
Saber y Hacer
Revista de Ingeniería de la USIL
Vol. 1, Nº 1. Primer semestre 2014. pp. 93 - 102

Liofilização: ciência ou arte?¹
La liofilización: ¿ciencia o arte?
Lyophilization: science or art?

Ana M. I. Bartolomeu²
Fundacao Armando Alvares Penteado

¹ Este artículo fue publicado en la Revista Engenharia FAAP- Brasil (2004 - ano 16 - Edição 44).

² Engenheira Química formada pela FEFAAP, Mestre e Doutora pela USP, professora da Graduação da FEFAAP e da Pós-Graduação FAAP. Diretora da Sociedade Internacional de Liofilização (International Society of Lyophilization – Freeze Drying, Inc. – ISL-FD, Delaware, PA, USA) de 2003 a 2009.

E-mail: amayrosa@faap.br

Resumo

Podemos definir liofilização como um processo de estabilização, no qual uma substância é previamente congelada e então a quantidade de solvente (geralmente água) é reduzida, primeiro por sublimação e posteriormente por dessorção, para valores tais que impeçam atividade biológica e reações químicas. A liofilização tem sido usada há várias décadas em escala industrial para a estabilização de numerosos produtos, muitos dos quais de origem biológica. Embora métodos alternativos estejam disponíveis para este propósito, a liofilização frequentemente é o método de escolha para a desidratação de fármacos, vacinas, produtos de biotecnologia e diagnóstico, devido às vantagens oferecidas em termos de estabilidade térmica e retenção de atividade, durante o processo e durante o subsequente armazenamento do produto liofilizado. Apesar de seu uso extenso, muitos equívocos ainda cercam o processo, inclusive a convicção de que a liofilização é uma técnica simples que pode ser aplicada a qualquer produto que requer secagem. Além disso, muitas considerações tratam o processo como uma arte ao invés de uma ciência.

Palavra chave: liofilização

Abstract

The freeze-drying (lyophilization) process is defined as a stabilizing process in which a substance is first frozen and then the quantity of the solvent (generally water) is reduced, first by sublimation and then desorption to values that will no longer support biological activity or chemical reactions. Freeze-drying has been used for several decades on an industrial scale for the stabilization of numerous products, many of which are of biological origin. Although alternative methods are available for this purpose, freeze-drying often remains the method of choice for the dehydration of pharmaceuticals, vaccines, diagnostics and biotechnology products, due to the advantages it can offer in terms of thermal stability and retention of activity, both during the process itself and during subsequent storage of the freeze-dried product. In spite of its extended use, many misunderstandings still surrounded the process, besides the conviction that the freeze-drying is a simple technique that can be applied to any product that request drying. Perhaps the most general mistake made regarding the lyophilization process is its treatment as an art rather than a science.

Key words: lyophilization, freeze-drying.

Introdução

Congelamento e subsequente secagem no estado congelado são fenômenos bem conhecidos desde tempos remotos. É do conhecimento de todos que em tempos de inverno, a neve poderia desaparecer da terra, sem derreter, por sublimação direta sob calor radiante. A

civilização Inca, nos picos superiores do reino montanhoso, secava alimentos, ao sol, sob pressão atmosférica reduzida. Porém, só por volta do Século XX Altman e Gersh, fizeram uso desta técnica para a preparação de amostras biológicas para microscopia, dando, então, uma aplicação potencial para as experiências básicas de Bordas e d'Arsonval (1906).

A liofilização permaneceu um assunto confidencial até a Segunda Guerra Mundial. Só então, tornou-se uma prática corrente quando, Earl Flosdorf nos E.U.A., Ronald Greaves na Inglaterra e François Henaff na França, prepararam os primeiros lotes de plasma sanguíneo liofilizado para o tratamento de vítimas em campos de batalha. Na ocasião, Earl Flosdorf, considerando que esta técnica pôde preparar um sólido altamente solúvel, chamou o processo de liofilização, do grego, “amigo de solvente”.

