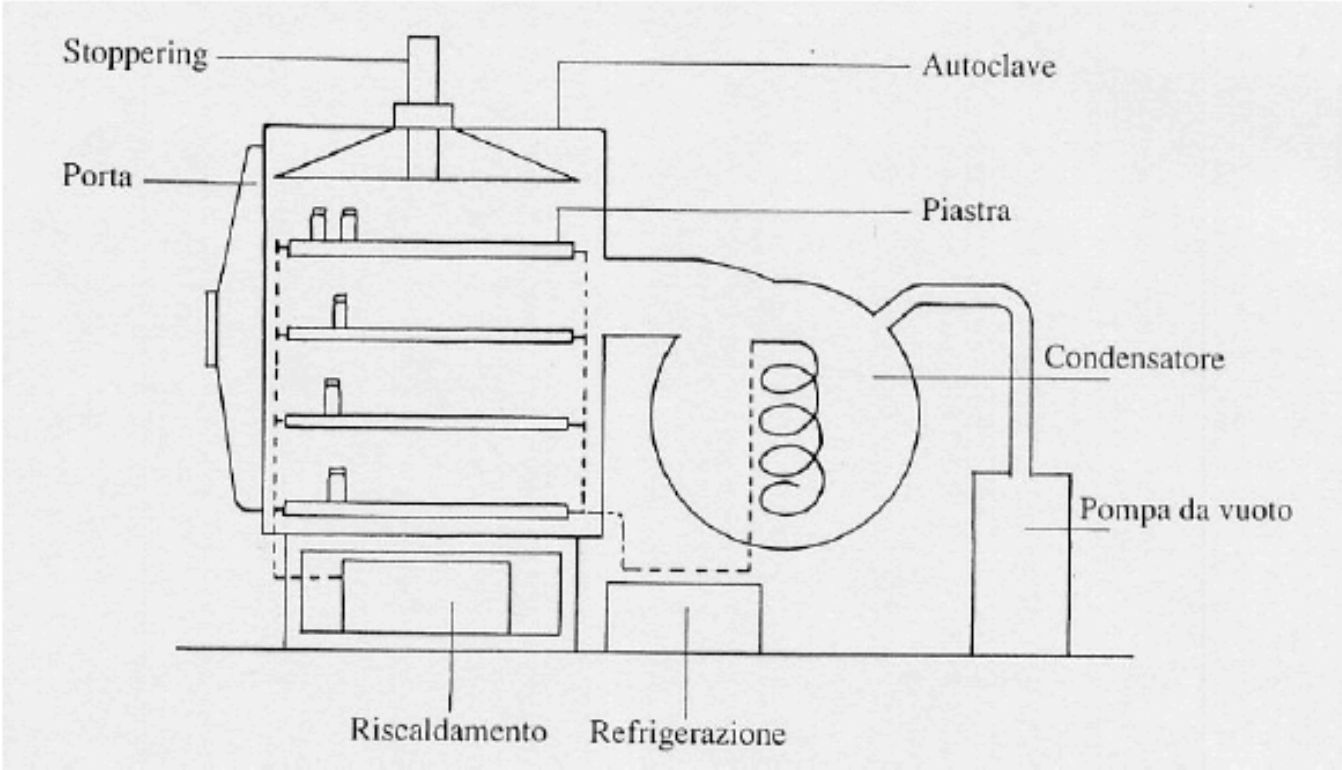
QUESTI TRE SISTEMI HANNO IN COMUNE LA NECESSITA' DI SERVIRSI DI POMPE DA VUOTO.

COMPONENTI PRINCIPALI DI UN IMPIANTO DI LIOFILIZZAZIONE

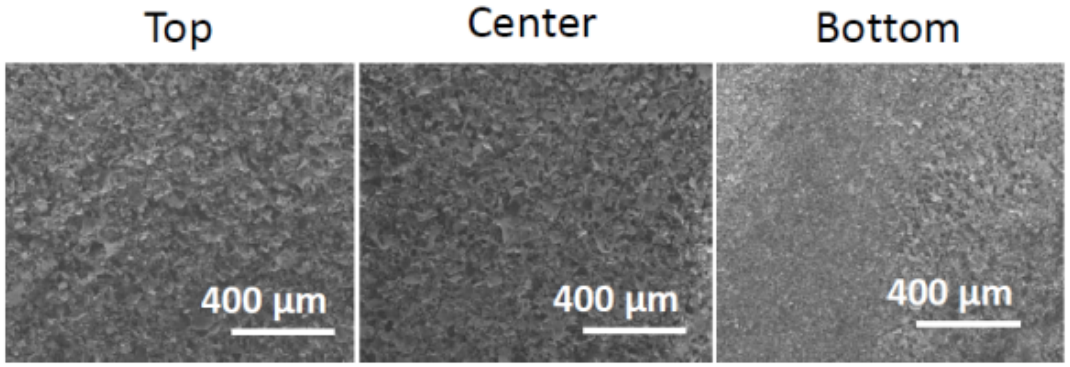
I COMPONENTI ESSENZIALI DI UN IMPIANTO DI LIOFILIZZAZIONE SONO:

