



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

OPTIMIZACION EN EL PROCESO DE LIOFILIZACION PARA VACUNA BCG

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO QUIMICO
P R E S E N T A :
JOSE MACIEL ORTIZ

U N A M
ZARAGOZA



LO ORGANIZO
Y LE ENTREGO
EL TITULO DE INGENIERO QUIMICO

MEXICO, D. F.

OCTUBRE 1994

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

1994
26 Leje.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES *ZARAGOZA*

JEFATURA DE LA CARRERA
DE INGENIERIA QUIMICA

SR. JOSE MACIEL ORTIZ
P R E S E N T E.

En respuesta a su solicitud de asignación de jurado para el Examen Profesional, le comunico que la Jefatura a mi cargo ha propuesto la siguiente designación:

PRESIDENTE: ING. RENE DE LA MORA MEDINA
VOCAL: Q.B.P. JORGE FERNANDO GOMEZ HERRERA
SECRETARIO: ING. RAUL RAMON MORA HERNANDEZ
SUPLENTE: ING. JOSE ANTONIO GONZALEZ HERNANDEZ
SUPLENTE: ING. GONZALO RAFAEL COELLO GARCIA

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
México, D.F., 12 de julio de 1994

M. en C. ALEJANDRO RUIZ CANCINO
JEFE DE LA CARRERA DE
INGENIERIA QUIMICA

Irm

**EL PRESENTE TRABAJO FUE DESARROLLADO EN LA GERENCIA
GENERAL DE BIOLÓGICOS Y REACTIVOS, A LA CUAL AGRADEZCO
TODAS LAS FACILIDADES OTORGADAS.**

**A EL DR. JORGE FDO. GOMEZ
HERRERA POR SU DIRECCION,
AYUDA, APOYO Y CONFIANZA QUE
ME BRINDO PARA LA
ELABORACION DE ESTA TESIS.**

**A EL ING. RENE DE LA MORA
MEDINA POR SU ACERTADA
DIRECCION, AYUDA Y
ORIENTACION DURANTE EL
DESARROLLO DEL PRESENTE
TRABAJO.**

**A LA MEMORIA DE MI MADRE
BERTHA ORTIZ G., UNO DE LOS
MAS GRANDES PILARES DE MI
VIDA.**

**A MI PADRE:
SR. JOSE MACIEL S., POR SU
APOYO, AYUDA DESMEDIDA, POR
SU EJEMPLO DE TENACIDAD Y
LUCHA CONSTANTE.**

A MI ESPOSA:

**ROCIO MOTA T., POR EL GRAN
IMPULSO, CONFIANZA,
COMPRENSION Y POR SER MI
MEJOR AMIGA Y COMPAÑERA.**

A MIS HIJOS:

**ROSA ANGELA, ROCIO FERNANDA
Y JOSE EDUARDO G., POR TODA
SU TERNURA Y SATISFACCION
QUE RECIBO DE ELLOS.**

**A MIS HERMANOS:
CONSUELO Y FERNANDO, POR SU
APOYO Y CARIÑO DE TODA LA
VIDA.**

**A LOS BIÓLOGOS:
GERMAN MOTA Y ROSA TAPIA
POR SU APOYO, AMISTAD Y
SOBRE TODO POR SU EJEMPLO.**

INDICE

Introducción	1
1. Generalidades	4
1.1 Liofilización	5
1.2 Vacuna BCG	15
1.3 Optimización	17
2. Fundamentación Teórica	26
2.1 Aspectos Termodinámicos	27
2.2 Fenómenos de Transporte Presentes	30
3. Proceso de Optimización	42
4. Análisis Comparativo de Procesos	45
4.1 Proceso Original	46
4.2 Proceso Simulado	46
5. Análisis de Resultados	48
6. Conclusiones	51
Bibliografía	54
Apendice A	57

Nombre: José Maciel Ortiz
Carrera: Ingeniería Química
No. Cta.: 8454190-9
Dom.: 1er Retorno de Rosario Castellanos 153-B
México, D.F., CP 04480
Tel.: 695-2237

OPTIMIZACION EN EL PROCESO DE LIOFILIZACION PARA VACUNA BCG

En el presente trabajo, se establecen las condiciones óptimas para realizar la liofilización de vacuna líquida de BCG en presentación de 50 dosis; dichas condiciones han de ser consideradas bajo ciertas restricciones ya los valores se reportan de un modelo matemático, el cual no contempla la sensibilidad del sistema térmico del equipo liofilizador.

Por lo antes expuesto es necesario procesar lotes experimentales, en corridas de liofilización en condiciones simuladas, para observar si no se afectan las características de calidad del producto liofilizado. El tiempo dispuesto por la simulación a lo largo del proceso es de 12 horas con lo cual comparando con el proceso original, reditúa una disminución de 8 horas, minimizando el costo de proceso.

El tiempo de ejecución para realizar la sublimación es de 6 horas, en las cuales el fenómeno es ampliamente controlado.

El diseño de optimización contempla aspectos importantes tales como el fondo plano de las ampollas, ya que de no ser de esta forma geométrica se formaría una barrera térmica a la transferencia de energía.

En forma concreta este trabajo provee de herramientas necesarias para modificar las actuales condiciones de liofilizar vacuna líquida de BCG.

INTRODUCCION

La liofilización es un proceso que consiste en desecar, bajo presión reducida, un producto previamente congelado, sublimando el solvente, en el caso de las soluciones acuosas. Es un procedimiento de gran utilidad en la conservación de productos biológicos, sin embargo es un método que en sus diferentes etapas pueden provocar gran daño irreversible en el material liofilizado, cuando se trata de liofilización de microorganismos, que no van a ser usados como una semilla o como un iniciador de cultivos, sino como un producto de uso inmediato, es de gran importancia mantener su viabilidad.

En el caso especial de la vacuna BCG*, utilizada para la prevención de la tuberculosis por tratarse generalmente no de partículas individuales, sino de conglomerados de diversos tamaños, hacen que el proceso de liofilización presente características muy especiales, que elevan la dificultad del control de parámetros, en la obtención de una excelente supervivencia y estabilidad.

Para lograr los fines de éxito es necesario tomar en cuenta los siguientes factores:

- Cepa de BCG
- Medio de Producción
- Edad del Cultivo en la Cosecha
- Método de Preparación de la Suspensión
- Temperatura y Vacío
- Viabilidad de los Microorganismos antes de la Liofilización
- Velocidad de Congelación y Calentamiento
- Humedad Residual
- Atmósfera de Sellado
- Temperatura de Almacenamiento

En conclusión se pueden clasificar en dos grandes grupos los factores señalados:

- Factores que intervienen durante la preparación de la vacuna líquida
- Factores que intervienen en el proceso de liofilización

* BCG: Bacilo de Calmette-Guérin

Actualmente se han incrementado el uso de la liofilización en vacunas atenuadas como son: BCG, Antisarampión y Brucella abortus, las cuales tienen un índice alto de supervivencia, una mayor estabilidad a las diferentes condiciones climatológicas y una mayor caducidad, con respecto a las vacunas sin liofilizar.

El proceso de liofilización consta principalmente de tres etapas:

- Congelación
- Secado Primario
- Secado Secundario

En el secado primario se elimina el 90% del agua, en el secado secundario por el efecto del calor suministrado hay aumento de la cinética molecular y se elimina aproximadamente otro 7% de agua. El agua restante es de constitución y debe ser de 1.5% como mínimo y 3% como máximo.

Para liofilizar microorganismos es necesario que estén suspendidos en un soporte que los proteja evitando la formación de agujas de cristales de agua durante la etapa de congelación, además facilita la formación de una pastilla en la cual el agua se elimina homogéneamente por la formación de canales, que a su vez también facilitan la rehidratación.

Los soportes más empleados son leche descremada, aminoácidos, azúcares, proteínas, polisacáridos de alto peso molecular o mezclas de algunos de estos con lo cual se obtienen resultados de supervivencia de los microorganismos que al usario en forma individual.

El avance de la optimización se ha desarrollado paralelo al de la computación y hoy en día problemas con varios miles de variables independientes y ecuaciones de restricción pueden ser resueltos fácilmente. Esta técnica se ha empleado en refinerías y plantas químicas, mezclas de alimento para ganado, planeamiento de las rutas de aviación y utilización de la tripulación, problemas de transporte y distribución, en general, en problemas de estrategia integral.

La aplicación de la optimización ha sido fructífera cuando existe un gran número de alternativas interrelacionadas y la mejor política es en absoluto obvia. A menudo, una pequeña mejora en la solución, da como resultado una gran variación en la utilidad total.

Un problema de minimización puede ser tratado siempre como uno de maximización, buscando el valor

de $(-x)$ que satisfaga la función $f(x)$.

Debido a que la función puede ser discontinua, no es recomendable el uso de derivadas.

El problema puede presentarse gráficamente como una caja negra en la cual es necesario determinar los valores de las variables independientes que permitan obtener resultados adecuados. se deben buscar las mejores u óptimas condiciones de operación o problemas de búsqueda, utilizando para ello un plan determinado o plan de búsqueda.

Los objetivos propuestos para el trabajo escrito que aquí se expone son:

1. Analizar las variables más importantes que intervienen en el proceso de liofilización.
2. Determinar la función de correlación entre las variables del proceso de liofilización.
3. Determinar las condiciones óptimas dentro del proceso de liofilización, para las cuales la vacuna BCG, conserva las especificaciones establecidas por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y minimizar el tiempo de ejecución del mismo.

GENERALIDADES

1. GENERALIDADES

1.1 LIOFILIZACION

Algunas observaciones realizadas en el siglo XVIII permitieron conservar vivos ciertos organismos por medio de la desecación de los mismo. Sin embargo no fue sino hasta el principio de nuestro siglo que se anunciaron los principios de la liofilización.

La palabra *liofil* hace su aparición en 1939. Literalmente significa *amigo de los solventes*. En efecto los productos liofilizados se presentan bajo la forma de cuerpos sólidos, porosos y ávidos de agua, el agua que precisamente les ha sido extraída.

La necesidad de conservar mejor el plasma condujo a una utilización industrial desde 1940. La aparición de la penicilina contribuyó a su desarrollo.

El proceso abarca diversas fases:

- Una congelación inicial a una temperatura inferior a la de solidificación total.
- Una desecación, digamos primaria, efectuada a una temperatura de fusión inicial. Esta desecación es lograda por sublimación a baja presión de solvente congelado.
- Una desecación secundaria realizada a una temperatura inferior de desnaturalización del producto destinado a eliminar, en cierta forma, el solvente residual.

Al final de la operación el producto tratado conserva su forma, volumen y estructura original, así como el conjunto de sus propiedades físicas, químicas y biológicas, protegido bajo vacío o en una atmósfera protectora de un gas neutro. Es de aspecto de sólido poroso y fácilmente reconstituible por la adición de un solvente.

1.1.1 CONGELACION

El agua se encuentra en la mayor parte de los cuerpos naturales, ya en estado libre en los espacios intercelulares, ya absorbida a la superficie de los productos o bien, unida a los complejos macromoleculares.

1.1.1.1 FORMAS DE CONGELAR

En el curso de la liofilización, un producto determinado se puede formar muy diferente de acuerdo al tipo de congelación al que a sido sometido.

La congelación programada, cuyos principios fueron enunciados hace años por L. REY es actualmente una operación corriente en algunos laboratorios de investigación. Esta forma de congelación, llamada también tratamiento térmico del producto, conduce a una liofilización más rápida, contribuyendo al mejoramiento de la calidad final del producto liofilizado.

Los sistemas de congelación deben ser concebidos en tal forma que ofrezcan la posibilidad de tratar los productos más diversos en función del tiempo de congelación desecando y también tener en cuenta las múltiples formas en que los productos van a ser acondicionados para la liofilización; cantidad de producto por recipiente; congelación en placa o en capa.

Algunos aparatos para liofilizar están diseñados en tal forma que se puede realizar, en un mismo recipiente la congelación y la sublimación. No obstante a fin de conservar perfectamente el proceso de congelación es preferible; cuando esto sea posible, disponer de aparatos especializados.

Dichos aparatos son indispensables cuando se trata de procesos dentro de frascos de gran capacidad, el plasma o las fracciones plasmáticas. Se trata entonces de congelar en capa y sólo un congelador apropiado permite obtener una capa del producto de espesor uniforme (condición sin la cuál no hay liofilización).

