

# 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

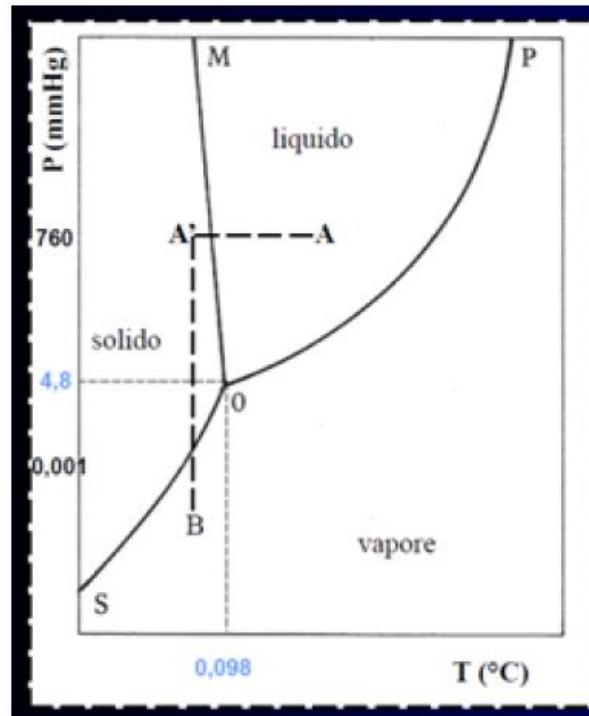
- SCARSA PERDITA DI ATTIVITA' PER PRODOTTI DELICATI E TERMOLABILI
- OTTENIMENTO DI UN PRODOTTO POROSO ED IMMEDIATAMENTE REIDRATABILE
- POSSIBILITA' DI OTTENERE PRODOTTI STERILI
- DOSAGGIO PRECISO ED ACCURATO DI PRODOTTO (LIQUIDO) NEI CONTENITORI FINALI

## 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**.

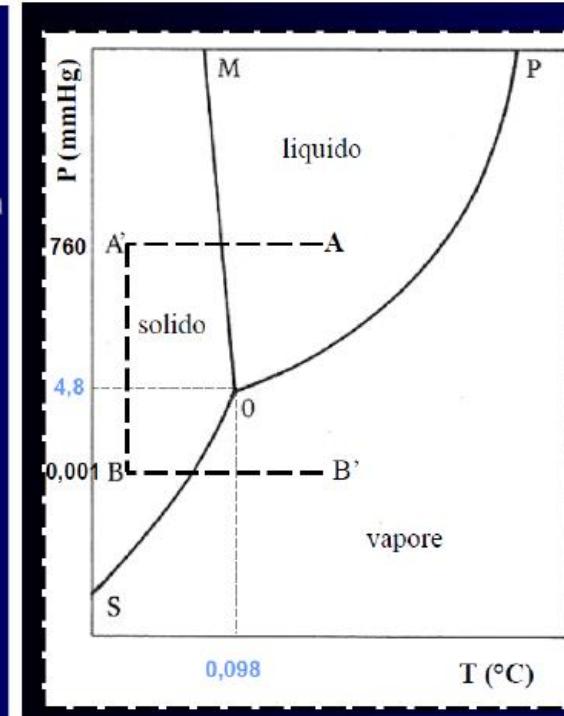
Portando un sistema acquoso al di sotto del **punto triplo** (0,098 °C e 4,8 mmHg) la rimozione dell'acqua può avvenire soltanto per sublimazione.



#### 1° “PERCORSO”

AA': congelamento a P atm  
A'B : diminuzione della P

SUBLIMAZIONE



#### 2° “PERCORSO”

AA': congelamento a P atm  
A'B: diminuzione della P  
B B': aumento della T a P costante

SUBLIMAZIONE

N.B. A prescindere dal metodo utilizzato bisogna sempre tenersi lontani dal punto triplo per evitare fenomeni di fusione.

## 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.  $\geq$  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 → *denaturazione 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 eutetiche a più basso punto di fusione.**

