บทความการศึกษาต่อเนื่อง

ชื่อบทความ หลักการของการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย

ชื่อผู้แต่ง รองศาสตราจารย์ ดร.ภก.ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

รหัสกิจกรรม : 1007-1-000-004-12-2565

จำนวนหน่วยกิต 3.00 หน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง

วันที่รับรอง : 6 ธันวาคม 2565

วันที่หมดอายุ : 5 ธันวาคม 2566

วัตถุประสงค์

1. อธิบายหลักการและขั้นตอนที่เกี่ยวข้องในการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย
2. อธิบายปัจจัยที่มีผลต่อการแช่แข็งและการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย

บทคัดย่อ

การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย (freeze drying) เป็นวิธีการทำแห้งภายใต้อุณหภูมิและความดันต่ำที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาอย่างกว้างขวาง นิยมใช้กับเภสัชภัณฑ์ สารเคมี ชีววัตถุ เช่น โปรตีน เปปไทด์ เอนไซม์ แอนติเจน แอนติบอดี และสารเคมีที่ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความพรุนสูง มีพื้นที่ผิวมาก ง่ายต่อการละลายกลับมาเป็นสารละลายก่อนใช้ สามารถปรับเข้ากับเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) ได้ แต่ก็เป็นกระบวนการที่มีค่าใช้จ่ายสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการทำแห้งรูปแบบอื่น การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) การแช่แข็ง (freezing) เป็นการทำให้ตัวทำละลาย เช่น น้ำ อยู่ในสถานะของแข็งโดยใช้อุณหภูมิต่ำมาก 2) การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (primary drying) เป็นขั้นตอนการกำจัดน้ำรูปอิสระ หรือน้ำแข็งด้วยวิธีการระเหิดให้เป็นไอ และ 3) การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (secondary drying) เป็นการกำจัดน้ำส่วนที่เหลือที่ดูดซับติดกับผงยา ให้เหลือปริมาณน้ำตกค้างให้น้อยที่สุด ขั้นตอนการพัฒนาตำรับยาในรูปแบบผลิตภัณฑ์ฟรีซดรายจำเป็นต้องเข้าใจแต่ละขั้นตอนอย่างละเอียด และออกแบบกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายอย่างเหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด เพื่อใช้เวลาในการทำแห้งให้น้อยที่สุด ประหยัดค่าใช้จ่าย และได้คุณสมบัติผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่พึงประสงค์

บทนำ

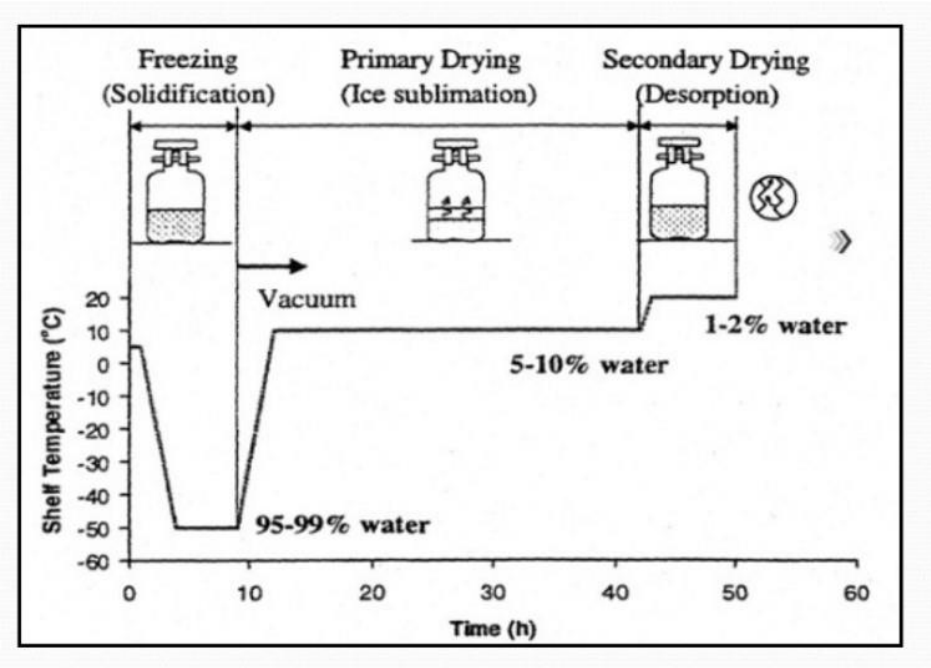
การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย (freeze-drying) หรือไลโอฟิไลเซชั่น (lyophilization) หมายถึงกระบวนการการทำให้แห้ง หรือกำจัดตัวทำละลาย ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ส่วนมากจะเป็นน้ำ ด้วยวิธีการแช่ให้ตัวทำละลายอยู่ในสถานะของแข็งแล้วทำให้แห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยใช้อุณหภูมิต่ำและความดันต่ำ ทำให้ตัวทำละลายถูกกำจัดออกด้วยการระเหิด หรือตัวทำละลายเปลี่ยนสถานะจากของแข็งไปเป็นก๊าซ เหลือเป็นช่องว่างที่เคยเป็นน้ำแข็งกระจายตัว