1.1.2 SUBLIMACION

Sabemos que la sublimación de un sólido es la transformación directa de este cuerpo a vapor, sin pasar por el estado líquido.

Dado que la sublimación es un fenómeno univariante, la ecuación relativa al calor latente "L" se escribe de la siguiente forma:

$$L = (T/J)(u_2 - u_1)(dp/dT) \quad (1.1)$$

donde:

- T = Temperatura absoluta
- $u_2 - u_1$ = Volumen de la masa de los cuerpos en los dos estados sucesivos
- J = Equivalente mecánico de la caloría
- dp/dT = Pendiente de la tangente a la curva de transformación

Un sistema formado por las tres fases de un mismo cuerpo es invariable y por consecuencia el equilibrio de la fase sólido-líquido-vapor, no puede tener lugar más que a una temperatura y a una presión determinada, gráficamente el fenómeno puede ser representado por un diagrama, graficando en el eje de las abscisas los valores de las temperaturas y en el de las ordenadas las presiones de equilibrio correspondientes; las curvas se cortan en un punto llamado punto triple.

En la práctica el producto congelado es colocado en una cámara de desecación y sometido a una temperatura constante inferior al punto eutéctico. La presión en la cámara debe ser inferior a la presión de vapor de saturación del hielo superficial del producto y a la temperatura considerada. Dado que la sublimación es una operación endotérmica, en la cual es necesario suministrar aproximadamente 700 calorías por gramo de hielo sublimado.

1.1.3 PUNTO EUTECTICO

La determinación del punto eutéctico es muy importante; la concentración y la tonalidad de la fase líquida se acentúan en el caso de productos biológicos, se puede producir una alteración de los *microorganismos*, debido a la hiperconcentración del principio activo y a los efectos mecánicos de los cristales de hielo.

Si el producto es llevado en el curso de la fase de sublimación, a una temperatura superior a la que le corresponde a este punto eutéctico, aparecerán zonas de fusión del producto.

El análisis térmico diferencial permite determinar el estado de la estructura de producto y su temperatura de fusión inicial. Nos puede dar también a conocer las indicaciones que permitan evitar las fallas en el curso de la liofilización.

1.1.3.1 RESULTADOS PRACTICOS

El poder de emisión de los vapores del solvente está en función de la agitación molecular en el

Interior del mismo solvente y por lo tanto de la temperatura del producto congelado. Por ésta razón es aconsejable llevar esta temperatura por abajo de la fusión eutéctica, ya que una temperatura mayor traerá como consecuencia irremediable la formación de una espuma abundante y la desnaturalización del producto.

Si por el contrario el calentamiento no es suficiente, el producto se sublima a una temperatura demasiado baja y la operación se prolongará anormalmente. Después de la desaparición de últimos cristales de hielo, la temperatura del producto sube muy rápidamente.

Este mismo producto se mantiene a la temperatura máxima permitida, constituye el período de desorción o desecación secundaria. Las placas de calentamiento sobre las cuales reposan los recipientes que contienen el producto envasado en ampollitas transfieren a éste el calor necesario para la sublimación en función del grado de calentamiento. La trampa fría permite la condensación de los vapores emitidos por el producto.

1.1.4 VACIO

La sublimación de un cuerpo determinado sólo puede producirse cuando la presión de la cámara sea inferior a la que corresponde al punto triple. El valor de esta presión no es la más baja posible, contrariamente a una opinión generalmente admitida.

Supongamos que un producto se sublima a la temperatura de -20°C siendo la presión de vapor del agua 0.8 torr, cuando la presión en la cámara se vuelve ligeramente inferior a este valor, el hielo comienza a sublimarse. A medida que la presión decrece en la cámara, la evaporación se acentúa. Pero ésta se estabiliza a un valor máximo ya que la presión es aproximadamente igual a mitad de la presión de vapor a la temperatura considerada.

1.1.4.1 NOTAS GENERALES

El medio gaseoso está constituido de moléculas continuamente en movimiento y describiendo trayectorias rectilíneas entre dos rebotes sucesivos, ya sea entre las paredes o entre otras partículas.

Para aclarar lo anterior se debe acordar que una presión de 10^{-2} torr, aún hay $3 \cdot 10^{14}$ partículas por cm^3 cuyo recorrido libre medio es de 0.5 cm.

Pero los elementos constitutivos del aire ya no están en mayoría dentro del gas residual. Este punto es importante cuando se trata de determinar el rendimiento de las bombas así como la temperatura de la trampa.

Considérese la ecuación siguiente:

$$-V(dp/dt) + \Sigma Q = sp \quad (1.2)$$

donde:

V	= Volumen de la cámara
ΣQ	= La suma de los fluidos gaseosos que se deben bombear.
s	= Rendimiento de las bombas
p	= Presión
t	= Tiempo

Si se denomina a p_o a la presión límite obtenida en el sistema, valor para lo cual:

$$dp/dt = 0 \quad (1.3)$$

La ecuación (1.2) se escribirá:

$$p_o = \Sigma Q/s \quad (1.4)$$

Esta expresión muestra que para tener una presión p_o , teniendo en cuenta un flujo gaseoso determinado es necesario disponer de su rendimientos.

El enorme flujo gaseosos que se produce durante la liofilización no puede ser evacuado solamente por las bombas de vacío. De hecho, durante la sublimación, el trabajo de la trampa es preponderante ya que la bomba no sirve más que para extraer los gases no-condensables.

Independientemente del flujo emitido por el producto, la ecuación (1.4) muestra que la presión obtenida es una función directa de los llamados flujos parásitos, condensación fugas, etc. Como en todas las instalaciones de vacío, el escoger juiciosamente los materiales y su tratamiento es de una gran importancia, en cuanto se trate de obtener una cámara de liofilización. La calidad de una unión o de una soldadura de las superficies, propiedad física y química de las paredes puede ser la causa de malos resultados. Es necesario considerar la calidad del vacío, es decir composición del residual, ya que se busca menos la ausencia de materia que la eliminación de uno o varios componentes que juegan un papel interferente. Estos últimos pueden provenir bien sea de los materiales constitutivos o ya de los productos utilizados en el curso de la fabricación o del funcionamiento de las bombas.

1.1.4.1 UTILIZACION DE BOMBAS PRIMARIAS DE PRESION ROTATORIAS Y CONTAMINACION

Los rendimientos que tienen estas bombas están comprendidos entre uno y mucho cientos de metros cúbicos y su presión límite está comprendida entre 10^{-2} y 10^{-4} torr.

a) RETRODIFUSION DEL ACEITE

Es importante insistir sobre un fenómeno conocido relativamente poco por los usuarios; la retrodifusión de los hidrocarburos. En efecto, se debe estar consciente que en todas las instalaciones clásicas de vacío, la bomba primaria rotativa es el origen de casi toda la contaminación de los recintos cuando no se han tomado ciertas precauciones.

Esta contaminación proviene de la retrodifusión del aceite que emigra a contra corriente, sea en forma líquida a lo largo de las paredes, sea bajo la forma de aerosoles, sea en fin, bajo la forma de hidrocarburos gaseosos.

La selección de la bomba debe ser objeto de un estudio particular y hay que tener presente que el fenómeno es significativo ya que la retrodifusión del aceite puede alcanzar valores importantes del orden de 10^{-4} g/cm²h.

Es fácil suprimir la migración a lo largo de las paredes; basta colocar, en un lugar estratégico de la tubería un anillo de teflón.

El aceite no humedece el teflón por lo que el anillo constituye una barrera eficaz. Se suprime así la fuente más importante de contaminación. El valor máximo de la retrodifusión de aerosoles se obtiene cuando la bomba trabaja a una presión límite. Para disminuir este valor, se han propuesto diferentes soluciones, las cuales son muy eficaces ya que la cantidad media de aceite retrodifusible es inferior a 10^{-11} g/cm²h.

Una inyección de gas en la cámara de liofilización da, en particular, resultados satisfactorios. Este método consiste en mantener, en la aspiración de la bomba, una presión lo más elevada posible introduciendo, permanentemente un gas seco, el cuál tiene como objetivo aumentar la probabilidad de choque de partículas de aceite sobre las moléculas gaseosas.

Con la condición de que el liofilizador esté diseñado correctamente y sus canalizaciones equipadas con anillos de teflón ya mencionados, la trampa fría también constituye una barrera eficaz a la inmigración. Sin embargo hay casos en los cuales los riesgos de contaminación pueden ser más importantes; son particularmente aquellas instalaciones al vacío, constituidas por varios compartimientos que trabajan en serie a presiones diferentes. Si llamamos p_1 a la presión del orificio de la bomba, p_2, \dots, p_n las presiones en los diferentes compartimientos, se tendrá:

$$p_1 < p_2 < \dots < p_n$$

Por las necesidades de una operación, se puede conducir a subir la presión en uno de los compartimientos, ya sea laminando o bien interrumpiendo el flujo que tuvo su origen dentro del compartimiento considerado.

Se puede así, producir una acumulación de aerosoles en los compartimientos donde prevalecen presiones cercanas a la presión límite. Esta acumulación puede engendrar una condensación de aceite sobre las paredes abajo del anillo de teflón. Los hidrocarburos, son de hecho, los productos de descomposición de aceite sometidos dentro de la bomba a compresiones diferentes.

Aquí de nuevo, la selección de la bomba, la calidad del aceite son extremadamente importantes. Un estudio de la naturaleza de los gases residuales con la ayuda de un espectrómetro de masas ha demostrado que:

- La retrodifusión de hidrocarburos gaseosos es cuantitativamente débil.
- Las trampas más eficaces son las trampas fría y la iónica.

Para efectuar la fase de sublimación, la presión necesaria dentro de la cámara no debe ser obligadamente muy baja; la utilización de la bomba de difusión no se justifica, aún durante la fase de desecación secundaria. No esta por demás insistir en el hecho que estas bombas presentan en sí, un fenómeno de retrodifusión de aceite (back-streaming) que es de más importancia.

1.1.5 INYECCIÓN DE GAS

El espacio que recorre una molécula entre choques es extremadamente variable. Clausius ha evaluado el valor medio, valor que ha recibido el nombre de trayectoria media libre. Si se consideran las partículas esféricas y elásticas, el valor de ésta trayectoria libre es tal que:

$$\Gamma = (KT) / (2^{1/2} \pi p \alpha^2) \quad (1.5)$$

donde:

K	= Constante de Boltzmann
T	= Temperatura absoluta
p	= Presión
α	= Diámetro de la molécula

1.1.5.1 TRANSFERENCIA DE CALOR

El producto puede ser tratado en granel o dentro de frascos ampúla. En cualquier caso, para favorecer la manutención, se utilizan cajas que contengan una cantidad determinada de producto o un número determinado de frascos o ampollitas; estas cajas reposan sobre placas calefactoras. Una solución posible para obtener una repartición homogénea de temperatura y evitar los puntos calientes que se producirán en los puntos de contacto, consiste en disponer por construcción un espacio "e" entre el recipiente y la placa calefactora. El calor emitido por ésta se transfiere al producto por conducción, convección o por radiación.

Considerando que la presión en la cámara es tal que la trayectoria libre media es mayor a "e", el régimen es molecular y la transferencia se lleva a cabo solamente por radiación.

Cuando la presión aumenta (trayectoria libre media más pequeña que "e"), el calor se transfiere principalmente al producto por las moléculas de gas presente en el espacio "e" y la transferencia se efectúa por conducción. Es pues necesario mantener una determinada presión en el recinto de modo que la transferencia de calor sea óptima.

1.1.5.2 INFLUENCIA SOBRE LA VELOCIDAD DE LOS VAPORES

Durante la sublimación, el vapor de agua que deja el producto se encuentra animado de una velocidad muy grande. Esto no deja de ser un inconveniente, sobre todo cuando se liofilizan productos muy ligeros; la energía cinética de éstos vapores es tal que, al atravesar las capas ya secas del producto liofilizado, arrastran consigo una proporción nada despreciable (10 al 20%) del producto seco que se fija sobre el condensador y es irrecuperable. En efecto, el volumen ocupado al vacío por un gramo de agua, es una función de la presión. Mientras más elevado sea el valor de ésta, menor será el volumen ocupado, de allí una velocidad y una energía cinética más débil.