## **Sistemi di congelamento**

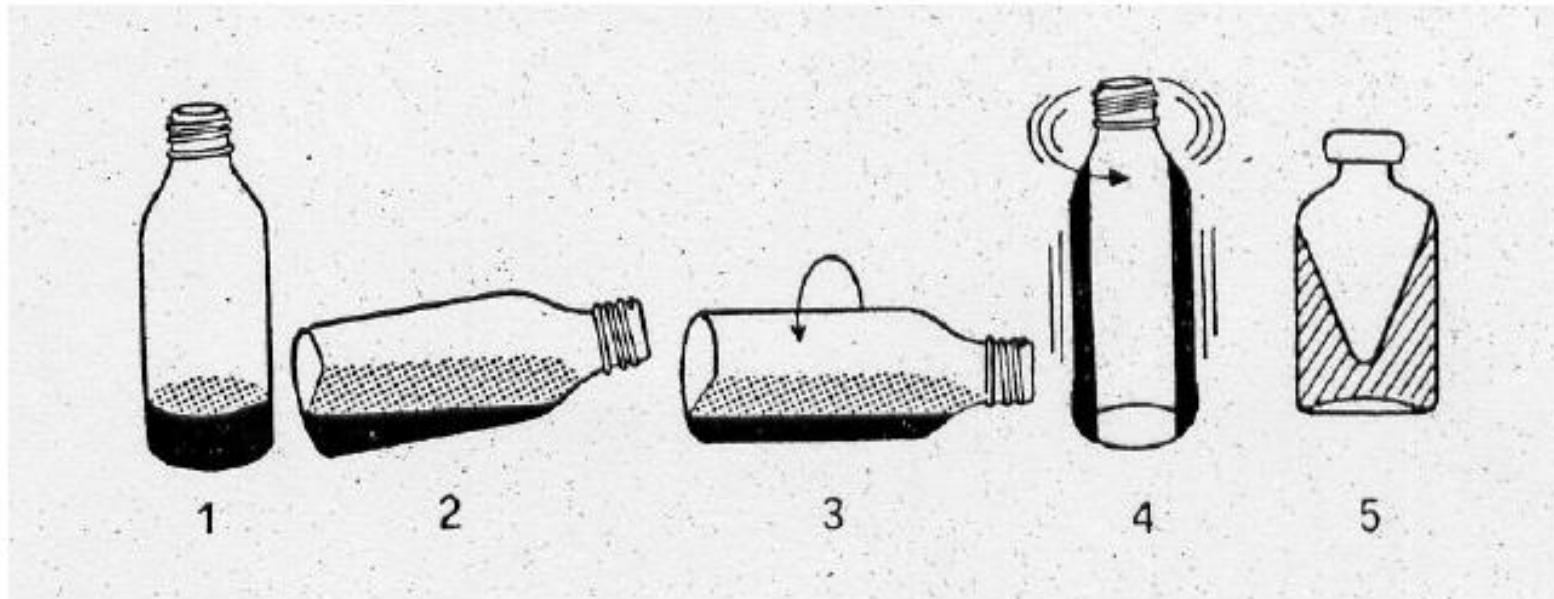
- ❖ Evaporazione sotto vuoto (utilizzato solo in alcuni apparecchi da laboratorio);
- ❖ Congelamento per raffreddamento (utilizzato nella pratica industriale).

# TEMPERATURE EUTETTICHE

Sostanza	Temperatura dello eutettico in °C
Acqua e $\text{Na}_2\text{SO}_4$	— 1,25
Acqua e $\text{K}_2\text{SO}_4$	— 1,52
Acqua e $\text{Na}_2\text{CO}_3$	— 2,1
Acqua e $\text{KNO}_3$	— 2,9
Acqua e $\text{MgSO}_4$	— 5,2
Acqua e $\text{KCl}$	— 10,7
Acqua e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	— 16,0
Acqua e $\text{NaCl}$	— 21,2
Acqua e $\text{MgCl}_2$	— 33,6
Acqua e $\text{K}_2\text{CO}_3$	— 36,5
Acqua e $\text{CaCl}_2$	— 54,9
Acqua e $\text{HCl}$	— 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 FREDDI 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**

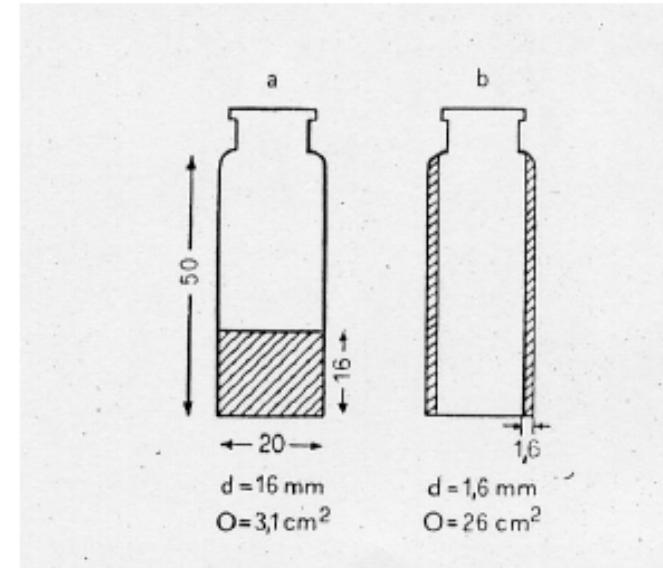
**RISPETTO AL PRECONGELAMENTO STATICO QUELLO A  
BECCO DI FLAUTO AUMENTA, A PARITA' DI VOLUME,  
LA SUPERFICIE DI EVAPORAZIONE.**