Quase ao mesmo tempo, na Inglaterra, Ernst Chain, entendeu que este novo processo seria o modo ideal para estabilizar produtos bioquímicos frágeis, como o que ele havia isolado, a Penicilina. Este era o real começo do desenvolvimento prodigioso de antibióticos, uma, se não, a principal das contribuições mais significantes da ciência para gênero humano. O Prêmio Nobel foi dado a Ernst Chain em 1945.

Nos anos seguintes, extratos de tecido, hormônios, esteróides, ossos e fâscia para cirurgias de reparação e reconstrução e muitas outras substâncias ativas instáveis, foram preparadas através da liofilização; inclusive soros e vacinas, um campo crucial no qual Charles Mérioux abriu caminho.

A liofilização ainda é tratada por muitos como uma arte. O vidro foi tratado como um tipo de arte por milhares de anos depois de sua descoberta e só na segunda metade do século passado ocorreu a transição para ciência. Devido à ciência, principalmente a mecânica quântica, computadores produzidos há vinte anos quando comparados aos sistemas atuais, fazem-nos parecer da idade da pedra. Para que a liofilização faça tal salto em tecnologia dependerá principalmente de avanços em métodos analíticos térmicos. Contudo, convém frisar que, se consome menos tempo e esforço para desenvolver um processo de liofilização, para um determinado produto, pelo uso de princípios científicos do que por tentativa e erro.

Definição.

Há muitas definições alternativas, a maioria delas incompletas para definir liofilização. Operacionalmente poderíamos definir o processo como um método controlável de desidratar materiais lábeis, freqüentemente de origem biológica, através da dessecação sob pressão reduzida.

Tecnicamente a liofilização pode ser descrita como:

1. Resfriamento da amostra;
2. Conversão da água congelável em gelo;
3. Congelamento eutético de componentes cristalizáveis;
4. Persistência de uma matriz amorfa composta de solutos não cristalizáveis e umidade não congelável;
5. Sublimação do gelo sob pressão reduzida;
6. “Evaporação” da água da matriz amorfa;
7. Dessorção da umidade remanescente na matriz aparentemente seca.

O diagrama de fases da água (figura 1) representa um papel chave no processo de liofilização. É uma representação gráfica das propriedades da água em termos de duas variáveis intensivas, pressão e temperatura. O diagrama mostra as regiões onde as fases sólida, líquida e vapor estão presentes. A interseção das três linhas ocorre a uma temperatura de $0,0098^{\circ}\text{C}$ e uma pressão de $4,58\text{ mmHg}$, o chamado ponto triplo. Neste ponto, todas as três fases da água coexistem. Se fornecermos calor a um material em condições abaixo do ponto triplo, a água contida neste produto passará diretamente do estado sólido ao de vapor, sublimando. É nestas condições que ocorre a liofilização, porém convém mencionar, que no processo de liofilização, a temperatura do produto congelado deve ser mantida bem abaixo de 0°C .

A liofilização apresenta várias vantagens ao competir com outros processos de desidratação. A baixa temperatura mantida durante todo o processo, evita qualquer alteração química das substâncias sensíveis ao calor e umidade. Por este motivo, um produto seco por esta técnica mantém inalterável a sua composição química original, a sua atividade terapêutica e outras propriedades características. Se for acondicionado e armazenado convenientemente, poderá manter-se sem alteração por um longo período. Os produtos liofilizados apresentam facilidade na reconstituição devido à estrutura porosa deixada pela saída da água. Isto garante a reprodução fiel do produto original uma vez em contato com a fase líquida primitiva. A liofilização reduz a tendência que certos produtos têm para aglomerarem quando dessecados por outras técnicas, além de reduzir também a perda de constituintes voláteis.