อยู่ในของแข็งที่มีพื้นที่ผิวมาก สามารถละลายกลับเป็นสารละลายเมื่อต้องการใช้งานได้ง่ายและรวดเร็ว [1] ซึ่งจะแตกต่างจากการทำแห้งทั่วไปที่ตัวทำละลายถูกกำจัดโดยการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวไปเป็นก๊าซ ทำให้โครงสร้างถูกทำลายและเสียพื้นที่ผิว ปัจจุบันการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายนิยมใช้กับเภสัชภัณฑ์ สารเคมี ชีววัตถุ เช่น โปรตีน เปปไทด์ เอนไซม์ แอนติเจน แอนติบอดี และสารเคมีที่ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้

การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายเริ่มต้นด้วยการกรองปราศจากเชื้อสารละลายของยาเตรียมผ่านเครื่องกรองเมมเบรน ขนาด 0.22 ไมครอน ตามด้วยการบรรจุลงขวดทันที แล้วนำเข้าเครื่องแช่แข็ง และทำให้แห้งด้วยวิธีฟรีซดราย ทำให้สามารถใช้เทคนิคปลอดเชื้อได้ตลอดกระบวนการผลิต สามารถลดระดับการปนเปื้อนของอนุภาคทั้งแบคทีเรียและฝุ่นผง [1] นอกจากนี้การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายมีข้อดี คือ การเสื่อมสลายทางเคมีของตัวยาระหว่างกระบวนการเกิดขึ้นได้น้อย เนื่องจากการทำให้แห้งเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มีโครงสร้างที่เป็นรูพรุน มีพื้นที่ผิวมาก ทำให้ยาละลายได้เร็วและสมบูรณ์ในขั้นตอนการละลายยาก่อนฉีด ขนาดบรรจุยาในแต่ละขวดมีความถูกต้องสูง แม้ในปริมาณยาน้อย ๆ เนื่องจากเป็นการบรรจุยาในรูปสารละลาย และในหลายกรณีของแข็งที่ได้ภายหลังการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายเป็นของแข็งอสัณฐานทำให้การละลายเกิดขึ้นได้ง่ายกว่าของแข็งรูปผลึก อย่างไรก็ตาม การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายก็มีข้อเสีย คือ เครื่องมือมีราคาแพง ใช้พลังงานมาก และระยะเวลาในการผลิตนาน ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง จึงเลือกใช้การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายในการผลิตยาที่มีราคาแพงและมูลค่าสูงเป็นเป้าหมายสำคัญ ต้นทุนการผลิตด้วยการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายสามารถลดลงได้ด้วยการศึกษากระบวนการการแช่แข็งและการทำให้แห้งของยาเตรียมชนิดนั้น และปรับกระบวนการผลิตให้เหมาะสมด้วยการลดระยะเวลาการผลิต ลดปริมาณการใช้พลังงาน และสุดท้ายจะเป็นการลดต้นทุนการผลิต