**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

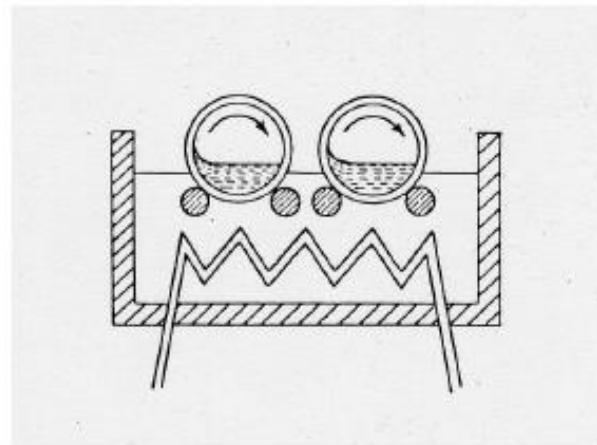
**IL CONGELAMENTO A ROTAZIONE E' NECESSARIO QUANDO I VOLUMI DA LIOFILIZZARE SONO PIUTTOSTO GRANDI (500-1000 mL, es. PLASMA) E CONSISTE NEL MUOVERE I CONTENITORI IN MODO TALE CHE IL LIQUIDO VENGA DISTRIBUITO SULLE PARETI DEL CONTENITORE, ASSUMENDO UNA GRANDE SUPERFICIE MA UN PICCOLO SPESSORE.**

**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**

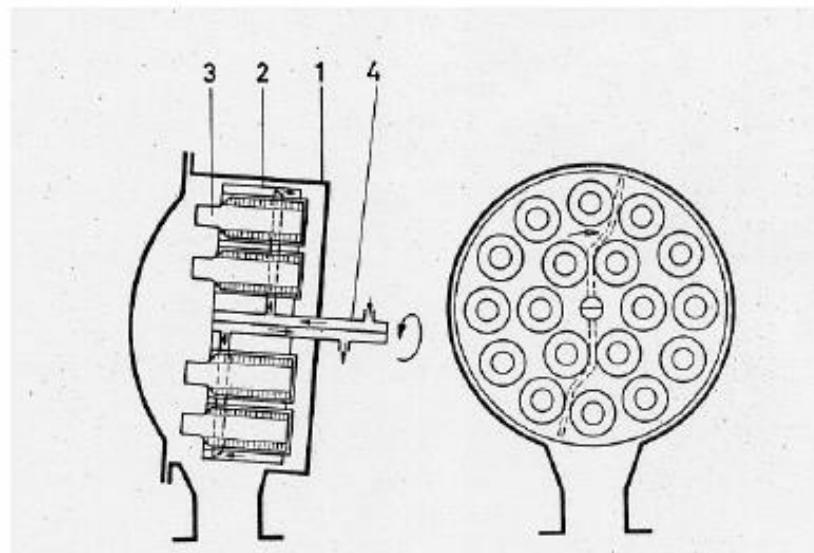
# PRECONGELAMENTO A ROTAZIONE



SCHEMA DI LIOFILIZZATORE CHE  
EFFETTUÀ 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

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.