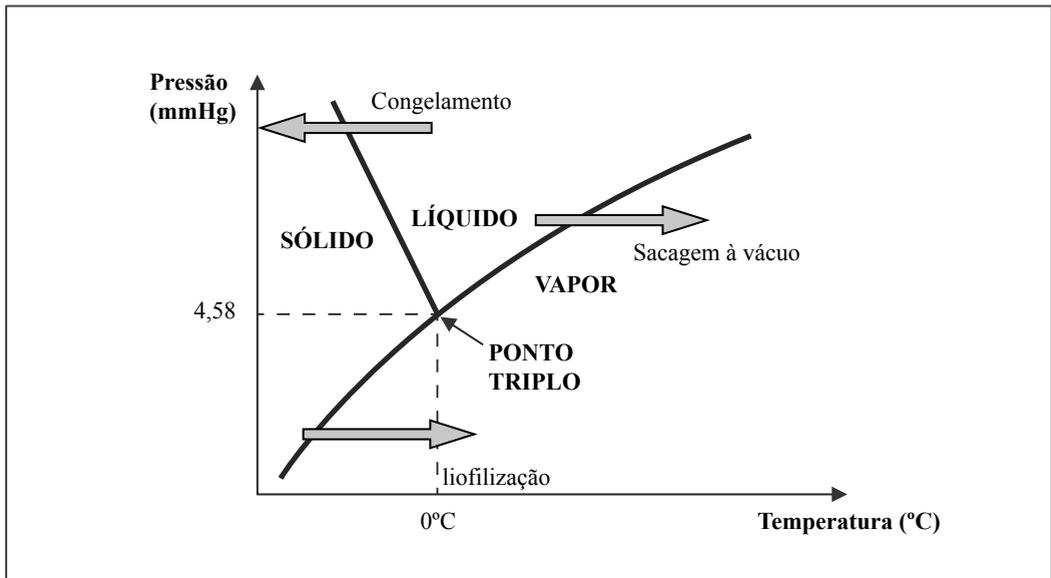


Figura 1. Diagrama de fases da água

Fonte: Elaboração própria

Que tipos de produtos são liofilizados?

1. Não-biológicos, onde o processo é usado para desidratar ou concentrar reativos ou substâncias químicas sensíveis ao calor.
2. Bio-produtos não vivos, esta compreende a principal área de aplicação e inclui:
 - a) enzimas, hormônios, antibióticos, vitaminas, hemo-derivados, anticorpos, vacinas inativadas, etc. Este sub-grupo inclui fármacos que podem ser usados para diagnóstico e terapêutica;
 - b) ossos e outros tecidos do corpo para uso cirúrgico ou médico;
 - c) alimentos, onde propriedades organolépticas são importantes;
 - d) bio-produtos úteis industrialmente.
3. Organismos vivos, onde células reconstituídas depois da secagem devem poder crescer e multiplicar-se para produzir nova progênie. Exemplos incluem bactérias e fungos usados como culturas de semente ou vacinas viróticas atenuadas.
4. Usos diversos: livros danificados por inundações, artefatos de museu, etc.

Há equipamentos de liofilização de diversos modelos para as mais diferentes aplicações. A figura 2 mostra um esquema geral de um liofilizador industrial. Basicamente consta de quatro partes: uma câmara de secagem, um condensador, uma bomba de vácuo e um compressor. A câmara de secagem lembra um armário com várias prateleiras, destinadas a receberem o material a secar. É construída de forma a suportar as pressões negativas de operação e possui uma porta que fecha hermeticamente, através da qual se faz a carga e descarga do equipamento. A câmara de secagem está diretamente ligada ao condensador e este, por sua vez, à bomba de vácuo. O condensador opera a temperaturas abaixo de -40°C , dependendo dos obstáculos que o vapor encontra para atingir o condensador. A temperatura da superfície do condensador deve ser mantida em valores tais que a pressão de vapor do gelo esteja bem abaixo da pressão total na câmara. Quanto maior for o gradiente de temperatura entre o produto e o condensador maior será a velocidade de secagem. O calor deve ser fornecido ao material através do aquecimento das placas por um fluido circulante ou por resistência elétrica. A razão de remoção da umidade depende da taxa de fornecimento de calor ao produto. Portanto, depende da condutividade térmica do material bem como da sua espessura.