1.1.5.3 VENTAJAS DE LA INYECCION DE GAS

En resumen, mantener una presión controlada, por la inyección de gas en la cámara, durante el período de sublimación, permite, suprimir prácticamente toda la contaminación por la retrodifusión del aceite de las bombas, sin modificar la emisión de vapor por el producto. Este procedimiento favorece enormemente la transferencia térmica y permite mantener la temperatura de las placas calefactoras en un valor inferior al límite máximo permitido por el producto, actuando como un regulador de temperatura muy eficaz. En fin, la inyección de gas disminuye considerablemente la rapidez de los vapores que salen del producto.

1.1.6 TRAMPA FRIA

Una trampa del sublimador bien estudiada y convenientemente colocada en la cámara debe poder:

- Condensar todos los vapores emitidos por el producto.
- Ofrecer a los vapores un trayecto mínimo de manera que no se obstaculice su flujo.
- Ser una barrera eficaz, impedir que los vapores contaminen el aceite de las bombas y evitar la retrodifusión de éste o sus productos de descomposición.
- Presentar la conveniencia de un descongelamiento y limpieza fácil después de haber tratado en ella productos patógenos.

1.1.6.1 TEMPERATURA DE LA TRAMPA DURANTE LA SUBLIMACION

Se puede estar tentado a creer que mientras más baja sea la temperatura de la trampa, más rápida es la sublimación, lo cuál es un error, y para lo cual será citado lo siguiente:

Un producto en el cuál la sublimación se efectúa a -20°C . (A ésta temperatura, la presión de vapor del agua es de 0.8 torr). Se ha determinado que la presión total necesaria es la mitad de este valor, es decir 0.4 torr. O sea esta presión corresponde a la presión de vapor que existe sobre el hielo alrededor de -28°C . El tiempo necesario para la liofilización no será pues mayor si la temperatura de la trampa es igual o inferior a -28°C , con la condición desde luego, que el flujo de vapores no sea frenado por obstáculos mecánicos o pasos con transporte insuficiente.

1.1.6.2 TEMPERATURA DE LA TRAMPA DURANTE LA DESECACION SECUNDARIA

Durante esta operación, la trampa debe ser suficientemente baja para permitir obtener, en la cámara una presión del orden de 10^{-3} torr, para facilitar la extracción de la humedad residual del

producto.

1.1.7 CALENTAMIENTO DE LAS PLACAS

El dispositivo del calentamiento de las placas constituye un de las partes esenciales de la instalación. Se trata, de proporcionar al producto alrededor de 700 calorías por gramo de hielo sublimado.

Cualquiera que sean los dispositivos adoptados, el calor debe transmitirse al producto con suficiente precisión para evitar sobrepasar el punto de eutexia, pero proporcionando una cantidad de calor suficiente ya que de lo contrario se prolongaría anormalmente el tiempo de sublimación. Se entiende que la temperatura debe ser homogénea. Se apreciará además que mientras más elevada sea la temperatura de sublimación, más rápida será la liofilización.

1.1.7.1 REGULACION DE LA TEMPERATURA

La regulación de la temperatura del producto es pues de importancia capital y es a partir de esta temperatura que es necesario actuar sobre la temperatura de placas, la presión dentro de la cámara y la temperatura de la trampa. Es deseable que todas estas operaciones de control se lleven a cabo en forma automática.

1.1.8 TAPONADO DE LOS FRASCOS

Al finalizar la operación, la *"ruptura del vacío"* en el liofilizador puede hacerse utilizando un gas inerte. Por medio de dispositivos especiales, se puede efectuar el taponado de los frascos directamente en la cámara. Además del hecho que éste permite conservar el producto tal como se presenta al final de la operación de liofilización, evitando el contacto con el aire, el procedimiento permite más flexibilidad en una instalación de gran producción. En efecto los frascos ya tapados pueden ser almacenados esperando disponibilidad de máquinas o personal para la operación de encapsulamineto y acondicionamiento.

1.2 VACUNA BCG

ENFERMEDAD

La tuberculosis es causada, por la infección del aparato respiratorio por *Mycobacterium tuberculosis*.

La enfermedad respiratoria tuberculosa baja puede seguir a la infección primaria; la diseminación del microorganismo es rara y más frecuente da por resultado la enfermedad miliar o meningitis. Estas formas graves de la tuberculosis suelen afectar con frecuencia a los lactantes, personas de edad avanzada y aquellos desnutridos o con alguna enfermedad debilitante.

ANTIGENO INMUNIZANTE

Los intentos por Koch y otros para tratar la tuberculosis con inyecciones de bacilos muertos concluyó desastrosamente con enfermedad, y en algunos casos con la muerte.

El bacilo de Calmette-Guerin o BCG se derivó originalmente de una cepa virulenta de *Mycobacterium bovis*, atenuada por 231 pasos seriados a lo largo de 13 años por los investigadores Franceses antes mencionados. La vacuna BCG se aplicó primero por vía oral en lactantes en 1921.

Después de esto, se efectuaron diversas pruebas controladas, durante un período entre 1935 y 1955 de lo cual se juzgó que la vacuna era razonablemente segura, pero la eficiencia protectora variaba de 10 a 80%.

La vacuna BCG liofilizada es una vacuna viva obtenida a partir de la cepa Danesa 1331 u otra aprobada por la Autoridad Nacional de Control. El BCG, es una cepa atenuada de *Mycobacterium bovis* de reconocida inocuidad y eficacia para proteger al hombre contra la tuberculosis y la vacuna contiene Glutamato de Sodio como estabilizador.

1.2.1 DESCRIPCION

Físicamente es una masa bacilar desecada, de apariencia pulverulenta, de color blanquecino o

amarillo pálido. Una vez reconstituida es ligeramente turbia y de aspecto homogéneo. Debe ser envasada antes de la liofilización en ampollitas ámbar o en recipientes claro protegidos de la luz. Debe contener no menos de 2×10^5 UFC / dosis de 0.1 ml

1.2.2 ESTABILIDAD

El número de UFC (Unidades Formadoras de Colonia) en las ampollitas incubadas a 37°C no debe ser menor del 20% cuando se compara con la muestra mantenida en refrigeración.

1.2.3 HUMEDAD

La humedad requerida para dicha vacuna una vez liofilizada debe contener no más de un 3% de humedad.

1.2.4 CONSERVACION

La vacuna debe almacenarse a temperatura constante entre 2 y 8°C . La vacuna reconstituida debe emplearse dentro de un período de 6 horas, siempre y cuando se conserve en el rango de temperatura mencionado y en condiciones asépticas. Después de 6 horas debe desecharse, esterilizándose en autoclave o después de un tratamiento con solución de fenol.

1.3 OPTIMIZACION

El hombre a lo largo de su historia siempre ha intentado obtener y desarrollar procesos de los cuales se tenga la mínima pérdida posible, dichos procesos han sido simulados desarrollando técnicas de optimización que se han formalizado y cuantificado, mediante procedimientos matemáticos.

Los científicos, en especial los matemáticos, por lo general se han ocupado de fenómenos que se encuentran, al intentar hallar los puntos extremos, máximo y mínimo, en un problema de optimización.

Euclides planteó el problema de encontrar la distancia mínima de un punto a la recta. Herón de Alejandría es considerado como uno de los primeros en estudiar los problemas de optimización al asegurar que la luz viajaba entre los puntos por la ruta más corta, sin embargo, 18 siglos después Fermat descubrió un principio más general asegurando que la luz viajaba entre dos puntos en un tiempo mínimo.

El desarrollo de las técnicas de optimización siguió muy de cerca el avance del cálculo. En 1917 Hancock publicó el primer texto moderno acerca de la materia "Theory of Maxims and Minims". A fines de los años 30's aparece el interés en el desarrollo del cálculo de variaciones, sin embargo, el verdadero esfuerzo en optimización se origina con la Segunda Guerra Mundial y con la aparición de la computadora digital. En los años 40's se reconoce la estructura matemática de dichos problemas de logística militar y se desarrolla el método simplex de programación lineal. El porque la programación lineal se transforma a partir de un interés tópicamente matemático en un importante y ampliamente aplicado procedimiento de optimización, se debe al rápido desarrollo de la computadora digital. La habilidad de ésta para realizar complejas manipulaciones matemáticas sobre un gran conjunto de ecuaciones, ha permitido la solución de grandes problemas industriales, siendo la aplicación más conocida la optimización de la operación de una gran refinería de petróleo. Para los años 50's éstas técnicas reciben otro gran impulso con la llegada de la era espacial. Desarrollándose los métodos de programación dinámica, extendiéndose su uso rápidamente a las áreas de economía e ingeniería.

1.3.1 FORMULACION DE OPTIMIZACIONES

Una vez tomada la decisión de optimizar un proceso industrial, se requieren tres componentes básicos para la formulación del problema en términos matemáticos:

- El proceso o modelo matemático que rige el problema, además de una definición de las variables del proceso que puedan ser manipuladas o controladas.
- Un modelo económico para el proceso. Esto es una ecuación que incluye las utilidades obtenidas con la venta del producto y los costos asociados al proceso productivo, es decir, materia prima, costos de operación, costos de administración gastos generales, etc.
- Un procedimiento de optimización para la manipulación de las variables independientes del proceso, que maximice las utilidades o minimice los costos determinados por el modelo económico, restringido por el modelo del proceso.

1.3.2 TECNICAS DE OPTIMIZACION

La figura (1.7) muestra una gran cantidad de técnicas de optimización, en ella se categorizan estos temas, mostrando que la teoría de optimización tiene diversas divisiones muy claras. Una es la programación matemática, cuyo objetivo es ubicar el mejor punto $X(X_1, \dots, X_n)$ que optimice un modelo económico. La otra rama muestra los métodos variacionales, cuyo objetivo es ubicar la mejor función $Y(X)$ que optimice el modelo económico del proceso. Se identifica un ejemplo de optimización en cada rama de la figura. Por ejemplo los métodos de programación matemática se aplican a problemas independientes del tiempo o en estado estacionario, mientras que los métodos variacionales son independientes del tiempo.

OPTIMIZACION

Fig. 1.7

PROGRAMACION MATEMATICA	METODOS VARIACIONALES
<p>OBJETIVO: Encontrar el mejor punto que optimice el método económico.</p> <p>EJEMPLO: Condiciones óptimas de operación de un reactor químico.</p> <p>Formulación Matemática OPTIMIZAR: $y(x)$, $x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$ SUJETA A: $f_j(x) \leq 0$ $j = 1, 2, \dots, m$</p> <p>Métodos Analíticos Programación Geométrica Programación Lineal Programación Dinámica (Discreta) Técnicas de Búsqueda Principio del Máximo (Discreto) Programación Cuadrática Programación Separable Programación Convexa Programación Entera Programación Combinacional Programación Heurística</p>	<p>OBJETIVO: Encontrar la mejor función que optimice el modelo.</p> <p>EJEMPLO: Mejorar el perfil de temperatura que maximiza la conversión en un reactor tubular.</p> <p>Formulación Matemática OPTIMIZAR: $J[y(x)] = \int F[y(x), y'(x)] dx$ SUJETA A: restricciones algebraicas, integrales o diferenciales.</p> <p>Métodos Cálculo de Variaciones Programación Dinámica (Continua) Principio del Máximo (Continuo)</p>

Los métodos de programación matemática son de dos tipos: directos e indirectos. A los métodos directos pertenecen la programación lineal y las técnicas de búsqueda, ya que a partir de un punto inicial se mueven hacia puntos que sistemáticamente sean mejores. Los métodos indirectos, tales como los métodos analíticos y la programación geométrica, resuelven un gran conjunto de ecuaciones algebraicas. Las soluciones de este conjunto de ecuaciones son los valores máximos y mínimos buscados.

1.3.3 TEORIA CLASICA

La teoría clásica sobre los puntos máximos y mínimos en un problema de optimización en una función determinada bajo las características del problema de optimizar, con la cual se desea determinar el valor de la "n" variables independientes, de la función en un punto extremo. El

problema básico, es determinar la utilidad máxima o costo mínimo de un sistema usando la teoría clásica, se transforma en el problema de ubicar todos los puntos máximos y mínimos locales y luego comparar los valores individuales de la función de estos puntos, con el objeto de determinar el punto máximo o mínimo absoluto. Para lo cual es necesario:

- Los puntos estacionarios.
- Los punto a lo largo del contorno.
- Aquéllos puntos donde la primera derivada es discontinua.