# PRECONGELAMENTO A STRATI

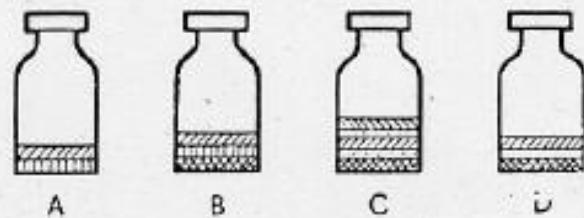


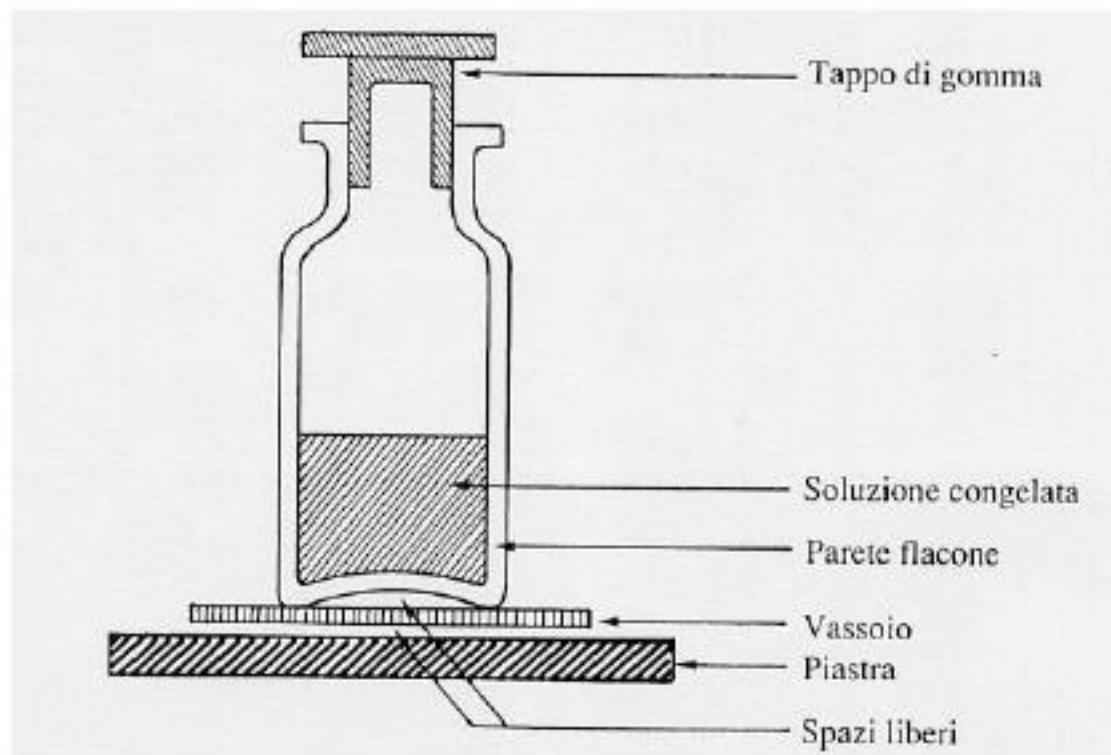
Fig. 483 - Forme diverse di precongelamento a strati (92).

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

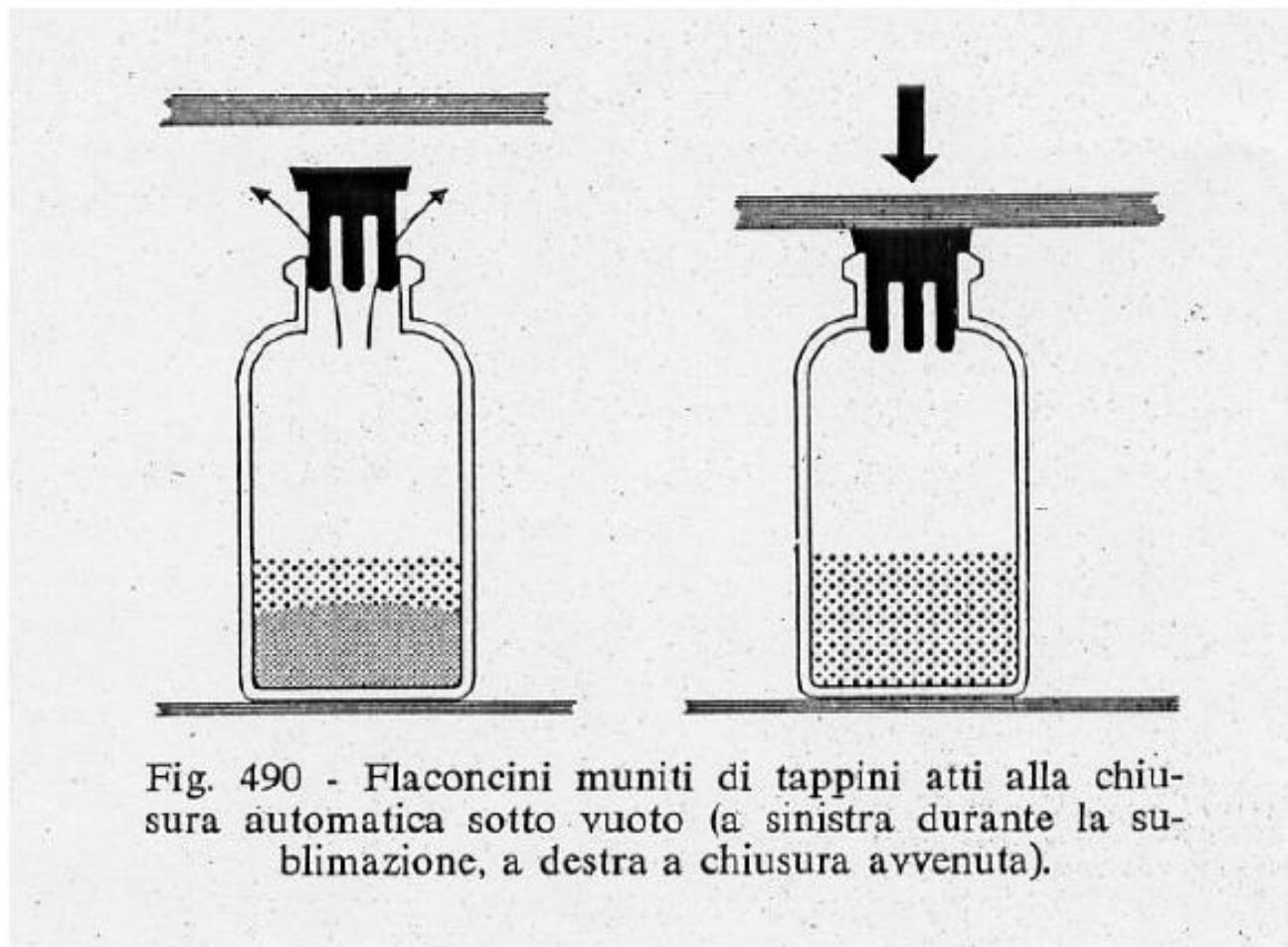
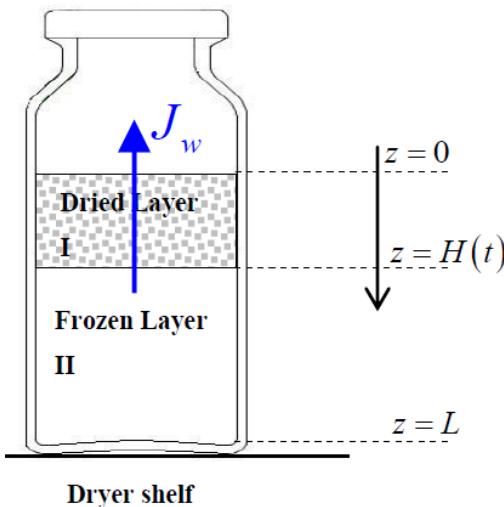


