



Unione Europea



Ministero dell'Istruzione,  
dell'Università e della Ricerca



UNIVERSITÀ DEGLI  
STUDI DI SALERNO

**FONDO SOCIALE EUROPEO**  
**Programma Operativo Nazionale 2007/2013**  
**“Ricerca Scientifica, Sviluppo Tecnologico, Alta Formazione”**  
**Regioni dell’Obiettivo 1 – Misura III.4**  
**“Formazione superiore ed universitaria”**

***Department of Industrial Engineering***

*Ph.D. Course in:*  
*Scienza e tecnologie per l’industria Chimica, Farmaceutica ed*  
*Alimentare*  
*(XI Cycle-New Series)*

**PRODUCTION OF MICRO AND NANOPARTICLES OF  
THERMOLABILE COMPOUNDS USING SUPERCRITICAL  
ASSISTED ATOMIZATION**

**Supervisor**

*Prof. Ernesto Reverchon*  
*Dr. Ing. Giuseppe Caputo*

**Ph.D. student**

*Sara Liparoti*

**Scientific Referees**

*Dr. Ing Renata Adami*  
*Dr. Ing. Andreas Braeuer*

**Ph.D. Course Coordinator**

*Prof. Paolo Ciambelli*

**2013**

## Abstract

Supercritical Assisted Atomization (SAA) is a very efficient process to micronize several kind of compounds, such as catalysts, polymers and active principles, also for pharmaceutical applications.

The process is based on the solubilization of a controlled amount of CO<sub>2</sub> in the liquid mixture, containing the compound to micronize, to reduce the cohesive forces, related to viscosity and surface tension, in order to obtain smaller particles than those could be obtained by process such as spray drying. The solution, formed by the liquid feed and supercritical CO<sub>2</sub>, is injected through a nozzle in a precipitation chamber where fast and complete evaporation of the solvent from the droplets takes place. The particles are collected on a porous filter located at the bottom of the precipitator.

The SAA process has many applications in the micronization field, for this reason it is important to have a better comprehension of the principal mechanisms involved in the atomization process, to have a better control on particle size and distribution. For this reason the first part of this thesis work has been devoted to the evaluation of vapor liquid equilibria, involved in the saturator, and the fluid-dynamic of the jet break up. To evaluate the composition of the vapor-liquid phases, in the equilibrium conditions, a new approach, based on Raman Scattering, has been used. This technique, compared with the traditional used in thermodynamical studies, has the advantage to avoid any disturbance during the measurements. The systems acetone-CO<sub>2</sub> and acetone-water-CO<sub>2</sub> have been studied and the obtained compositions have been compared with results reported in literatures. The obtained results revealed that the vapor liquid equilibria detected by Raman are comparable with those obtained by other techniques. This part of the work was made in collaboration with SAOT institute in Erlangen (Germany).

It is also important to understand the role of supercritical CO<sub>2</sub> in the atomization process, from fluid-dynamic point of view. For this reason Supercritical Dissolved Gas Atomization (SGDA) plant is used to analyze the spray by laser diffraction technique. The SGDA experiments were performed using two solvents: water and ethanol. Supercritical CO<sub>2</sub> shows different behaviours with these solvents, since it is not soluble in water but it has a good affinity with ethanol.

The laser diffraction analysis reveals that the droplet mean diameter strongly depends on gas to liquid ratio (GLR), since at low value of GLR (lower than 2) bigger droplets were obtained, whereas at GLR higher than 2, smaller droplets were obtained and no variation in droplet mean diameter was observed at higher value of GLR. Droplets obtained using ethanol are smaller than those obtained using water, this because the solubilization of supercritical CO<sub>2</sub> in ethanol allows the decrease of cohesive forces due to viscosity and surface tension. Finally, the analysis of spray by laser diffraction lets to make hypothesis on the regime of atomization: this is bubbly for low value of GLR<1 and become annular for higher GLR. This because the amount of gas not dissolved in the liquid becomes considerably high and induces the nucleation of bubbles in the inner zone of the injector. Moreover, when GLR>1.5 the SMDs are considerably smaller than the diameter of the injector (2 order of magnitude), accordingly to the hypothesis of annular flow.