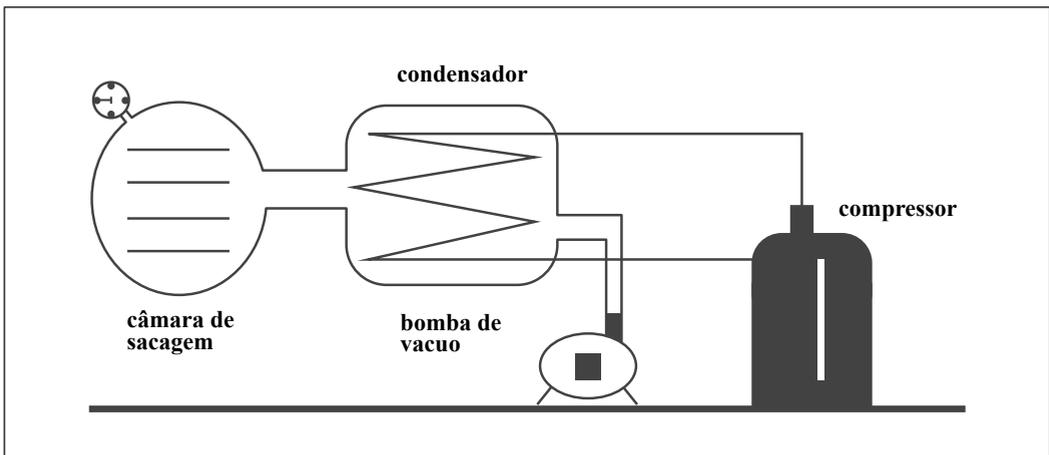


Figura 2. Esquema geral de um liofilizador

Fonte: Elaboração própria

As três etapas do processo de liofilização, congelamento, secagem primária e secagem secundária são críticas. A determinação correta dos parâmetros que envolvem estas fases são de fundamental importância e da sua correta manipulação depende a qualidade do produto final.

Congelamento inicial.

Durante o congelamento de uma solução, a água transforma-se em gelo, num variado, porém, alto grau de pureza. Os constituintes não aquosos são concentrados em uma pequena quantidade de água. A figura 3 representa as relações de equilíbrio líquido sólido entre a água e um sal a diferentes concentrações e temperaturas. Em uma solução cuja concentração está situada à esquerda do ponto eutético (temperatura de solidificação total), à medida que se reduz a temperatura, ocorre a separação do gelo e a solução remanescente torna-se cada vez mais concentrada, até atingir a concentração eutética. Uma solução à direita do ponto eutético precipita o sal à medida que ocorre o resfriamento e torna-se cada vez mais diluída até atingir a concentração eutética.