Cuando la función y sus derivadas son continuas, los puntos extremos locales corren en los puntos estacionarios. Puntos estacionarios son aquéllos donde la primera derivada es cero, siendo esto necesariamente puntos extremos, ya que puntos silla o de inflexión también pueden ocurrir.

1.3.4 CONDICIONES NECESARIAS Y SUFICIENTES PARA DETERMINAR PUNTOS EXTREMOS

El teorema de Weierstrass, que garantiza la existencia de puntos extremos, puede ser comprendido fácilmente recurriendo a conceptos netamente geométricos.

Toda función continua en un dominio cerrado posee un valor máximo y uno mínimo, ya sea en el interior o en el contorno del dominio.

Este teorema expone que no se requiere que la función tenga derivadas continuas para que exista un máximo o un mínimo.

El siguiente teorema ubica los puntos extremos en el interior de la región explorada.

Una función continua en "n" variables alcanza un valor máximo o mínimo en el interior de una región, sólo en los valores para los cuales las "n" derivadas parciales son iguales a cero simultáneamente (puntos estacionarios), o en puntos en los cuales una o más de estas derivadas no existe es decir, es discontinua.

Este teorema incluye sólo los puntos interiores; el único método por lo general aplicable que toma en cuenta el contorno y discontinuidades, es el de comparar directamente el valor de la función en cada uno de los puntos. Analíticamente, los puntos estacionarios se pueden encontrar resolviendo en forma simultánea las "n" ecuaciones algebraicas, resultantes de las "n" derivadas parciales igualadas a cero.

1.3.5 PROGRAMACION LINEAL

La programación lineal fue desarrollada en 1947, antes de la aparición de la computadora, cuando George B. Dantzing estableció una generación en las matemáticas de los problemas de planificación y programación en producción. El avance de dicha programación se ha desarrollado

paralelamente al de la computadora y hoy en día problemas con varios miles de variables independientes y ecuaciones de restricción pueden ser resueltos fácilmente. Esta técnica se ha aplicado a la optimización de refinerías y plantas químicas, mezclas de alimentos para ganado, planeamiento de las rutas de aviación y utilización de la tripulación de problemas de transporte y distribución, en general en la optimización de estrategias integrales.

1.3.5.1 FORMULACION GENERAL DEL PROBLEMA DE PROGRAMACION LINEAL

Existen varias formas de presentar las relaciones matemáticas generales aplicables al problema de programación lineal. Una de ellas es la forma algebraica:

Función Objetivo

$$\text{Optimizar } c_1x_1 + c_2x_2 + \dots + c_nx_n \quad (1.6)$$

Ecuaciones de Restricción

sujeta a:

$$\begin{aligned} x_i &\geq 0 \text{ para } i = 1, 2, \dots, n \\ b_1 &\leq a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + \dots + a_{1n}x_n \\ b_2 &\leq a_{21}x_1 + a_{22}x_2 + \dots + a_{2n}x_n \\ &\vdots \\ b_n &\leq a_{n1}x_1 + a_{n2}x_2 + \dots + a_{nn}x_n \end{aligned} \quad (1.7)$$

Se buscan los valores de x_i que optimicen la función objetivo. Los coeficientes c_i reciben el nombre de coeficientes de costo. Los valores de las variables x_i deben satisfacer las ecuaciones de restricción. Generalmente, hay más incógnitas que ecuaciones, es decir, $n > m$ y algunos de los valores de las x_i se pueden especificar arbitrariamente (por lo general cero).

El problema puede ser planteado de una forma más compacta como:

$$\text{Optimizar } \sum_{i=1}^n c_i x_i \quad (1.8)$$

$$\text{Sujeta a: } x_i = 0 \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (1.9)$$

$$\sum_{i=1}^n a_{ji} x_i = b_j \quad j = 1, 2, \dots, n \quad (1.10)$$

La notación vectorial es otro método conveniente para expresar el problema anterior.

$$\text{Optimizar } cx \quad (1.11)$$

$$\text{Sujeta a: } x \geq 0 \quad (1.12)$$

$$Ax \geq b \quad (1.13)$$

donde:

$$x = (x_1, x_2, \dots, x_n)^t \quad (1.14)$$

$$b = (b_1, b_2, \dots, b_m)^t \quad (1.15)$$

$$c = (c_1, c_2, \dots, c_n) \quad (1.16)$$

$$A = \begin{matrix} & \alpha_{11} & \alpha_{12} \dots & \alpha_{1n} \\ & \alpha_{21} & \alpha_{22} \dots & \alpha_{2n} \\ & \cdot & \cdot & \cdot \\ & \cdot & \cdot & \cdot \\ & \alpha_{m1} & \alpha_{m2} \dots & \alpha_{mn} \end{matrix} \quad (1.17)$$

Para obtener la solución óptima de este problema, el conjunto de desigualdades se transforman en igualdades, introduciendo variables de holgura. Esto da como resultado un conjunto de ecuaciones con más variables independientes que ecuaciones, para poder llegar a la solución del sistema, algunas tendrán que ser especificadas arbitrariamente, la solución de las ecuaciones de restricción, ahora igualdades, son igual al número de variables diferentes de cero que al número de ecuaciones que contempla el problema, lo cual da como resultado la solución básica. Una alternativa básica posible es una solución de las ecuaciones de restricción en la cual todas las variables distintas de cero son positivas. Lo anterior es posible mediante el Método Simplex.

1.3.5.2 VARIABLES DE HOLGURA Y VARIABLES ARTIFICIALES

En el punto anterior, se hablo sobre variables de holgura sin conocer a un su significado físico, por lo cual es necesario profundizar un poco en ello. En la desigualdad:

$$x_1 + x_2 \leq b \quad (1.18)$$

Si se agrega una variable positiva al miembro de la izquierda de la ecuación, está puede transformarse en una igualdad.

$$x_1 + x_2 + x_3 = b \quad (1.19)$$

La interpretación física de esta variable de holgura x_3 , es que representa la diferencia entre el valor

máximo y mínimo de la suma de variables ($x_1 + x_2$), si la variable de holgura es igual con cero, significa que el máximo valor de la otra variable es óptimo. La variable de holgura cambia de signo cuando el primer miembro de la ecuación de restricción es mayor que el derecho.

Para comenzar a resolver un problema de programación lineal es necesario tener todas las ecuaciones en forma canónica. Muchas veces es conveniente agregar la misma cantidad de nuevas variables (variables artificiales) como ecuaciones de restricción para tener una base inicial con la cual comenzar la solución. Esto es permisible y se puede demostrar que las soluciones posibles del problema aumentado. Sin embargo, es necesario modificar la función objetivo para asegurar que todas las variables artificiales abandonen la base. Estos términos son las variables artificiales multiplicadas por un coeficiente negativo que puede hacerse arbitrariamente grande (para el caso de una maximización).

1.3.5.3 FUNDAMENTO MATEMATICO DE PROGRAMACION LINEAL

Los fundamentos matemáticos aplicables de desigualdades lineales y conjuntos convexos, que muestran los teoremas mediante los cuales se establecen los procedimientos y determinan la solución óptima de los problemas de programación lineal son:

Definiciones:

Una solución posible, es cualquier solución de las ecuaciones.

$$\text{Optimizar } z = cx \quad (1.20)$$

$$\text{Sujeta a: } Ax \geq b \quad (1.21)$$

$$x \geq 0 \quad (1.22)$$

Conjunto convexo: Es el conjunto de puntos que corresponden a las soluciones posibles de las ecuaciones de restricción. Una segunda definición establece que: Es la colección de puntos, que contienen dos puntos cualquiera A y B, también contienen la recta AB que los une.

Punto extremo o vértice de un conjunto convexo es un punto que no se encuentra en ningún segmento que une a otros dos del conjunto.

La colección de soluciones posibles, forman un conjunto convexo cuyos puntos extremos corresponden a una solución básica posible.

En la demostración de este teorema se prueba que la combinación lineal de dos soluciones básicas posibles, de modo que se encuentran en la recta que los une, constituyen un conjunto convexo. Para probar que una solución básica posible es un punto extremo, se asume que una

solución básica se puede expresar como una combinación lineal de soluciones y se demuestra por contradicción que esto es posible; por lo cual debe ser un punto extremo.

Si la función objetivo tiene un máximo (mínimo finito), entonces por lo menos una solución óptima es una solución básica posible.

METODO SIMPLEX

La base para el método simplex es la generación de soluciones de punto extremo iniciando en cualquier extremo para lo cual una solución factible es conocida y entonces procede a un punto extremo vecino. Existen reglas a seguir que causan la generación de cada punto extremo nuevo como una mejora hacia la función objetivo deseada.

Cuando el punto extremo es alcanzado donde ya no es posible realizar un mejor cálculo, esto representará la solución factible al óptimo. Así el método simplex es un proceso iterativo de resolución a la programación lineal del cual se desprende que si existe una solución óptima, este método la dará.

1.3.6 PROGRAMACION GEOMETRICA

1.3.6.1 CASO GENERAL: POLINOMIOS

Considerando un polinomio de T términos en N variables independientes, arregladas de tal forma que los primeros k términos son positivos y los términos desde k+1 a T son negativos.

$$y(x) = \sum_{i=1}^n c_i \pi^i x_i^n + \sum_{i=k+1}^T c_i \pi^i x_i^n \quad (1.23)$$

Para encontrar las condiciones necesarias de la existencia de un punto estacionario en $y(x)$, se calcularán las primeras derivadas parciales y se igualarán a cero.

$$dy(x)/dx_i = \sum_{i=1}^k c_i \alpha_i x_i^{(\alpha_i-1)} \pi x_i^{\alpha_i} - \sum_{i=1}^k c_i \alpha_i x_i^{(\alpha_i-1)} \pi x_i^{\alpha_i} = 0 \quad (1.24)$$

para $i = 1, 2, \dots, N$

multiplicando por x_i resulta:

$$\left[\sum_{t=1}^k \alpha_t c_t \pi_{x_n} \right] / y - \left[\sum_{t=k+1}^{\tau} \alpha_t c_t \pi_{x_n} \right] / y = 0 \quad (1.25)$$

definiendo los factores de peso

$$w_t = \left(c_t \pi_{x_n} \right) / y \quad (1.26)$$

se obtiene la condición de ortogonalidad

$$\sum_{t=1}^k \alpha_t w_t - \sum_{k+1}^{\tau} \alpha_t w_t = 0 \quad n = 1, 2, \dots, N \quad (1.27)$$

a partir de la definición de los factores de peso se obtiene la condición de normalidad:

$$\sum_{t=1}^k w_t - \sum_{k+1}^{\tau} w_t = 1 \quad (1.28)$$

FUNDAMENTACION TEORICA

2. FUNDAMENTACION TEORICA

La liofilización hoy por hoy es uno de los procesos más importantes dentro de la industria farmacéutica, ya que es el más adecuado para la conservación de sustancias termolábiles, o sea aquellos productos que sufren alteraciones por la acción del calor, y es el mejor método para la conservación de microorganismos, o para incrementar la caducidad de productos; en dicha industria, lo que se desea conservar contiene generalmente como solvente al agua. Puede tratarse de una solución netamente acuosa, un tejido, microorganismos como es el caso de la vacuna BCG tratada en este trabajo, la cual es un producto termolábil y su producción incluye sin duda una etapa importante la liofilización.

2.1 ASPECTOS TERMODINAMICOS

Con la finalidad de tomar en cuenta un aspecto de suma importancia dentro del proceso de liofilización (en lo subsecuente solamente se mencionará proceso, considerando solamente la etapa de liofilización de la vacuna BCG), es importante considerar aspectos termodinámicos de interés los cuales serán desarrollados en este capítulo.

Tomando en consideración ciertos puntos con los cuales consta principalmente el proceso. Se deduce que cuanto mayor sea la presión de vapor de equilibrio del hielo y menor la temperatura de la superficie del condensador, tanto mayor será la tendencia del sistema a restablecer el equilibrio y más rápidamente se sublimará el hielo contenido una vez realizada la etapa de congelación dentro del proceso en el producto. Existen otros factores que impiden esta posibilidad y que serán tratados en puntos posteriores del desarrollo de este capítulo.

Bien ahora se establecerá esta tendencia desde un punto de vista cuantitativo y es para ello que se empleará la termodinámica.