กระบวนการการทำแห้งด้วยฟรีซดราย

การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังแสดงในรูปที่ 1 ได้แก่ 1) การแช่แข็ง (freezing) เป็นการทำให้ตัวทำละลาย (น้ำ) อยู่ในสถานะของแข็งโดยใช้อุณหภูมิต่ำมาก เช่น ที่อุณหภูมิ -40 หรือ -50 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะเข้าสู่ขั้นตอน 2) การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (primary drying) ซึ่งเป็นขั้นตอนการกำจัดน้ำรูปอิสระ (free water) หรือน้ำแข็ง (ice) ด้วยวิธีการระเหิดให้เป็นไอ ในขั้นตอนนี้อาจมีน้ำเหลืออยู่ได้ถึงร้อยละ 5-10 และขั้นตอนสุดท้ายคือ 3) การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (secondary drying) ซึ่งเป็นการกำจัดน้ำส่วนที่เหลือที่ดูดซับเกาะติดกับผงยา (bound water) ให้เหลือน้อยที่สุดถึงร้อยละ 1-2 [1] โดยมีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้



รูปที่ 1 – แสดงกราฟอุณหภูมิและเวลาของกระบวนการการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย

(อ้างอิงจาก: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Lyophilisation_Process.jpg)

1. การแช่แข็ง (freezing)

การแช่แข็งเป็นขั้นตอนสำคัญในการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย เนื่องจากโครงสร้างทางจุลภาคของทั้งน้ำแข็งและตัวถูกละลายที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแช่แข็งมีผลต่อคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์สุดท้าย และประสิทธิภาพของกระบวนการผลิต เช่น อัตราการทำแห้งขั้นปฐมภูมิและขั้นทุติยภูมิ เป็นต้น หากขีดการละลายของตัวถูกละลายสูงเพียงพอที่จะไม่ตกตะกอนออกมาในระหว่างที่อุณหภูมิลดลง ผลึกน้ำแข็งจะเริ่มเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส (supercooling) ขณะที่ผลึกน้ำแข็งเกิดขึ้นและโตขึ้นในระบบ สารละลายที่เหลืออยู่ซึ่งเรียกว่า interstitial fluid จะมีปริมาณของตัวถูกละลายเข้มข้นขึ้น ถ้าตัวทำละลายเกิด true eutectic กับน้ำ eutectic phase ซึ่งประกอบด้วยผลึกละเอียดของตัวถูกละลายกับน้ำแข็งจะตกผลึกลงมา ทำให้ทั้งระบบเป็นของแข็ง เช่น โซเดียมคลอไรด์กับน้ำ อุณหภูมิสูงสุดที่เกิดปรากฏการณ์นี้เรียกว่า อุณหภูมิสูงสุดของการกลายเป็นของแข็งอย่างสมบูรณ์ (maximum temperature of complete solidification: T_{cs}) [(1)] ณ อุณหภูมินี้ไม่มีของเหลวเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์เลย ในการแช่แข็งและทำให้แห้งจำเป็นต้องทำให้สารละลายกลายเป็นของแข็งอย่างสมบูรณ์ ซึ่งอาจใช้อุณหภูมิต่ำถึง -40 หรือ -50 องศาเซลเซียส นาน 10 ชั่วโมง

1.1 การแช่แข็งของระบบที่ประกอบด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว

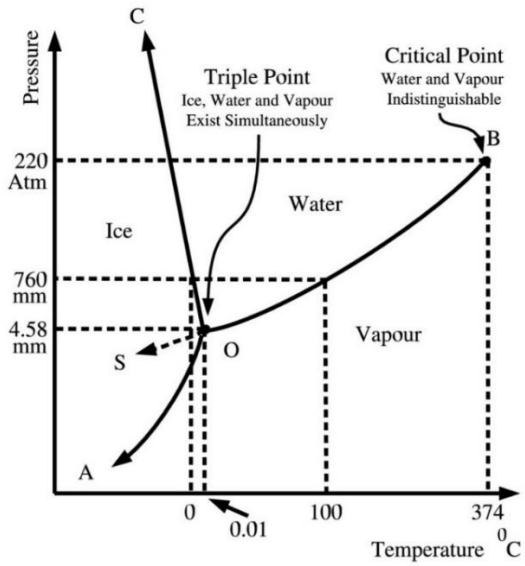
แผนภูมิวัตภาคของน้ำในรูปที่ 2 แสดงถึงการเปลี่ยนสถานะของน้ำที่ความดันและอุณหภูมิต่าง ๆ