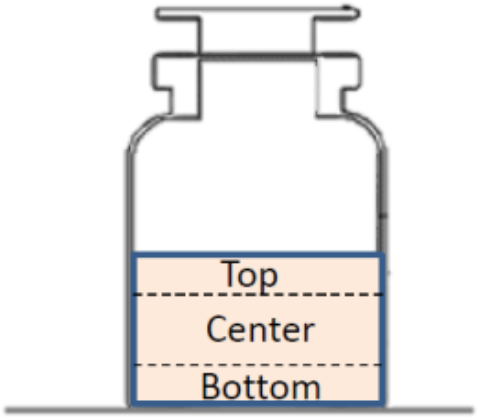
- **AUTOCLAVE**
- **CONDENSATORE**
- **GRUPPI FRIGORIFERI PER IL RAFFREDDAMENTO DELLE SUPERFICI CONDENSANTI E DELLE PIASTRE TERMICHE**
- **GRUPPO DI RISCALDAMENTO DELLE PIASTRE TERMICHE**
- **GRUPPO DI VUOTO**

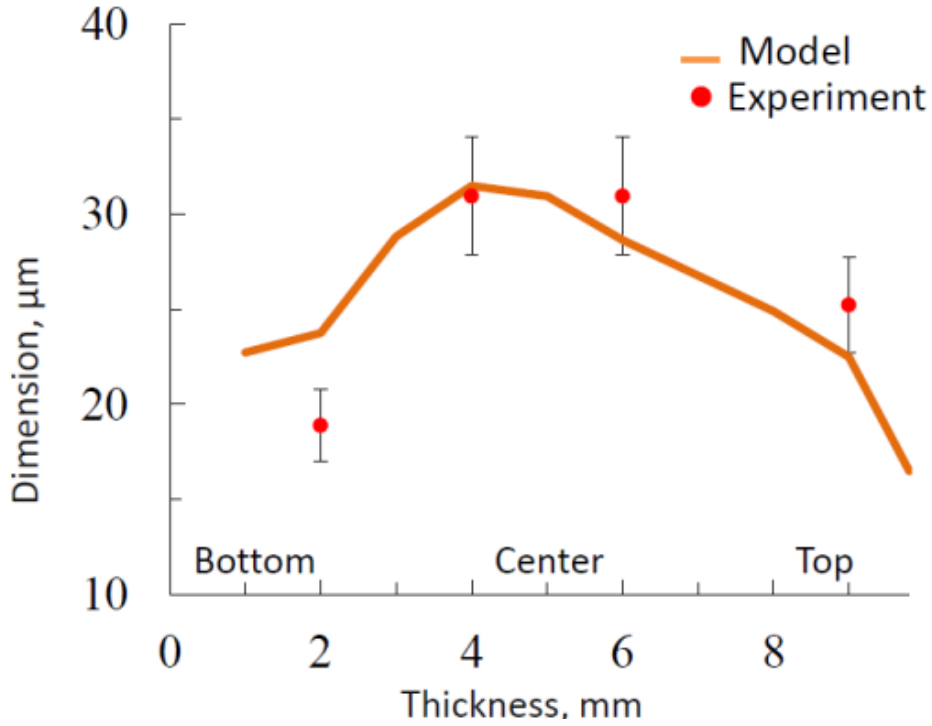
SCHEMA DI LIOFILIZZATORE

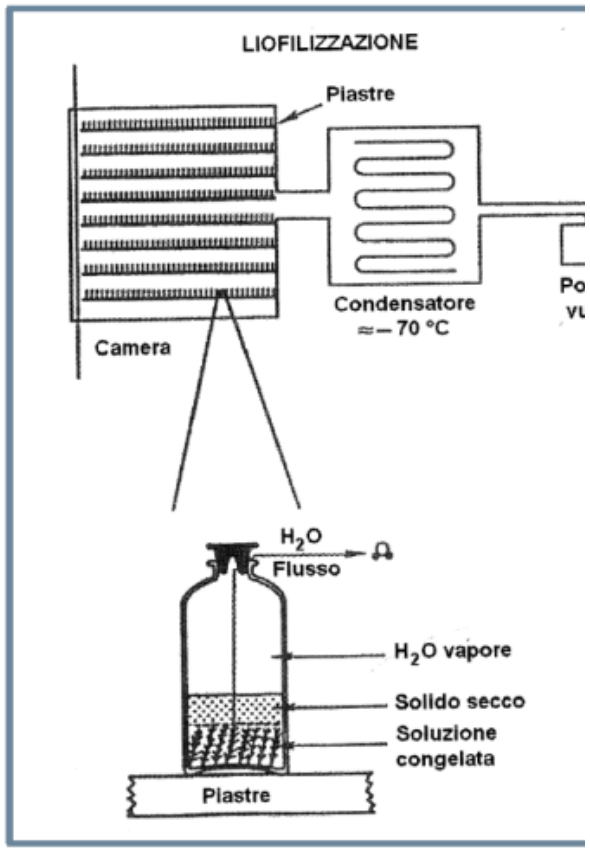


Crystals dimension









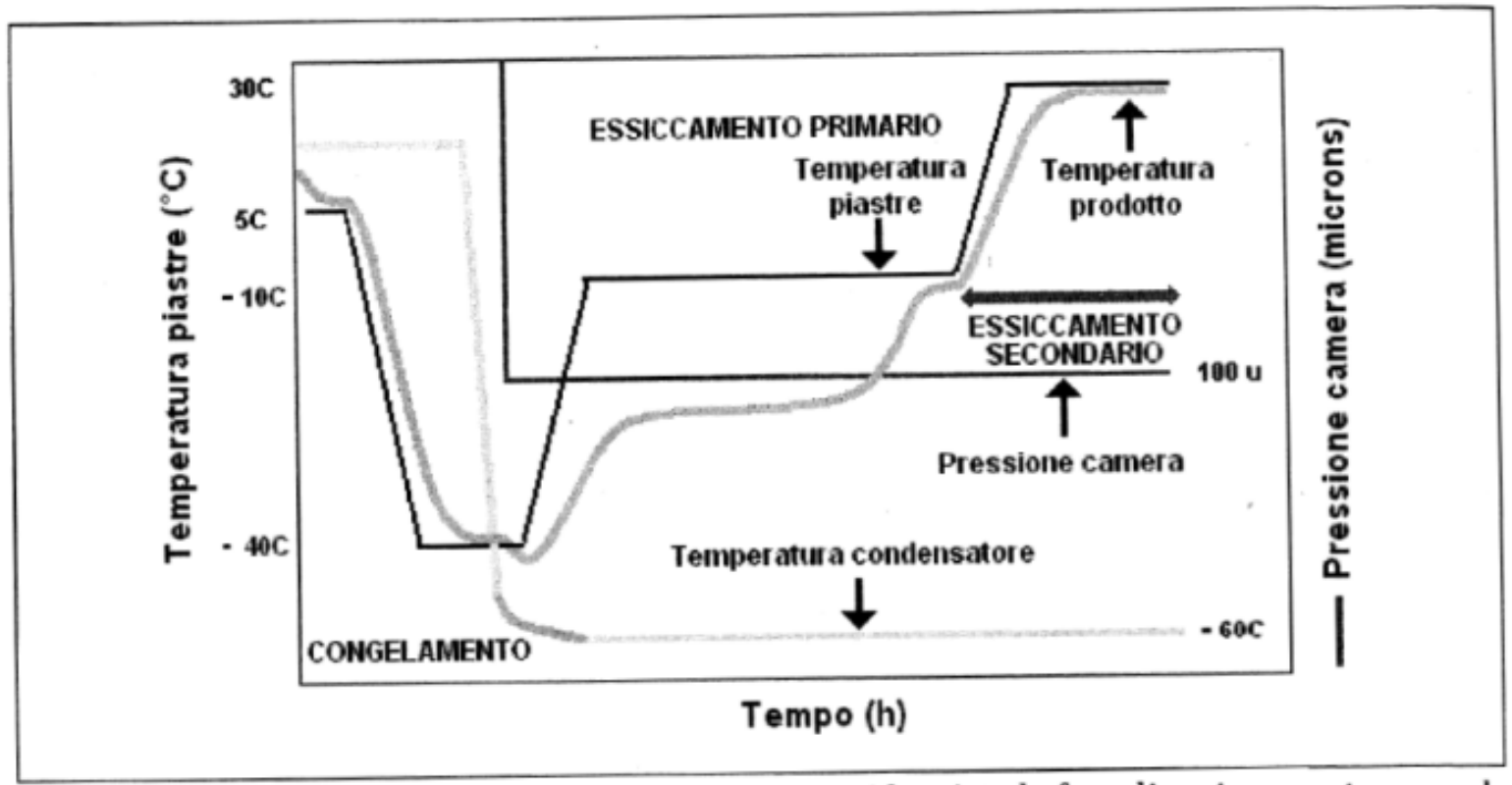


Diagramma completo di un ciclo di liofilizzazione con evidenziata la fase di essiccamento secondario.

Freezing protocol

- ✓ Sub-cooling
- ✓ Freezing rate

Crystal size

Process parameters

Qualitative parameters

Primary drying duration

Secondary drying duration

API activity

Product heterogeneity

CONTROLLO DEL PROCESSO DI LIOFILIZZAZIONE

I parametri fondamentali da tenere sotto controllo durante il processo di liofilizzazione sono:

- **la temperatura delle piastre** (termoresistenze in Cu, Pt o Ni);
- **la pressione nella camera** (vacuometri ad es. basati sulla conducibilità termica del gas);
- **l'umidità residua del prodotto** (metodo Karl Fischer).

Sono questi i parametri che influiscono sulle qualità finali del prodotto liofilizzato e quindi sulla sua stabilità ed efficacia.

LIOFILIZZATORI

LIOFILIZZATORE MILLROCK DA BANCO

LIOFILIZZATORE MILLROCK SERIE MAX