On basis of the results obtained by the experiments on SGDA, a model compound was chosen for SAA micronization experiments, to enforce the theory previous discussed. Polyvinylpyrrolidone (PVP), that is a polymer that shows high affinity to polar solvents, was chosen as model compound. The solvents used were water, in which CO<sub>2</sub> is not soluble, a water-acetone mixture, where acetone is a non-solvent for PVP and enhance the affinity of the liquid feed with supercritical CO<sub>2</sub>, and ethanol, that has a good affinity with CO<sub>2</sub>.

The bigger particles (mean diameter ranged between 1.20 and 1.86 μm) were obtained using water as solvent, whereas using ethanol it was possible to produce the smallest particles (mean diameter ranged between 0.4 and 1.36 μm).

Moreover, using ethanol as solvent, it was possible to change the operating conditions in the saturator in order to work in the one phase region of vapor liquid equilibria diagram. Keeping constant saturator temperature at 40°C, it was demonstrated that increasing saturator pressure (from 70 to 165 bar) smaller particles were obtained. When saturator pressure is higher than 100 bar, CO<sub>2</sub> gives no contribution to a pneumatic effect, since, it is completely dissolved in the liquid. This fact could contribute to the demonstration that the main factor that influences the mean dimensions of the micro particles produced by SAA could be the amount of dissolved CO<sub>2</sub>; indeed, when SC-CO<sub>2</sub> is completely solubilized in the liquid feed, smaller particles can be obtained.

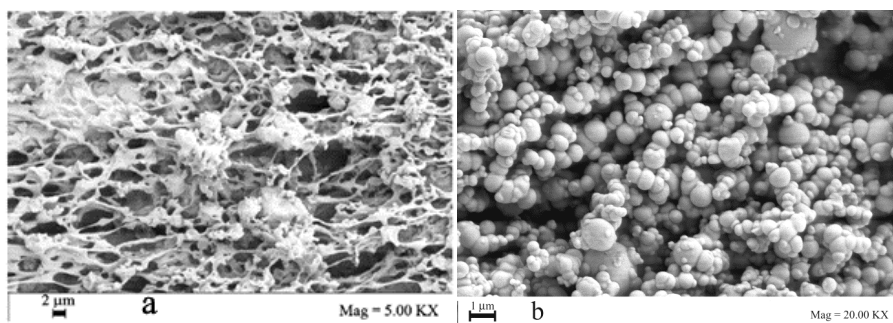
Furthermore, considering the main limit of SAA, that is related to temperature to be used to remove the solvent, a new plant configuration is proposed. In the new plant configuration, a vacuum system is added downstream the precipitator to allow the decrease of precipitation pressure and, as a consequence, of

temperature that is necessary for the evaporation of the solvent from the droplets. Indeed, high temperatures might be prohibitive for proteins, that could denature, and for polymers with low glass transition temperature, that could soften on the filter, inducing the blockage of the filter and the increase of pressure up to the safety limits.

The project of the vacuum system faced several problems: 1) the process is continuous: a continuous flow of nitrogen is fed into the precipitator, and this flow has to be removed from the vacuum pump ;2) particulate could be present downstream the porous filter, these particles could decrease the efficiency of the vacuum pumps and could damage the mechanical components of the pumps; 3) condensables are present due to the evaporation of the solvent, these fluids could condensate in the vacuum chamber of the pump, inducing, again, the decrease of pump efficiency. For these reasons, a condenser was projected, to separate condensables before they enter in the vacuum pump. Moreover, it was chosen a piston pump with diaphragm. The diaphragm allows to separate the mechanical parts of the pump from the particles that might be present; this kind of pump is oil free, to avoid the formation of emulsions with condensables.

To validate the plant in the new configuration, experiments on protein and polymers with low glass transition temperatures were performed. For example, the micronization of Bovine Serum Albumin was successfully performed, setting 60°C and 0.8 bar in the precipitator. FTIR analysis demonstrated that operating at this temperature the denaturation of the protein was avoided. Other experiments were performed on micronization of polymers. The polymers chosen for these experiments are poly-L-lactide acid (PLLA), poly ethylene glycol (PEG) and copolymers PEG-PLA.