El sistema en el cual será apoyada la simulación mediante las ecuaciones, consiste en el hielo formado y el vapor de agua, constituido en el producto. Así definido el sistema, la tendencia del vapor a ir a la zona de menor presión por la diferencia, o mejor dicho, por la energía libre de Gibbs, (ΔG). Lo que en otras palabras implica deducir la secuencia de cálculo para la determinación de la sublimación del hielo en el condensador. Esta energía cambiada de signo nos dará la energía libre de condensación. Ahora sumando algebraicamente ambas energías dará, la variación de la energía libre de Gibbs para una mol de vapor de agua que sublimó a la temperatura de la placa contenedora del producto envasado en

ampolletas. Cuanto más negativo resulte este valor, tanto menor es la tendencia natural para realizar esta transferencia.

por definición:

$$\Delta G_s = \Delta H_s - T \Delta S_s \quad (2.1)$$

donde:

- ΔH_s = Variación de la entalpía de sublimación
- T = Temperatura absoluta
- ΔS_s = Variación de la entropía de sublimación

En la ecuación (2.1), solamente se conoce la temperatura, propia arrojada por el sistema (ver especificaciones del proceso) ΔH_s y ΔS_s no son conocidos por lo cual deberán ser determinados.

Como ΔS_s varía con la temperatura, se deberá determinar un valor promedio entre la temperaturas de interés. Para dicha determinación, se empleará la ecuación de Clausius-Clapeyron.

$$\begin{aligned} (1/p) dp/dT &= \Delta H_s / RT^2 \\ d \ln p / dT &= \Delta H_s / RT^2 \end{aligned} \quad (2.2)$$

Separando variables e integrando, evaluando la expresión entre dos presiones y despejando ΔH_s queda:

$$\Delta H_s = R(T_1 T_2 / T_2 - T_1) \ln p_2 / p_1 \quad (2.3)$$

Para calcular ΔS_s se empleará la relación:

$$dS/dp)_T = - (dV/dT)_p \quad (2.4)$$

Integrando a temperatura constante, considerando $n = 1$ se tendrá $V = RT/P$. La derivada parcial del volumen con respecto a la temperatura, a presión constante, es:

$$(dV/dT)_p = R/P \quad (2.5)$$

La integración anterior se convierte ahora en:

$$\Delta S_g = S_2 - S_1 = -R \int_{p_1}^{p_2} dp/p \quad (2.6)$$

S_1 y S_2 son las entropías de dos presiones distintas, pero a la misma temperatura.

Entonces sustituyendo (2.3) y (2.6) en (2.1) se obtiene:

$$\Delta G_g = R \ln(p_2/p_1) [(T_1 T_2 / (T_2 - T_1)) + T_1] \quad (2.7)$$

Calculando el valor de la energía libre de Gibbs para un mol de moléculas de agua, en el cambio de estado sólido a gaseoso a temperatura constante y entre dos presiones. Una de estas dos presiones será la de equilibrio a una temperatura considerada.

Ahora bien, el trabajo de sublimación será positivo. Pero su inversa, el trabajo de condensación, será negativo. Con esto se puede concluir que para sublimar, se deberá suministrar calor al sistema, pero al condensar el vapor, el sistema donará energía. Por lo que entonces se calculará el trabajo útil para sublimar un mol de agua sólida a las temperaturas adecuadas, empleando un valor medio de ΔH . Luego sumando el trabajo útil de sublimación del hielo a su temperatura, con el condensador de vapor a hielo a la temperatura adecuada. La diferencia en trabajo útil será la variación de energía libre de Gibbs. Si ésta es negativa, ello quiere decir que existe una tendencia natural para que ocurra esta sublimación y condensación. Por lo tanto se realiza este cambio de manera espontánea bajo condiciones apropiadas. Lo que no es deducible es cuanto tardará en completarse la transformación, puede ser un tiempo muy corto, o muy largo.

Una parte importante en el desarrollo es la determinación del cálculo de la cantidad de energía gastada para transformar el hielo en vapor. Para lo cual se sumará el calor latente molar de vaporización con el de fusión.

$$\Delta H_g = \Delta H_v + \Delta H_f \quad (2.8)$$

Para dicha determinación será necesaria la deducción a partir de la expresión obtenida de la ecuación de Clausius-Clapeyron (2.3) en el intervalo de temperatura 0°C y a la temperatura de congelación dentro del liofilizador.

Siendo necesario determinar la cantidad de energía para enfriar el vapor desde la temperatura de congelación hasta la del condensador.

$$Q_{\text{enf}} = m C_p \Delta T \quad (2.9)$$

donde:

- Q_{enf} = Cantidad de energía involucrada
- m = Cantidad de agua total en el proceso
- C_p = Capacidad calorífica del agua
- ΔT = $T_2 - T_1$ (Involucradas en el enfriamiento)

El paso final será calcular la energía necesaria para convertir la masa de vapor de agua a la temperatura del condensador a hielo. Al condensarse este vapor, cederá calor, pero se deberá gastar energía para extraer ese calor del sistema. Por lo cual esa energía se pierde en este desarrollo. El procedimiento será el mismo, que en el caso de la sublimación, deduciendo que:

$$Q_{\text{cond}} = m H_s \quad (2.10)$$

2.2 FENOMENOS DE TRANSPORTE PRESENTES

En el estudio de los Fenómenos de transporte involucrados será necesario realizar un análisis detallado de las fases.

2.2.1 CALOR DE SUBLIMACION

El calor necesario para mantener la sublimación a máximas velocidades, una vez logradas las condiciones físicas necesarias tales como el vacío y la temperatura, deben llegar hasta la superficie de producto, dado que la vacuna BCG esta envasada en ampollitas y sobre las placas de la liofilizadora. Lo más recomendable es hacerlo por la base de la ampollita, para realizar esto es necesario suministrar calor, otorgando al sistema calor mediante las placas, de los cuales por el fenómeno de conducción llegará las ampollitas y de ahí al producto.

La mayor o menor eficiencia de la transformación de calor depende, del buen contacto entre el fondo de las ampollitas y la placa. Un modelo ideal será aquel en el cual el fondo de vidrio es de un determinado espesor uniforme en toda la superficie, mejorando de esta manera el rendimiento.

La placa contenedora de las ampollitas es de gran importancia, en la eficiencia del proceso ya

que si por tracción o expansión deja de tener contacto con la superficie calefactora de las placas, La eficiencia del proceso baja considerablemente. es probable que queden lagunas en el producto seco o se prolongue de manera innecesaria el proceso.

2.2.2 CONDENSACION DE VAPORES

El hielo transformado en vapor es condensado, al principio se encuentra a una temperatura baja, a medida que se condense el vapor sobre la superficie metálica del condensador, lo va asilando. Cuanto más gruesa sea esta capa de hielo, tanto mayor será la diferencia de temperatura entre la superficie metálica del condensador y la superficie de la capa de hielo que lo cubre. Por esa razón es necesario conocer la temperatura de esa superficie. Existen dos aspectos a considerar para que la temperatura de la interfase en el condensador se mantenga constante, debe disminuir la temperatura de la superficie del condensador a medida que aumenta el espesor de la capa de hielo.

La superficie de condensación debe ser lo suficientemente grande para que no se forme una capa de hielo demasiado gruesa.

2.2.3 SECADO PRIMARIO

Es conveniente dividir el secado primario en dos etapas. En la primera se tendrá el comienzo del proceso, el cual abarca desde el momento de iniciado el calentamiento de las placas a presión reducida en la cámara hasta el final del flujo molecular de los vapores, La segunda comprende el flujo intermedio y viscoso de los vapores.

En primer lugar se irá aclarando el significado de flujo molecular y viscosos en el proceso; recordando que las moléculas en un gas están en continuo movimiento de traslación. Todas las moléculas recorren una cierta distancia hasta chocar con otra. La distancia promedio recorrida por estas moléculas antes de chocar, a una presión y temperatura dada, es lo que se conoce como: camino medio libre. El cual depende además de la naturaleza del gas, si tiene el flujo gaseoso viscoso a través de este conducto.

$L/\alpha < 0.01$ flujo viscoso
 $L/\alpha > 1.00$ flujo molecular

donde:

L = Camino medio libre
 α = Medida del conducto (diámetro)

El rango 0.01 - 1.00 se denomina: rango de transición

Como el camino medio libre está relacionado con la presión, si se expresa L en centímetros y la presión en μm (micrometros) de Hg, obtenemos para aire a 25°C la siguiente expresión:

$$L = 5.09/P_{\mu} \quad (2.11)$$

Sustituyendo este resultado en la expresión anterior,

$P_{\mu} > 500$ flujo viscoso
 $P_{\mu} < 5.0$ flujo molecular

a) Primera Etapa del Secado Primario

Las condiciones óptimas para la sublimación: Al comenzar el proceso, se tendrá toda la superficie del producto congelada disponible para la sublimación sin interferencia alguna por parte del soluto.

Las condiciones de mayor interés en el proceso son:

Que el hielo se convierta en vapor de agua

Que esto se realice con la mayor rapidez posible

Que esto ocurra a la máxima temperatura compatible con la estabilidad del producto

La última condición es porque a mayor temperatura se gastará menos energía para refrigerar, que a temperatura más baja, lo que evidentemente reporta una economía al proceso. Además a mayor temperatura, mayor presión de vapor y a mayor presión de vapor, mayor velocidad de sublimación; lo cual conduce a la segunda condición, se debe cuidar que el hielo no se funda.

Entonces para una sublimación continua debe haber, en el hielo, en primer lugar, siempre suficiente moléculas de agua con una energía tan grande como para franquear la superficie del

hielo. En segundo lugar, una vez que hayan escapado las moléculas del cristal de hielo, no deben volver al mismo. En tercer lugar, la concentración de moléculas de agua en la fase vapor debe ser lo más baja posible.

Si no se interviene en los sucesos, se establece el equilibrio y saldrán tantas moléculas del cristal de hielo, como vuelvan a él. Habrá equilibrio. Lo cual no interesa en el proceso. La presión de vapor de saturación del vapor de hielo puede variar. Puede disminuir, si hay moléculas distintas a las de agua esto es importante, solamente si las moléculas son pesadas y la concentración es alta. Puede ocurrir que el hielo que es poco sublima por completo antes de llegar a la presión de saturación.

Se debe tener en cuenta que el vapor que está en contacto con el hielo en un ambiente cerrado, está saturado cuando se llega al equilibrio. Pero el vapor que está en contacto con las paredes del recipiente, no está saturado.

Velocidad máxima de sublimación; suponiendo la sublimación del hielo contenido en una bandeja con agua pura congelada que se encuentra a -20°C y adicionalmente se puede suministrar a la superficie del hielo todo el calor que sea necesario para mantener una velocidad de sublimación máxima sin fundir el hielo. Se establecerá la manera de calcular esa velocidad.

Según el trabajo de Terence W. G. Rowe, la teoría cinética de los gases permite calcular la velocidad de transferencia de masa, o sea, la masa de moléculas que chocan con el hielo de la interfase hielo-vapor, por unidad de tiempo. A la temperatura de -20°C son unos $25 \text{ g/cm}^2\text{h}$.

Si esta masa entra en el hielo, habrá una masa exactamente igual que sale del hielo, pues hay equilibrio. Ahora, una cierta cantidad de esas moléculas golpean en la superficie del hielo y rebotan. No son captadas y por lo tanto, no se incorporan a la masa de hielo. Por eso, no son 25 g de vapor de agua que se transforman en hielo por centímetro cuadrado y por hora, sino menos. Se debe aplicar un factor de corrección que se puede determinar y denominado coeficiente de acomodamiento. Los experimentos de Kramers y Stemerding, han demostrado que ese coeficiente es prácticamente igual a uno para los efectos del proceso.

Entonces, continuando con este razonamiento, si de pronto se eliminara el vapor saturado, el hielo comenzaría a sublimar a la razón antes mencionada. Esta velocidad teórica sólo depende de la temperatura. Aún si quedara un poco de vapor encima de la interfase, la velocidad sería alta.

Entonces se puede colocar una superficie condensadora a -30°C muy cerca de la interfase; a -30°C la presión de vapor del hielo es de 0.2859 torr, con lo cual habría una pequeña cantidad de vapor presente, pero la velocidad de sublimación sólo bajaría en un 6% en este caso.

En la práctica, las velocidades de sublimación que se alcanzan, son unas 200 veces menores. Sin embargo, de poder realizar esa velocidad teórica tan alta, supongase que se lleva a cabo con un calefactor radiante del hielo a -20°C , la temperatura del calefactor debería estar en 1060°C .