Fig. 490 - Flaconcini muniti di tappini atti alla chiusura automatica sotto vuoto (a sinistra durante la sublimazione, a destra a chiusura avvenuta).

## 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**

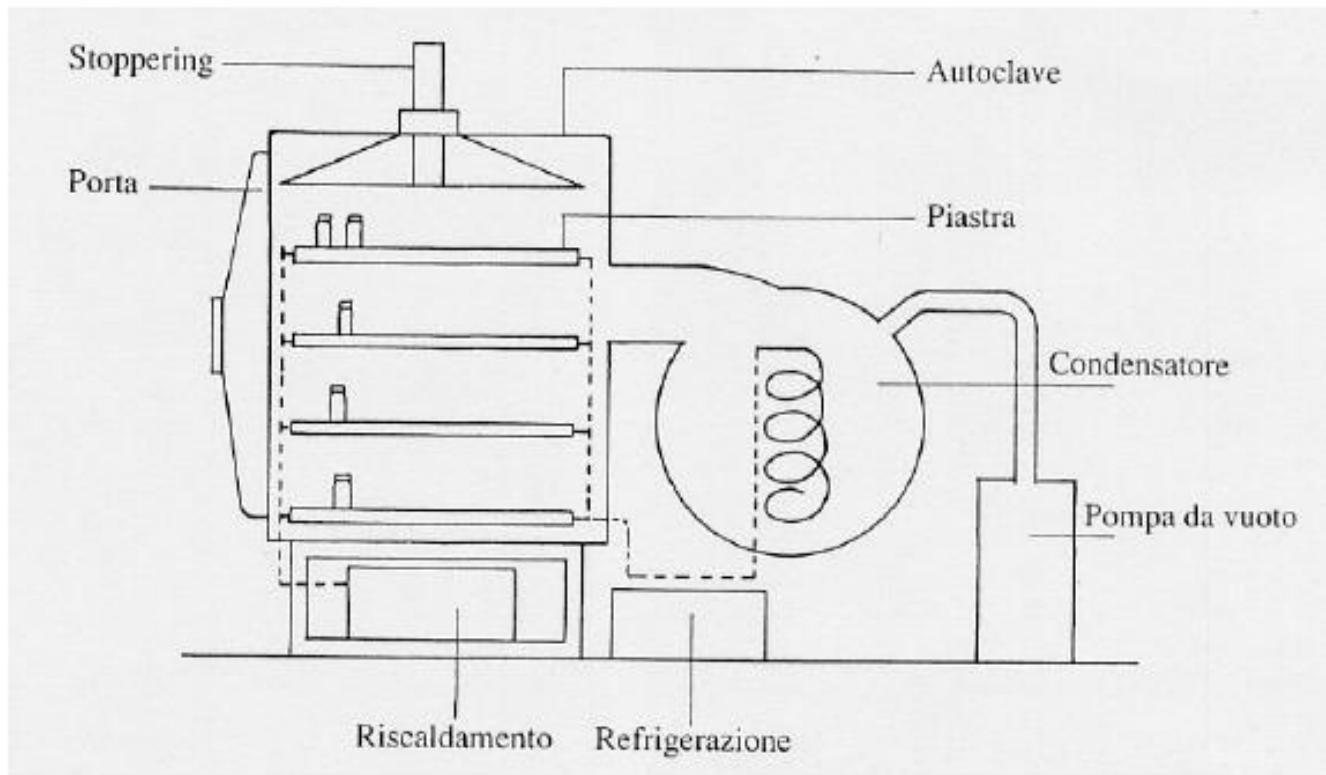
**QUESTI TRE SISTEMI HANNO IN COMUNE LA  
NECESSITA' DI SERVIRSI DI POMPE DA VUOTO.**