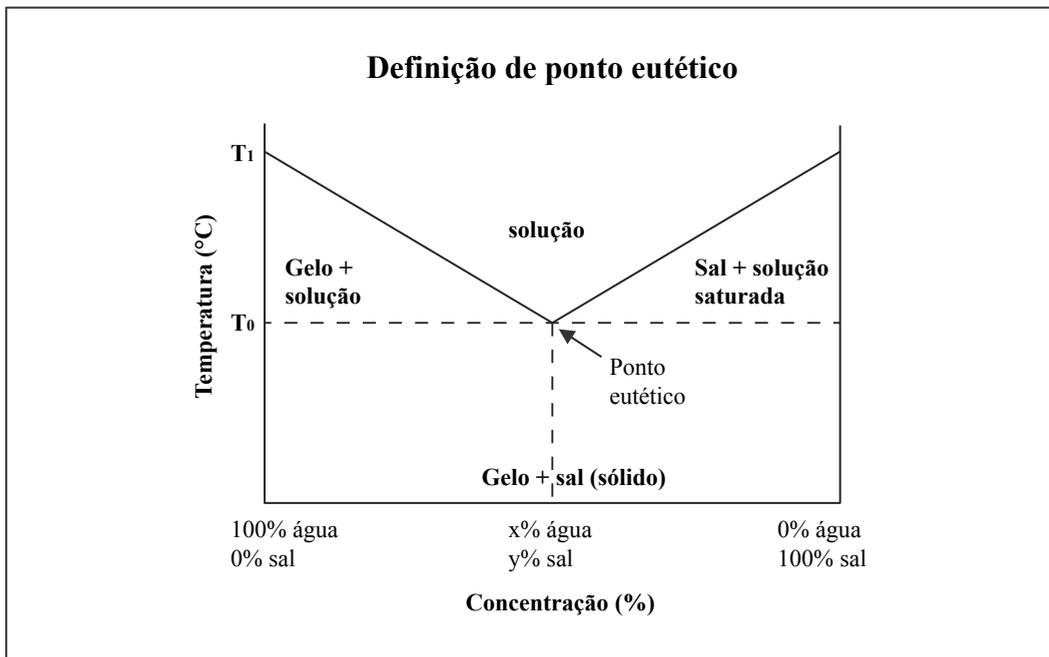


Figura 3. Diagrama de equilíbrio sólido-líquido

Fonte: Elaboração própria

Para um material ser congelado, de forma que a liofilização possa ocorrer, deve haver uma mudança de fase envolvendo o solvente. Se o solvente é água, então devem ser formados cristais de gelo. A formação desses cristais de gelo resultam na separação do soluto do solvente. Os solutos são então confinados a uma localização conhecida como a região intersticial da matriz. Essa região intersticial não só tem que conter os solutos da formulação original, mas, também uma quantidade pequena de água que não cristalizou. A temperatura na qual a mobilidade da água intersticial fica significante é definida como a temperatura de colapso e dependerá da natureza dos solutos.

A determinação precisa do ponto eutético de um determinado material é de grande importância. Constitui o limite térmico superior a não ultrapassar durante a liofilização, descartando assim o risco de provocar o fenômeno do colapso, que é uma alteração estrutural perceptível como um encolhimento radial da matriz sólida do liofilizado. A causa desse encolhimento é atribuída a uma redução da viscosidade.

Produtos que no congelamento não formam eutético, e sim matrizes altamente viscosas e amorfas, não sofrem transições de fases definidas, mas podem fluir em função da temperatura e umidade, devido à redução da viscosidade.

Secagem primária.

Quando a temperatura e pressão requeridas são atingidas no condensador e câmara respectivamente, inicia-se a secagem primária. A temperatura de placa é aumentada de tal forma que a sublimação do gelo possa ocorrer na matriz do produto. A temperatura do produto é então diminuída para assegurar uma matriz completamente congelada ao longo de todo o processo de secagem primária. Em um caso ideal, a temperatura do produto, durante o processo de secagem primária, será diretamente dependente da temperatura de placa e da pressão na câmara, isto é, o número de graus de liberdade da temperatura do produto se aproximará de zero. Conseqüentemente para manter uma determinada temperatura do produto não é possível mudar a pressão na câmara sem a compensação de uma mudança na temperatura de placa. O final da secagem primária pode ser constatado pelo aumento da temperatura do produto, num valor próximo à do ambiente o que equivaleria pela observação visual, ao desaparecimento da interface entre a camada seca e a camada congelada.

Secagem secundária.

Após a secagem primária, prossegue-se com a evaporação da água remanescente por um período em geral de 30% a 50% do tempo gasto na primeira fase. O processo de secagem secundária serve para diminuir o conteúdo de umidade residual no bolo formado pelo produto, de tal forma que já não haverá crescimento biológico ou reações químicas. O conteúdo de umidade de equilíbrio do produto será dependente da temperatura do bolo, da pressão parcial do vapor de água sobre a superfície do mesmo e da interação química entre a composição da formulação e o vapor de água. Para um determinado material, o conteúdo de umidade final pode ser reduzido por um aumento na temperatura de placa (a uma pressão parcial constante do vapor de água) ou uma redução na pressão parcial do vapor de água sobre a superfície do bolo (a uma temperatura constante do produto).

A conclusão do processo de secagem secundária geralmente é simbolizado pela temperatura do produto aproximando-se da temperatura de placa por um período específico de tempo.