Si por el contrario se debe llevar la energía por conducción a través del hielo hasta la superficie, estando el hielo a -20°C , se necesitaría un gradiente de temperatura de 585°C por centímetro. Si la máxima temperatura tolerable para que el hielo no se funda, es de 19°C , la placa de hielo tendría que tener un espesor de 0.017mm.

Como se puede ver, lo que es teóricamente posible, en la práctica no es alcanzable.

Lo estipulado por Row de $25 \text{ g/cm}^2\text{h}$, está basado en la siguiente expresión:

$$v = \alpha(p_i - p_c) (M/2\pi RT)^{1/2} \quad (2.12)$$

donde:

v	= Velocidad máxima de sublimación alcanzable
α	= Coeficiente de acomodamiento para el hielo
p_i	= Presión parcial del vapor de agua en la interfase
p_c	= Presión parcial del vapor dentro de la cámara
M	= Peso molecular de agua
R	= Constante universal de los gases
T	= Temperatura de la interfase

b) Segunda Etapa del Secado Primario

La energía de sublimación proveniente del flujo térmico neto hacia la interfase. En condiciones de equilibrio, se tiene:

$$\text{Flujo Neto de Calor} = \text{Calor Latente de Sublimación} * \text{Velocidad de Sublimación}$$

El flujo neto de calor dq/dt , es la diferencia entre el calor aplicado y el calor perdido por radiación, conducción y convección. Entonces la velocidad de sublimación está dada por el producto entre la velocidad máxima sublimación del hielo en la interfase a la temperatura de está y un factor f que

Indica la probabilidad de que una molécula de vapor de agua, una vez que haya franqueado la interfase, sea eliminada de ésta de manera permanente. Esta probabilidad se llama factor de secado.

$$dq/dt = L_s f \cdot \text{Máxima Velocidad de Sublimación} \quad (2.13)$$

$$(dq/dt)(1/f) = L_s [\alpha p_s / (2\pi RT)^{1/2}] \quad (2.14)$$

donde:

α	= Coeficiente de acomodamiento
p_s	= Presión de vapor en la interfase
R	= Constante universal de los gases
T_s	= Temperatura de la interfase

La velocidad máxima de sublimación depende sólo de la temperatura.

$$F(T) = \alpha p_s / (2\pi RT)^{1/2} \quad (2.15)$$

El calor latente de sublimación también depende de la temperatura, pero su variación en comparación con la máxima velocidad es mucho menor. Por ello, se puede considerar casi constante en un intervalo relativamente pequeño de temperatura. Entonces, la velocidad con la cual se aplica el calor latente a la interfase, dividido por el factor de secado f , determinará la temperatura de la interfase o de manera inversa, la temperatura máxima permisible y el factor de secado determinará que tan rápidamente aplicar calor a la interfase.

Es razonable eficiente y por lo tanto económico eliminar las restricciones del proceso en la medida de lo necesario, frente a las que presenta la capa deshidratada del producto mismo.

Para lo cual se procede de la siguiente manera:

Siendo f_s la probabilidad de que una molécula de agua llegue al exterior de la capa seca sin ser recapturada.

Siendo f_e la probabilidad de que una molécula que se escape de la capa seca, sea permanentemente eliminada del sistema. Entonces, la probabilidad total para que no haya captura es:

$$1/f = 1/f_s + 1/f_e - 1 \quad (2.16)$$

Velocidad Real del Secado = f * Velocidad Máxima de Sublimación

Velocidad Máxima de Secado = f_s * Velocidad Máxima de Sublimación

El coeficiente entre la velocidad máxima posible de secado y la real, nos dará un medida de la eficiencia del proceso.

$$\eta = \text{Velocidad Real de Secado} / \text{Velocidad Máxima de Secado} \quad (2.17)$$

$$= f/f_s = 1 - (f_s/f_s)$$

La probabilidad de que una molécula de vapor que se ha liberado de la interfase, pase a través de la capa seca sin ser reflejada de nuevo a la interfase, obviamente decrete a medida que el número de colisiones con la capa seca aumenta. Para dispersión isotrópica, se puede demostrar que cerca de la mitad de las moléculas pasan a través de un espesor de la capa seca, que es igual al camino medio libre. Esto quiere decir que el factor de secado $f_s = 0.5$.

Las colisiones de moléculas de vapor de agua entre si son mucho menos frecuentes que las que ocurren entre estas y las paredes de los capilares en la capa seca. Para aplicar este método a capas de algunos caminos libres medios de espesor, es necesario establecer la ecuación integral para la dispersión de una capa de espesor determinado y resolver.

2.2.4 TRANFERENCIA DE CALOR EN EL PRODUCTO

Como ya se a mencionado, se puede hacer llegar calor directamente por contacto con la capa de espesor determinado congelada, de sustancia a ser procesada. La fuente de calor la constituyen las paredes del recipiente, que se encuentra en contacto con dicha capa congelada. A su vez estas paredes son calentadas por convección o radiación a partir de una fuente de calor primaria. La capa de producto está fuertemente adherida a la superficie de la ampollita.

Si el límite de congelamiento se mantiene a temperatura constante, la interfase congelada esta inicialmente a una temperatura menor, estableciéndose un gradiente de temperatura que produce un flujo de calor entre las dos superficies, desde la más caliente hacia la menos caliente. A medida que procede la sublimación, la temperatura de la interfase que recede se eleva para finalmente

alcanzar la del límite en contacto con la placa. Para obtener el menor tiempo de secado, se elige la temperatura del límite mayor lo más alto posible, pero evitando el descongelamiento y degradación del producto.

2.2.5 SECADO SECUNDARIO

En el secado secundario se tiene esencialmente una sustancia que contiene agua distribuida a través de toda su masa en forma homogénea. Así como en el secado primario, la naturaleza de la sustancia, su concentración las condiciones de congelación de la solución original, la temperatura de secado, la forma y el espesor de la masa que se está secando afecta su resistencia interna durante el secado secundario. Las restricciones del flujo de vapor de agua producido por los cuellos de los frascos, los gradientes parciales de presión que resulte de tal restricciones conjuntamente con los métodos usados para bombear y captar la humedad, constituyen la resistencia externa. Como aclaración en el siguiente desarrollo se tomará "d" como diferencial total y "d" como diferencial parcial, así como Δ denotará el incremento de la variable.

Al final del secado primario la temperatura es cercana a 0°C. Muchas de las ocasiones la temperatura sube aún más, hasta 20°C. Bajo estas condiciones el secado secundario es mucho más rápido y la humedad cae rápidamente de 7% a 2%.

Afortunadamente, la humedad sólo puede escapar en una dirección (unidireccional). Por lo cual el material distribuido de manera uniforme dentro de la ampollita, en una capa de espesor constante, puede ser tratado como una capa infinita. Cuando se expone ese material a un sistema de secado, la humedad comenzará a difundirse en la dirección de la superficie.

La magnitud de la cantidad físicamente transportada en tiempo unidad a través de una área perpendicular a la dirección del flujo, es proporcional al gradiente de las propiedades físicas. Si se elige el eje de las abscisas como dirección del flujo, la ley general para este fenómeno de transporte sería:

$$J_x = - B dY/dX \quad (2.18)$$

J_x es el flujo, la medida de la cantidad por unidad de área y tiempo; B es la constante de proporcionalidad, dY/dX es el gradiente Y en la dirección X, la cual es la dirección del flujo.

Las moléculas difunden en la dirección X a través de dos elementos de área, perpendiculares al eje de las abscisas. Su ubicación está sobre el eje de las X a la distancia X y X + ΔX del origen. El flujo en X es J_x , y el flujo en X + ΔX es $J_{x+\Delta x}$

En el tiempo dt el número de moles que entran en el elemento de volumen es $J_x dt$, mientras que en el mismo intervalo dt salen de ese elemento de volumen por el lado contrario $J_{x+\Delta x} dt$ moles. La variación en el número de moles dentro es ΔN (+ ΔN si hay aumento y - ΔN si hay disminución).

$$\Delta N = J_x dt - J_{x+\Delta x} dt \quad (2.19)$$

pero

$$J_{x+\Delta x} = J_x + (dJ/dx) \Delta x \quad (2.20)$$

$$\Delta N = J_x dt - J_x dt - (dJ/dx) \Delta x dt \quad (2.21)$$

$$\Delta N = - (dJ/dx) \Delta x dt \quad (2.22)$$

simplificando se puede decir que:

$$J_x > J_{x+\Delta x}$$

hay un aumento de moles en el elemento de volumen considerado en el tiempo dt . El aumento de concentración es:

$$dc = \Delta N / \Delta x \quad (2.23)$$

$$dc \Delta x = - (dJ/dx) \Delta x dt \quad (2.24)$$

o bien:

$$dc/dt = - (dJ/dx) \quad (2.25)$$

Por la primera ley de Fick:

$$dJ_x = -D (dc/dt) \quad (2.26)$$

$$dc/dt = D (d_2c/dx_2) \quad (2.27)$$

En circunstancias especiales, la segunda Ley de Fick da la concentración en función del tiempo y la distancia. Para el anterior estado de equilibrio.

$$dc/dt = 0 \quad (2.28)$$

$$d_2c/dx_2 = 0 \quad (2.29)$$

y

$$dc/dx = \text{constante} \quad (2.30)$$

Por lo cual, en estado estacionario la concentración varía linealmente con la ordenada.

Un análisis semejante conduce a:

$$dT/dt = (RT/\sigma C_v)(d_2T/dx_2) \quad (2.31)$$

en la conducción de energía térmica.

El factor σC_v aparece al convertir el incremento de calor en un elemento de volumen considerado, en un incremento de temperatura dada, C_v capacidad calorífica por gramo y σ es la densidad.

Empleando la segunda Ley de Fick para la difusión del vapor de agua, se tiene:

$$dc/dt = D (d_2c/dx_2) \quad (2.32)$$

donde:

- c = Concentración de humedad en los poros del producto
- t = Tiempo
- D = Coeficiente de difusión de la humedad
- X = Distancia media perpendicular

La solución de la ecuación diferencial tiene la forma:

$$R = A e^{-\alpha W^2} \quad (2.33)$$

donde:

R = Fracción de la humedad original remanente luego del tiempo t
d = Espesor de capa
A y α = constantes

Esto es válido también para un sistema en el cual la difusión a través de los poros es más veloz que a través de la masa sólida y en el cual la concentración en la superficie se equilibra rápidamente con la concentración externa que se supone igual a cero. Si la humedad en el espacio por encima de la superficie no es cero, entonces:

$$R = (W_t - W_e)/(W_0 - W_e) \quad (2.34)$$

donde:

W₀ = La masa de humedad por unidad de volumen, cuando T = 0
W_t = La masa de humedad por unidad de volumen, al tiempo t
W_e = La masa de humedad por unidad de volumen a llegar al equilibrio

De (2.33) se puede ver que el tiempo de secado es proporcional al cuadrado del espesor del material que se desea secar. Cuando el material es una capa cilíndrica hueca de largo finito, la ecuación (2.32) se transforma en:

$$dc/dt = D (1/r) [d(rdc/dr)dr] \quad (2.35)$$

La solución de esta ecuación diferencial da una relación similar entre t y d como en la ecuación (2.32)

En la vacuna BCG, se supone que el coeficiente de difusión tiene un valor fijo. En realidad, varía con el tiempo, con la concentración. Puede aumentar o disminuir a medida que prosiga la deshidratación, dependiendo de la disminución del volumen de masa, que afectará el tamaño de los poros y de cambios que ocurren en las moléculas de la masa. El coeficiente de difusión es afectado por la forma y tamaño de los poros, los cuales a su vez son influidos por el grado de concentración de la solución antes de congelar y de la velocidad de congelación.

Las ecuaciones (2.32) y (2.35) suponen que el producto es homogéneo y que el secado no es inhibido por la película superficial. Finalmente las ecuaciones mencionadas tampoco suponen la disminución del volumen de masa ni el resquebrajamiento del material durante el secado.