# **COMPONENTI PRINCIPALI DI UN IMPIANTO DI LIOFILIZZAZIONE**

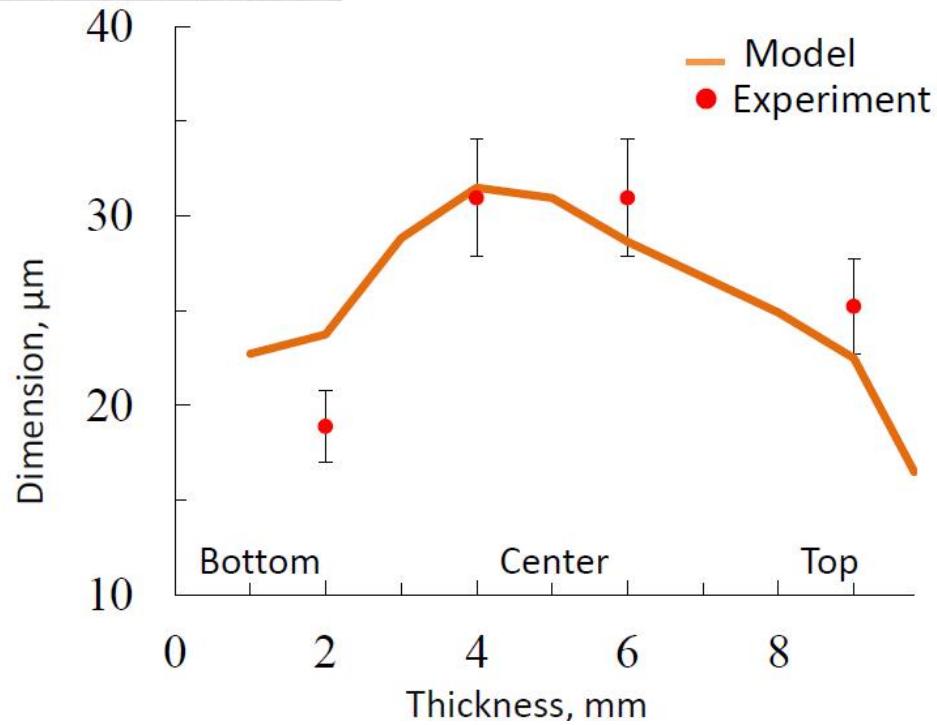
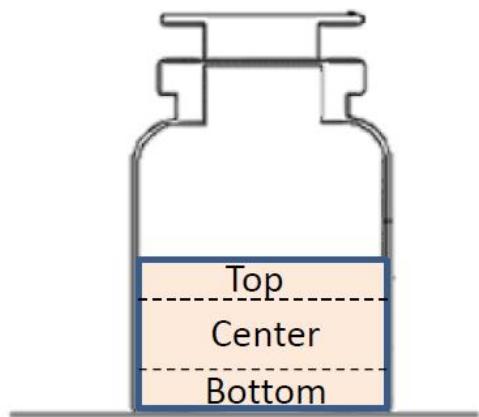
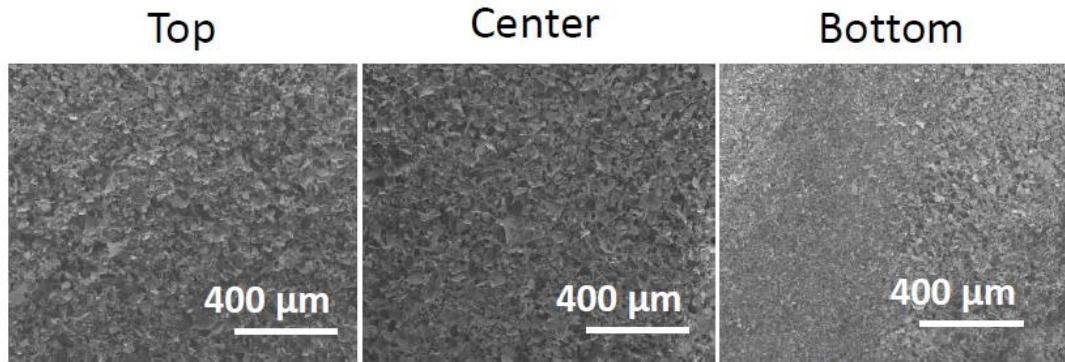
**I COMPONENTI ESSENZIALI DI UN IMPIANTO DI LIOFILIZZAZIONE SONO:**