Comparing the results of SAA experiments on these polymers were performed also using the traditional plant configuration and it is interesting to see how the soften of the polymeric particles took place, this phenomenon induces the formation of membrane like structure on the filter. Instead, using the configuration operating at sub-atmospheric pressure in the precipitator, very regular and no agglomerated particles were obtained. Figure 1 shows an example of microparticles of PEG that can be obtained using the vacuum system:



**Figure 1** PEG microparticles obtained by SAA process using both plant configuration; (a) membrane like structure; (b) microparticles.

PEG has very low glass transition temperature (-20°C) and, as reported in literature, it is very difficult to obtain microparticles of this polymer. Using the new plant configuration, it was possible to decrease precipitation temperature down to 5°C, taking advantage of the Joule–Thomson effect, produced by the CO<sub>2</sub> expansion downstream the nozzle.

Generally, the mean dimension of the produced particles ranged between 0.2 and 3 μm. The diameter of the produced particles depends on operative conditions used. For example, an increase of precipitation temperature induces the decrease of particle mean diameter; even the concentration of solute in the liquid feed has a no negligible effect on the particle size, since, at high concentration of solute bigger particles are produced.

In conclusion, in this PhD thesis, deeper understanding of the main mechanisms involved in the SAA process has been achieved. The Raman technique allows to evaluate the thermodynamic behavior of the system solvent-CO<sub>2</sub> that is generated in the saturator at the SAA operating conditions, that is of crucial importance in particle size control. The study of the atomization process, supported by SGDA experiments, gave an important comprehension of the role supercritical CO<sub>2</sub> in the spray formation. All these fundamental studies were also connected with particle formation, using SAA plant, giving a general interpretation of the main phenomena involved in micronization.

Furthermore, from the process point of view, a new layout for the SAA plant was proposed and validated. This new layout allows to operate under vacuum in the precipitator, in order to process, at low temperature, thermolabile compounds. Several compounds, for which the SAA micronization was unsuccessful, such as PLLA, copolymers PLA-PEG, PEG, were efficiently micronized, operating at low temperature, underlining the importance of this process improvement.