PROCESO DE OPTIMIZACION

3. PROCESO DE OPTIMIZACION

El método empleado para realizar la optimización del proceso es referido a la programación geométrica, ya que las funciones de simulación desarrolladas para tal objetivo, son polinomios de cuarto orden y la relación con la variables son en forma geométrica. Para realizar la optimización, fue necesario ejecutarla mediante el software denominado Eureka 2.3, dada la magnitud de la simulación más adecuada y la rápida facilidad de lograr resultados satisfactorios. Las condiciones óptimas para realizar el proceso esta sujeto a dos grandes parámetros que son la presión y la temperatura, recordando que al hablar de presión se esta refiriendo a vacío y la temperatura varía con respecto al tiempo, querepresentan en conjunto el factor a ser controlado.

Las ecuaciones de simulación han sido desarrolladas mediante, programas de computo y polinomios ortogonales los cuales se han formulado, mediante las relaciones de temperatura-tiempo, lográndose factores de correlación altos del orden de $r = 0.99$ aproximadamente para ambas ecuaciones.

Las ecuaciones de simulación son:

Minimizar: Etapas de congelación
Etapa de (secado primario y secundario)
El tiempo de ejecución del proceso

Para la congelación (4to. orden)

$$\begin{aligned} \text{Constante} &= 27.65974 \\ \text{1er Coeficiente} &= -1.426484 \\ \text{2do Coeficiente} &= -1.424354 \\ \text{3er Coeficiente} &= 0.157615 \\ \text{4to Coeficiente} &= -4.823664 \text{ E-03} \end{aligned} \tag{3.1}$$

Para el calentamiento (4to. orden)

$$\begin{aligned} \text{Constante} &= -2303.257 \\ \text{1er Coeficiente} &= 90.85114 \\ \text{2do Coeficiente} &= -1.410017 \\ \text{3er Coeficiente} &= 1.00363 \text{ E-02} \\ \text{4to Coeficiente} &= -2.67416 \text{ E-05} \end{aligned} \tag{3.2}$$

Es de gran importancia señalar que la ecuación de simulación para el congelamiento, tiene una gran similitud con la curva experimental, pero no presenta en forma detallada el efecto de nucleación (ver análisis de resultados).

Condiciones Optimas de Liofilización:

Temperatura de sublimación = -25°C

Presión de sublimación = 100 micrones [1000 micrones = 1 mmHg]

Tiempo de duración del proceso 12 hrs

ANALISIS COMPARATIVO DE PROCESOS

4. ANALISIS COMPARATIVO DE PROCESOS

En el presente capítulo, se detallará de manera breve el proceso de producción de la vacuna BCG, desde el envase de los graneles hasta la liofilización, contemplando en esta última etapa las diferencias que existe entre la simulación lograda por la optimización y el proceso original.

4.1 PROCESO ORIGINAL

Las ampollitas liberadas en base a tipo de vidrio y dimensiones, lavarlas, y depositarlas en cajas de acero inoxidable para su esterilización. Seleccionar las vacunas líquidas en base a los resultados de control de calidad, mezclando el número necesarios para obtener el volumen correspondiente.

Acoplar el equipo de llenado y realizar la calibración del volumen llenar las ampollitas cada una con 0.5 ml de la vacuna líquida.

Una vez concluidas las etapas anteriores se procederá a realizar el proceso de liofilización para lo cual es necesario prender las bombas hidroneumáticas y verificar la presión del agua, verificar los niveles refrigerante de compresor y aceite de la bomba de vacío; introducir el producto a la cámara de liofilización, colocar los termopares, cerrar la puerta, verificar el sellado hermético e iniciar la liofilización del producto que dura de 20 a 22 horas, a la primera hora de iniciado el congelamiento verificar la temperatura del producto que debe de estar aproximadamente a -32°C , proceder a realizar el vacío el cual debe de ser ajustado a 100 micrones; posteriormente iniciar el calentamiento (secado primario y secundario) ajustando los controles de temperatura de condensador a -55°C y la de las placas a 35°C . Al siguiente día verificar la temperatura del producto y de las placas así como el vacío, proceder a romper el vacío para extraer el producto. Una vez concluida la liofilización del producto se inicia el sellado de las ampollitas al alto vacío.

4.2 PROCESO SIMULADO

Las ampollitas liberadas en base a tipo de vidrio y dimensiones, lavarlas y depositar las en cajas de acero inoxidable para su esterilización. Seleccionar las vacunas líquidas en base a los resultados de control de calidad, mezclando el número necesarios para obtener el volumen correspondiente.

Acoplar el equipo de llenado y realizar la calibración del volumen llenar las ampollitas cada una con 0.5 ml de la vacuna líquida.

Una vez concluidas las etapas anteriores se procederá a realizar el proceso de liofilización para lo cual es necesario prender las bombas hidroneumáticas y verificar la presión del agua, verificar los niveles refrigerante de compresor y aceite de la bomba de vacío; introducir el producto a la cámara de liofilización, colocar los termopares, cerrar la puerta, verificar el sellado hermético e iniciar la liofilización del producto que dura 12 horas, a la primera hora de iniciado el congelamiento verificar la temperatura del producto que debe de estar aproximadamente a -25°C , proceder a realizar el vacío el cual debe de ser ajustado a 100 micrones; posteriormente iniciar el calentamiento (secado primario y secundario) ajustando los controles de temperatura de condensador a -55°C y la de las placas a 35°C . Al siguiente día verificar la temperatura del producto y de las placas así como el vacío, proceder a romper el vacío para extraer el producto. Una vez concluida la liofilización del producto se inicia el sellado de las ampollitas al alto vacío.

ANALISIS DE RESULTADOS

5. ANALISIS DE RESULTADOS

TABLA DE RESULTADOS COMPARATIVOS

(TABLA 5.1)

Lectura de Tiempo	Temperatura Experimental	Temperatura Emitida por la Simulacion	Lectura de Tiempo	Temperatura Experimental	Temperatura Emitida por la Simulacion
1	25	24.96171	103	17	17.00641
2	20	20.29313	104	19	18.87284
3	17	14.42605	105	21	20.69066
4	5	8.08167	106	24	22.45278
5	0	1.80570	107	26	24.15144
6	-4	-4.36231	108	27	25.77837
7	-8	-9.63835	109	28	27.32670
8	-12	-13.96920	110	29	25.78060
9	-17	-17.29743	111	30	30.13602
10	-20	-19.66137	112	31	31.37993
11	-22	-21.21513	113	32	32.50068
12	-23	-22.22285	114	33	33.48660
13	-18	-23.06733	115	34	34.32438
14	-20	-24.29288	116	35	35.00063
15	-24	-26.46220	117	35	35.50136
16	-32	-30.32843	118	37	35.81117
17	-37	-36.34020	119	37	37.00000
18	-37	-37.00000	.	.	.
.
.	.	.	220	37	37.00000
80	-37	-32.74131	.	.	.
81	-30	-30.22422	.	.	.
82	-29	-27.77092	.	.	.
83	-28	-25.35359	.	.	.
84	-20	-23.02526	.	.	.
85	-17	-20.71939	.	.	.
86	-15	-18.45030	.	.	.
87	-14	-16.21270	.	.	.
88	-13	-14.00260	.	.	.
89	-11	-11.81501	.	.	.
90	-10	-9.64776	.	.	.
91	-9	-7.49787	.	.	.
92	-8	-5.36349	.	.	.
93	-5	-3.24323	.	.	.
94	-4	-1.13653	.	.	.
95	-2	0.95672	.	.	.
96	1	3.03579	.	.	.
97	5	5.09952	.	.	.
98	7	7.14589	.	.	.
99	10	9.17244	.	.	.
100	12	11.17589	.	.	.
101	14	13.15250	.	.	.
102	15	15.09768	.	.	.

ESTA TESTS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

La comparación de resultados experimentales (fig. 5.1) y los emitidos por la simulación tienen un coeficiente de correlación $r= 0.99$, (fig. 5.3) tanto para la simulación en la congelación como en el calentamiento.

Analizando los valores emitidos durante la congelación el efecto de nucleación de la suspensión celular no es muy notorio (fig. 5.2), ya que en el modelo matemático el fenómeno sigue una tendencia lógica, pero aun cuando la nucleación no es reportada en forma evidente, se manifiesta como un cambio de pendiente en la etapa de congelación y marca el comienzo de la sublimación para la simulación.

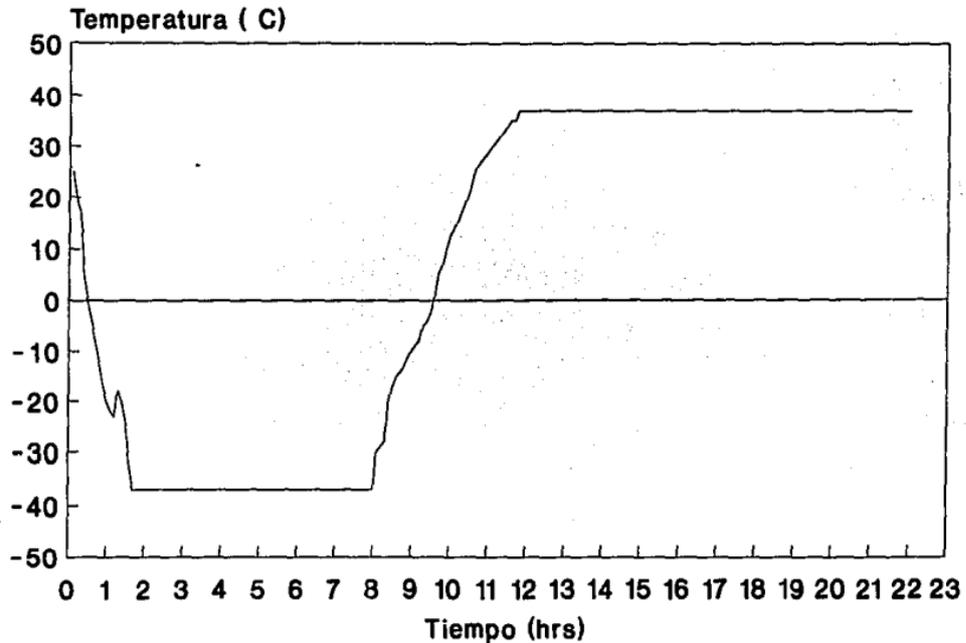
Para el efecto de sublimación y el calentamiento final, no es necesario realizar la simulación ni tampoco encontrar la relación temperatura-tiempo ya que el calor es latente y conocido -37°C para la sublimación y el calor final depende del tiempo de ejecución del proceso.

En el período de tiempo en que se realiza la sublimación que es al rededor de 6 horas, no se realizo ninguna simulación ya que durante este espacio de tiempo la humedad llega a ser lo suficiente como para que el producto, después del calentamiento conserve una humedad mínima del 7%, lo anterior a sido comprobado experimentalmente mediante el análisis de esté factor en lotes de producto terminado.

Los datos experimentales señalados en la (Tabla 5.1) son los reportados por el departamento de producción de vacuna BCG del Instituto Nacional de Higiene, en donde dichos valores corresponden a un lote que cumplió con especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).