- ❖ 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



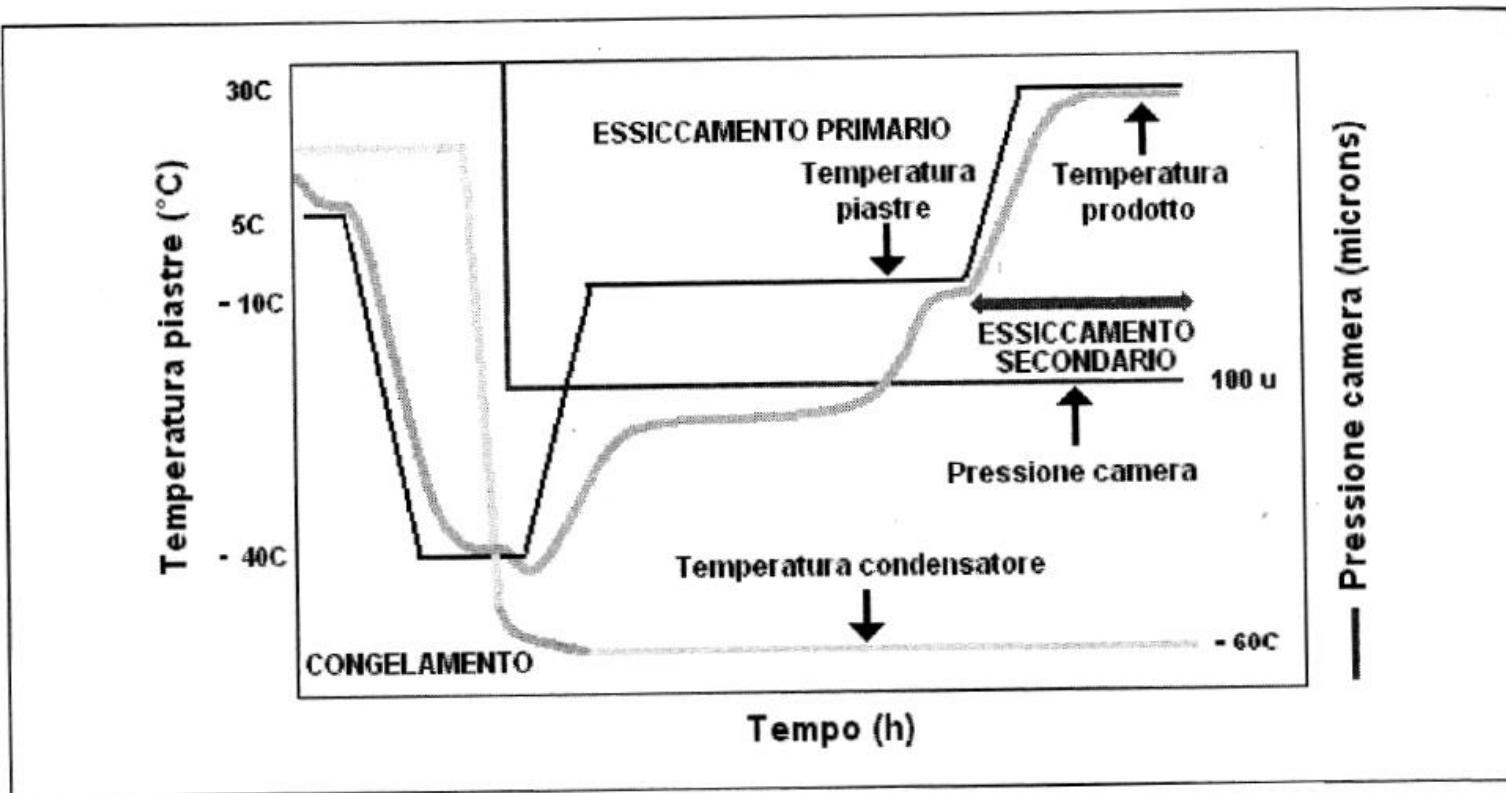
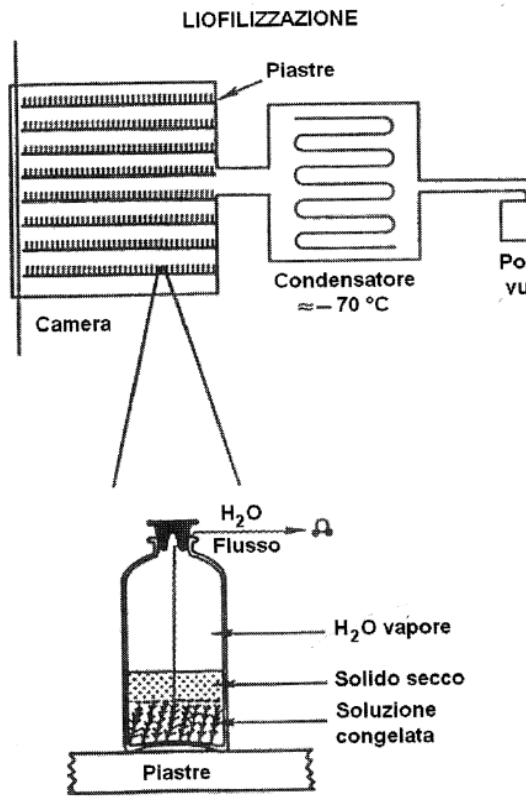
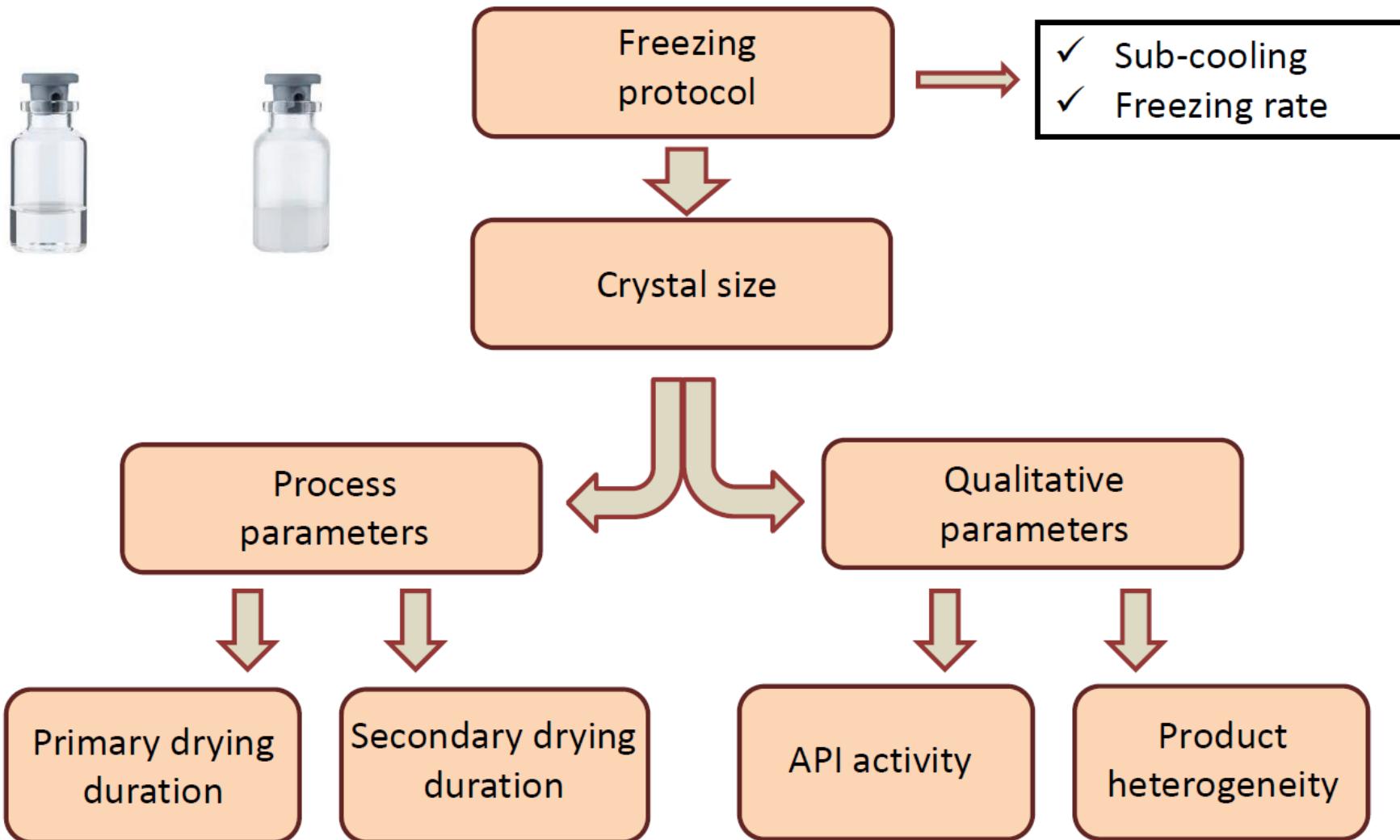


Diagramma completo di un ciclo di liofilizzazione con evidenziata la fase di essiccazione secondario.



## 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