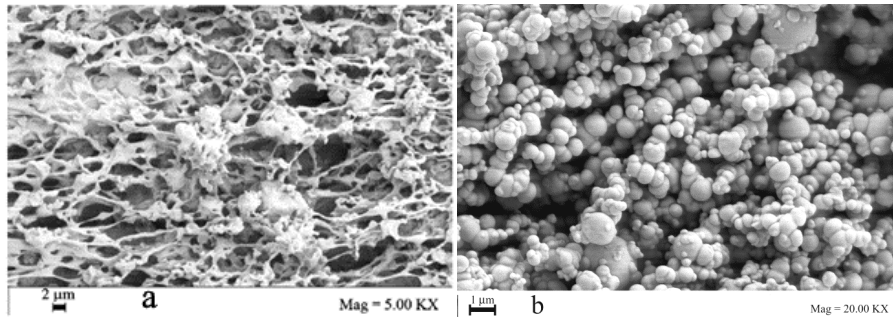
## Sommario

L' atomizzazione assistita da fluidi supercritici (SAA) è un processo molto efficiente per micronizzare diversi tipi di composti, come catalizzatori, polimeri e principi attivi, anche per applicazioni farmaceutiche. Il processo si basa sulla solubilizzazione di una quantità controllata di CO<sub>2</sub> nella miscela liquida, contenente il composto di micronizzazione, per ridurre le forze coesive, viscosità e tensione superficiale, al fine di ottenere particelle più piccole di quelle potrebbe essere ottenuto con processi tradizionali come lo spray drying. La soluzione, formata da solvente e CO<sub>2</sub> supercritica, viene iniettata attraverso un ugello in una camera di precipitazione dove l'evaporazione rapida e completa del solvente permette la formazione di microparticelle. Le particelle vengono raccolte su un filtro poroso situato nella parte inferiore del precipitatore. È anche importante comprendere il ruolo della CO<sub>2</sub> supercritica nel processo di atomizzazione, dal punto di vista fluidodinamico. Per questo motivo viene utilizzato un processo noto come Atomizzazione da soluzione supercritica (SGDA) per analizzare lo spray con la tecnica di diffrazione laser. Gli esperimenti sono stati effettuati utilizzando due solventi: acqua ed etanolo. La CO<sub>2</sub> supercritica mostra diversi comportamenti con questi solventi, poiché non è solubile in acqua ma ha una buona affinità con etanolo. L'analisi di diffrazione laser rivela che il diametro medio delle goccioline dipende fortemente dal rapporto gas-liquido (GLR), poiché a basso valore di GLR (inferiore a 2) si ottengono gocce più grandi, mentre a GLR superiore 2, si ottengono goccioline più piccole, infine nessuna variazione del diametro della goccia si osserva a valori più alti di GLR. Le goccioline ottenute utilizzando etanolo sono più piccole di quelle ottenute con acqua, questo perché la solubilizzazione di CO<sub>2</sub> supercritica in etanolo consente la diminuzione delle forze coesive dovute alla viscosità e tensione superficiale. Infine, l'analisi dello spray per diffrazione laser consente di fare ipotesi sul regime di atomizzazione: questo è frizzante a valori di GLR <1 e diventa anulare per valori di GLR maggiori. Ciò perché la quantità di gas non disciolto nel liquido diventa considerevolmente elevata e induce la nucleazione delle bolle nella zona interna dell'iniettore. Inoltre, quando GLR > 1.5 le SMD sono sensibilmente minori del diametro dell'iniettore (2 ordine di grandezza), per l'ipotesi di flusso anulare.

Sulla base dei risultati ottenuti dagli esperimenti SGDA, è stato scelto un composto modello per gli esperimenti di micronizzazione SAA, per applicare la teoria prima discussa. Il Polivinilpirrolidone (PVP), che è un polimero che mostra alta affinità ai solventi polari, è stato scelto come composto modello. I solventi utilizzati sono acqua, in cui la CO<sub>2</sub> non è solubile, una miscela acetone-acqua, dove l'acetone è un non-solvente per PVP e migliora l'affinità del liquido alimentato con la CO<sub>2</sub> supercritica, ed etanolo, che ha una buona affinità con la CO<sub>2</sub>. Le particelle più grandi (diametri medi compresi tra 1,20 e 1,86 micron) sono stati ottenute utilizzando acqua come solvente, mentre utilizzando etanolo è stato possibile produrre le particelle più piccole (diametro medio variava tra 0,4 e 1,36 micron). Inoltre, utilizzando etanolo, è possibile modificare le condizioni operative del saturatore per lavorare nella regione monofasica del diagramma di equilibrio liquido vapore. Mantenendo la temperatura del saturatore costante e pari a 40 ° C, è stato dimostrato che aumentando la pressione (70-165 bar) è possibile ottenere particelle più piccole. Quando la pressione nel saturatore è superiore a 100 bar, la CO<sub>2</sub> non dà alcun contributo all' effetto pneumatico, poiché, è completamente disciolta nel liquido. Questo fatto potrebbe contribuire a dimostrare che il fattore principale che influenza le dimensioni medie delle micro particelle prodotte dalla SAA potrebbe essere la quantità di CO<sub>2</sub> disciolta; infatti, quando la SC-CO<sub>2</sub> è completamente solubilizzato nel liquido, si ottengono particelle più piccole.