PROCESO DE LIOFILIZACION CONDICIONES DE PROCESO

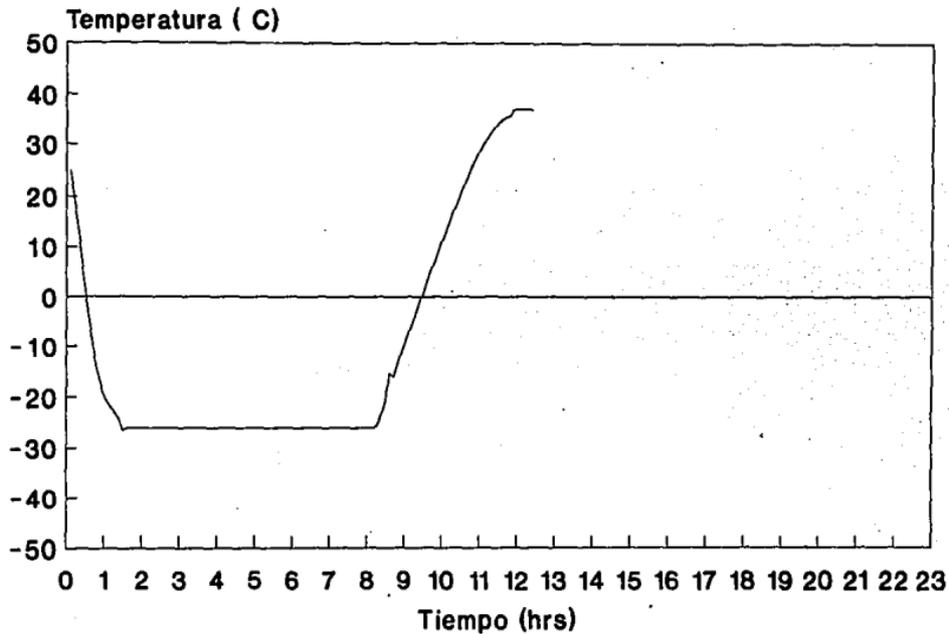
Fig. 5.1



VACUNA BCG

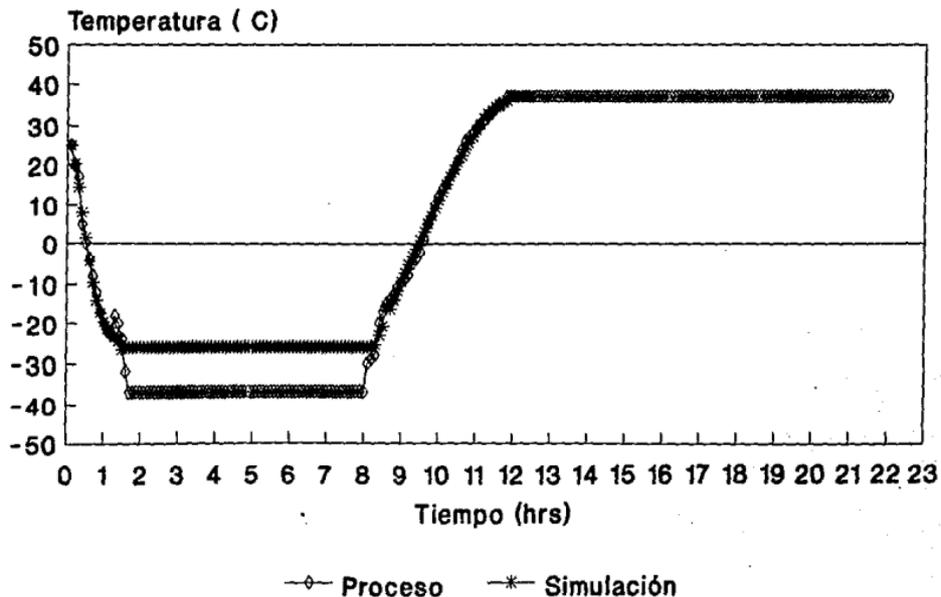
PROCESO DE LIOFILIZACION CONDICIONES OPTIMAS DE SIMULACION

Fig. 5.2



VACUNA BCG

**PROCESO DE LIOFILIZACION
COMPARACION ENTRE SIMULACION Y PROCESO
Fig. 5.3**



VACUNA BCG

Fig. 5.4

NOTAS:

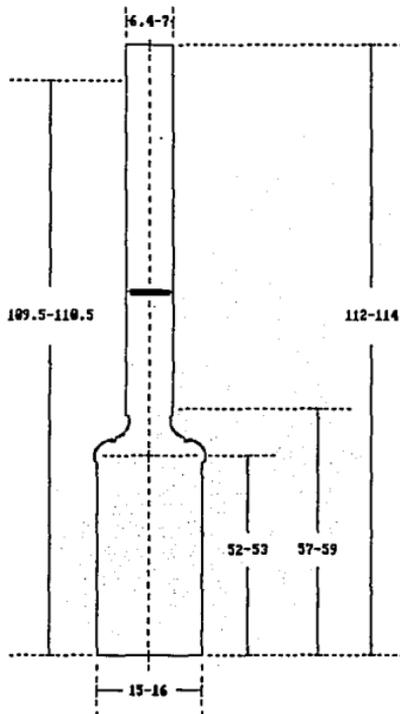
COLOR VIDRIO: AMBAR

TIPO VIDRIO: TAMU

CINTADA EN COLOR NARANJA
A 78 mm DEL FONDO

PARED AGUJA: 8.55 - 8.68

FONDO: PLANO



GERENCIA GENERAL DE BIOLÓGICOS Y REACTIVOS

CAPACIDAD
5 ml

PLANO MECÁNICO DE FRASCO

BCG

ACOTACION
mm

AMPULA PARA VACUNA BCG

1992

JOSE MACIEL ORTIZ

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- 6.1 Las condiciones óptimas para realizar la liofilización denota que la temperatura de congelación puede ser llevada solamente a -25°C , y no hasta -37°C , con lo cual se realizaría un ahorro energético del 20%, reduciendo con ello un costo mínimo.
- 6.2 La velocidad con la cual se realiza la sublimación, es de 6 horas en las cuales el fenómeno es ampliamente controlado y se evita la posible ebullición del producto, al igual que la formación de poros por los cuales es fácil el escapar de vapor, lo cual sugiere no reducir la temperatura ni aumentaría.
- 6.3 El fenómeno de nucleación que se presenta al cabo de los primeros 90 minutos de comenzar el proceso en forma experimental es en forma precipitada, por lo cual no es muy apreciable, en cambio en la simulación la lentitud en la disminución del cambio de temperatura da una idea del fenómeno más ampliamente, con lo cual la posible muerte celular se podría disminuir en esta fase.
- 6.4 La posibilidad de controlar el fenómeno descrito en el punto 6.3 es mediante la suspensión del proceso de enfriamiento, logrando con ello la estabilización de la temperatura justo en el momento de la nucleación, dando tiempo a la formación de agujas intracelulares con menor velocidad, permitiendo al glutamato de sodio ejercer su función de protector criogénico, con mayor eficiencia.
- 6.5 Lo dispuesto en el punto 6.1, debe ser considerado con precaución y deberá de tomarse en cuenta que estos valores han sido emitido por un modelo matemático, el cual no contempla la sensibilidad del sistema térmico del liofilizador, por lo que se recomienda consultar siempre al fabricante.
- 6.6 El tiempo dispuesto por la simulación es de 12 horas con lo cual comparado con el proceso, original, reduce una disminución de 8 horas restando con ello una jornada laboral, lo que implicaría el aumento de un turno vespertino de trabajo.
- 6.7 Las ampollitas empleados para el envase, deberán cumplir con las especificaciones (fig. 5.4), ya que en base a éstas se realizó la optimización, el fondo de la ampollita deberá ser completamente plano, evitando con ello la formación de una barrera térmica al flujo de calor, prolongando con ello el tiempo de ejecución.

6.8 Sería necesario procesar algunos lotes experimentales considerando los parámetros del proceso simulado, para determinar si no se afecta la calidad del producto en relación a cuenta viable, estabilidad y humedad.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

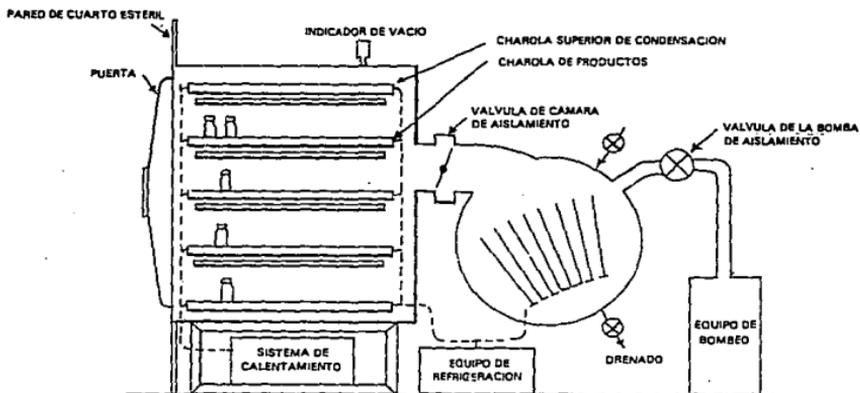
1. Balzhiser, R. E.; Samuels, M. R., Eliassen, J. D.; **TERMODINAMICA QUIMICA PARA INGENIEROS**; 3ra. Ed.; Prentice Hall Internacional; 1980, España
2. Brow, G. G.; **UNIT OPERATIONS**; John Wiley and Sons; 1950; Nueva York
3. Ewing, G. W.; **CALCULUS OF VARIATIONS WITH APPLICATIONS**; W. Norton Co.; 1975; Nueva York
4. Foust, A. S.; Wenzel, L. A.; Clump, C. W.; Maus, L.; Andersen, L. B.; **PRINCIPIOS DE OPERACIONES UNITARIAS**; 3da. Ed.; Compañía Editorial Continental, S. A.; 1985; México
5. Fry, M. R.; **FREEZING AND DRYING OF BACTERIA**; Criobiology Ed.; H. T. Meryman Acad.; 1966; Londres
6. Garza, R. J.; Viesca, C.; Franco, G. G.; **LAS VACUNAS EN MEXICO**; Gerencia General de Biológicos y Reactivos; 1986; México
7. González C.; **CONTROL DE CALIDAD POR COMPUTADORA**; 1ra. Ed.; McGraw Hill; 1991; México
8. Greaves, N. R.; **FUNDAMENTAL ASPECT OF FREEZE-DRYING BACTERIA AND LIVING CELLS**; L. Rey Herman; 1964; Paris
9. Hechtly, S. P.; **PRESERVATION OF BACTERIA BY LYOPHILIZATION**; Appl. Microbiol. 1961
10. Kirk, D. E.; **OPTIMAL CONTROL THEORY, AN INTRODUCTION**; Prentice Hall; 1970
11. Nei, T.; **FREEZING AND DRYING OF MICROORGANISMS**; Universidad de Tokyo; 1968; Baltimore
12. Obayashi, Y.; **DRIED BCG VACCINE**; World Health Organization; 1955; Ginebra
13. Perry, R. H.; Chilton, C. H.; **MANUAL DEL INGENIERO QUIMICO**; Volumen I y II; 5ta. Ed.; McGraw Hill; 1982; México

14. Pike, R. W.; G. Guerra, L.; OPTIMIZACION EN INGENIERIA; 2da. Ed.; Alfaomega; 1989; México
15. Rosenbrock, H. H.; Storey, C.; COMPUTATIONAL TECHNIQUE FOR CHEMICAL ENGINEERS; Pergamon; 1968; Londres
16. Rowe, T. W. G.; Snowman J. W.; EDWARDS FREEZE DRYING HANDBOOK; Edwards High Vacuum Crawley; 1978; Cambridge
17. Scriban, R.; BIOTECNOLOGIA; 2da. Ed.; Ed. Manual Moderno; 1985; México
18. Secretaría de Salud; FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS; 5ta. Ed.; 1988; México
19. Smith, J.M., Van Ness, H.C.; TERMODINMICA EN INGENIERIA QUIMICA; 3ra Ed.; McGraw Hill, 1970; México
20. Snowman, J. W.; FREEZE DRYING OF STERILE PRODUCTS; Eduwards High Vacuum; 1980; Nueva York
21. Varios; EXPEDIENTE MAESTRO "PROCEDIMIENTO DE FABRICACION DE VACUNA BCG LIOFILIZADA"; Gerencia General de Biológico y Reactivos; 1993; México
22. Wark K.; TERMODINAMICA; 4ta. Ed.; McGraw Hill; 1984; México
23. World Health Organization; VACCINATION AGAINST TUBERCULOSIS; Who Tech; Report Series No. 651; 1980
24. Wrioth, D.; FACTORS INFLUENCING THE ESTABILITY OF FREEZE DRIED BCG VACCINE; Symposium Series; 1970; Frankfurt

APENDICE A

PROCEDIMIENTO OPERATIVO DE LIOFILIZACION

- A.1** Encender las bombas de hidroneumático y verificar presión.
- A.2** Verificar niveles de refrigerante (freón 12) de compresor y aceite de la bomba de vacío.
- A.3** Introducir el producto a la cámara de liofilización, colocar los termopares, sellar e iniciar la liofilización.
- A.4** Entre los 65 y 75 minutos de haber iniciado el congelamiento, registrar la temperatura del producto la cual de ser de -32 a -37°C. Posteriormente se procede a realizar el vacío.
- A.5** Verificar el vacío, el cual deberá permanecer constante en 100 micrones (presión constante durante todo el proceso) en la liofilizadora. Consecutivamente iniciar el calentamiento (secado primario y secundario).
- A.6** Verificar la temperatura del producto y de las placas así como la presión. Proceder a romper el vacío para extraer el producto.
- A.7** Extraer el producto e iniciar el sellado de las ampollitas.



SECUENCIA DE LIOFILIZACION