A figura 4 mostra um ciclo completo de liofilização em função do tempo, temperatura e pressão para uma formulação de baixa concentração de um produto farmacêutico. Observa-se que o tempo de secagem primária para o produto do exemplo foi de 10 horas aproximadamente. O material permaneceu a uma temperatura de -40°C durante este período e a pressão na câmara foi de aproximadamente 50 mTorr. Já na secagem secundária, iniciada automaticamente logo após a primária, a temperatura do produto foi sendo elevada gradativamente até 20°C . A pressão na câmara de secagem nessas condições caiu a 0 mTorr.

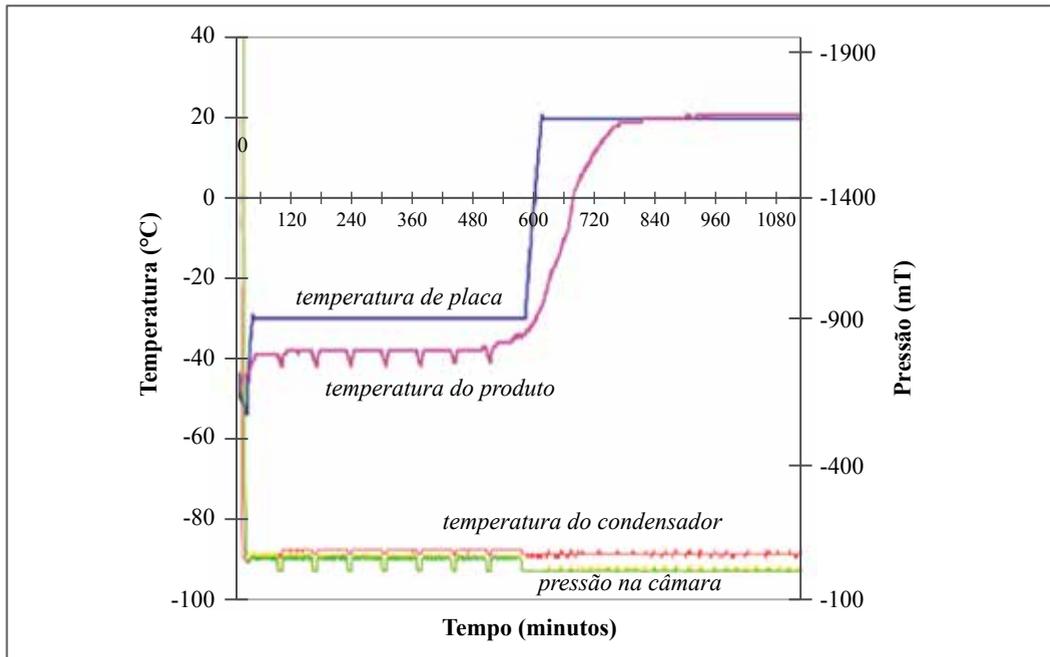


Figura 4. Curva de liofilização de uma formulação farmacêutica de um sal em baixa concentração.

Fonte: Elaboração própria.

Cada produto tem suas particularidades e, portanto cada ciclo de liofilização é único. Talvez resida nesse ponto o fato que torna o processo de liofilização uma operação unitária tão instigante que o faz parecer uma arte.

Referencias

- Ayrosa, A.M.I.B. (1999). *Estudo do perfil de textura da carne bovina cozida liofilizada*. São Paulo (Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo). São Paulo: USP.
- Ayrosa, A.M.I.B., Faintuch, B.L., Pitombo, R.N.M. (2001). Freeze-drying parameters and hygroscopic profile of radiopharmaceutical kits labeled with ^{99m}Tc . *The Journal of Nuclear Medicine*, 42, p.264.
- Jennings, T.A. (1999). Lyophilization. *Introduction and Basic Principles*. Buffalo Grove: Interpharm Press.
- Jennings, T.A. (1988). *Discussion of primary drying during lyophilization*. *Science and Technology*, 42(4), pp.118-121.
- Rey, L. (octubre, 2002). *Some leading prospects in freeze-drying*. Lyophilization Conference 2002 Timetable, Amsterdam.