Inoltre, considerando che il principale limite della SAA è legato alla temperatura da utilizzare per rimuovere il solvente, si propone una nuova configurazione dell'impianto. Nella nuova configurazione dell'impianto, un sistema a vuoto è stato aggiunto a valle del precipitatore per consentire la riduzione della pressione di precipitazione e, di conseguenza, della temperatura necessaria per l'evaporazione del solvente dalle goccioline. Infatti, le alte temperature possono danneggiare le proteine, che potrebbero denaturare, e polimeri con bassa temperatura di transizione del vetro, che potrebbero intasare il filtro, fino ad aumentare la pressione oltre i limiti di sicurezza. Il progetto del sistema a vuoto ha affrontato diversi problemi: 1) il processo è continuo: un flusso continuo di azoto viene alimentato nel precipitatore, e questo flusso deve essere rimossa dalla pompa del vuoto; 2) particelle potrebbero essere presenti a valle del filtro poroso, queste a loro volta possono diminuire l'efficienza delle pompe potrebbero danneggiare i componenti meccanici della pompa stessa; 3) condensabili sono presenti a causa dell'evaporazione del solvente, questi i fluidi potrebbero condensare nella camera della pompa, inducendo, di nuovo, la diminuzione di efficienza della pompa. Per queste ragioni, è stato progettato un condensatore, per separare condensabili prima che entrino nella pompa del vuoto. Inoltre, è stata scelta una pompa a pistone con membrana. Il diaframma permette di separare le parti meccaniche della pompa dalle particelle eventualmente presenti; questo tipo di pompa è senza olio, per evitare la formazione di emulsioni con i condensabili. Per convalidare l'impianto nella nuova configurazione, sono stati effettuati esperimenti su proteine e polimeri con bassa temperature di transizione vetrosa. Ad esempio, la micronizzazione di Bovine Serum Albumin è stata eseguita con successo, impostando 60 ° C e 0,8 bar nel precipitatore. L' analisi FTIR ha dimostrato che operando a questa temperatura è possibile evitare la denaturazione della proteina. Altri esperimenti sono stati condotti sui polimeri. I polimeri scelti per questi esperimenti sono acido poli-L-lattide (PLLA), poli glicole etilenico (PEG) e copolimeri PEG-PLA.

Confrontando i risultati degli esperimenti SAA su questi polimeri utilizzando anche la configurazione dell'impianto tradizionale è stato visto come il rammollimento delle particelle polimeriche induce la formazione di membrane sul filtro. Invece, utilizzando la configurazione operante a pressione sub - atmosferica nel precipitatore, sono stati ottenute particelle regolari e senza agglomerati. La Figura 1 mostra un esempio di microparticelle di PEG ottenibili utilizzando il sistema di vuoto:



**Figura 1** Microparticelle di PEG ottenute utilizzando il processo SAA sia con la configurazione impiantistica tradizionale che con quella dotata di sistema da vuoto; (a) a membrana; (b) microparticelle.

Il PEG ha una bassissima temperatura di transizione vetrosa ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) e, come riportato in letteratura, è molto difficile ottenere microparticelle di questo polimero. Utilizzando la nuova configurazione dell'impianto, è stato possibile diminuire la temperatura di precipitazione fino a  $5^{\circ}\text{C}$ , sfruttando l'effetto Joule-Thomson, prodotto dall'espansione della  $\text{CO}_2$  a valle dell'ugello. Generalmente, la dimensione media delle particelle prodotte variava tra 0,2 e 3 micron. Il diametro delle particelle prodotte dipende dalle condizioni operative utilizzate. Ad esempio, un aumento della temperatura di precipitazioni induce la diminuzione del diametro medio delle particelle; anche la concentrazione di soluto nella soluzione liquida ha un effetto trascurabile sulla dimensione delle particelle, in quanto, ad alta concentrazione di soluto si producono particelle più grandi. In conclusione, in questa tesi di dottorato, una maggiore comprensione dei principali meccanismi coinvolti nel processo SAA è stata raggiunta. La tecnica Raman permette di valutare il comportamento termodinamico del sistema solvente- $\text{CO}_2$  che si genera nel saturatore alle condizioni operative SAA, che è di importanza cruciale nel controllo della dimensione delle particelle. Lo studio del processo di atomizzazione, supportato da esperimenti SGDA, ha dato un importante contributo nella comprensione del ruolo della  $\text{CO}_2$  supercritica nella formazione dello spray. Tutti questi studi fondamentali sono stati collegati con la formazione di particelle, utilizzando l'impianto SAA, dando una interpretazione generale dei principali fenomeni coinvolti nella micronizzazione. Inoltre, dal punto di vista del processo, è stato proposto e validato un nuovo layout dell'impianto SAA. Questo nuovo layout consente di operare sotto vuoto nel precipitatore, al fine di processo a bassa temperatura, composti termolabili. Molti composti, per i quali la micronizzazione SAA non è riuscita, come PLLA, copolimeri PLA-PEG, PEG, sono stati efficacemente micronizzati, operando a bassa temperatura, sottolineando l'importanza di questo processo di miglioramento.