จุด O เรียกว่า “triple point” มีค่าอุณหภูมิเท่ากับ 0.0098 หรือประมาณ 0.01 องศาเซลเซียส และค่าความดัน 0.006 atm หรือ 4.58 มิลลิเมตรปรอท ซึ่งเป็นจุดที่วัตภาคไอน้ำ น้ำและน้ำแข็งอยู่ในสภาวะสมดุล หากอุณหภูมิต่ำกว่า triple point เมื่อเพิ่มความดันให้ระบบที่ประกอบไปด้วยไอน้ำ ไอน้ำจะเปลี่ยนสถานะกลายเป็นน้ำแข็งก่อน ต่อเมื่อความดันเพิ่มขึ้นอีกจึงกลายเป็นน้ำ

เส้น OB เรียกว่า “vapor pressure curve” ปลายสุดของเส้น OB ที่จุด B คือ “critical temperature” ซึ่งมีค่าเท่ากับ 374 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเหนือ critical temperature น้ำจะอยู่ในสถานะที่เป็นไอน้ำ ไม่ว่าความดันจะเพิ่มเป็นเท่าไรก็ตาม ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า critical temperature ไอน้ำจะเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำได้โดยการเพิ่มความดัน จนกระทั่งโมเลกุลมาอยู่ใกล้กัน และเกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลชนิด van der Waals

เส้น OA เรียกว่า “sublimation curve” ทุกระบบที่อยู่บนเส้นนี้ จะประกอบไปด้วย 2 วัตภาคคือไอน้ำและน้ำแข็ง ที่อยู่ในสภาวะสมดุล

เส้น OC เรียกว่า “melting curve” ทุกระบบที่อยู่บนเส้นนี้ จะประกอบไปด้วย 2 วัตภาคคือน้ำและน้ำแข็งที่อยู่ในสภาวะสมดุล ความชันของเส้น OC เป็นลบ นั่นหมายถึงเมื่อความดันเพิ่มขึ้น จุดเยือกแข็งจะลดลง



รูปที่ 2 – แสดงแผนภูมิวัตภาคของน้ำบริสุทธิ์

(อ้างอิงจาก: https://www.researchgate.net/figure/Triple-point-of-water-analogy-Fine-tuned-intensive-variables-critical-temperature-T-c_fig6_263792720)

1.2 การแช่แข็งของระบบที่ประกอบด้วยน้ำและตัวถูกละลายที่ตกผลึก

การแช่แข็งเป็นขั้นตอนแรกของการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย ซึ่งขั้นตอนนี้น้ำส่วนใหญ่จะแยกออกจากตัวยาและกลายเป็นน้ำแข็ง ในกรณีนี้น้ำแข็ง หรือ ice หมายถึงน้ำบริสุทธิ์ในสภานะของแข็งที่ไม่มีตัวถูกละลายใด ๆ การลดอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เรียกว่า supercooling จะทำให้เกิด nucleation ของผลึกน้ำแข็ง พลังงานของการเกิดผลึกจะปลดปล่อยออกมาทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 0 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นการตกผลึกจะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดลงถึงจุดหลอมเหลวสมดุลของสารละลายเข้มข้น ในขณะที่อุณหภูมิลดลง สารละลายจะมีความเข้มข้นมากขึ้นจนใกล้เคียงสารละลายอิ่มตัว ผลึกของสารละลายจึงจะตกลงมาในที่สุด อุณหภูมิจะลดลงถึงจุด eutectic point ซึ่งสารทั้งหมดจะกลายเป็นผลึก ตัวอย่างเช่น สารละลายโซเดียมคลอไรด์ในน้ำจะมีeutectic composition ที่ความเข้มข้นร้อยละ 23.3 โดยน้ำหนัก มีค่า eutectic point ที่อุณหภูมิ -21.1 องศาเซลเซียส หากสารละลายประกอบด้วยตัวถูกละลายที่สามารถตกผลึกได้มากกว่าหนึ่งชนิดจะเกิดสภาวะที่คล้ายคลึงกัน แต่ eutectic point จะต่ำกว่า eutectic point ของสารที่เป็นส่วนประกอบ

การแช่แข็งอาจทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่คงสภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งชีววัตถุประเภทโปรตีน เช่น การเกิดสภาวะ pH สูงขึ้นจากการตกผลึกของเกลือที่ใช้เตรียมบัฟเฟอร์ [2,3] หรือน้ำแข็งที่เกิดขึ้นทำให้เกิดพื้นที่ผิวประจัน (interfacial tension) ระหว่างน้ำแข็งกับผิวของโปรตีนหรือผลึกของน้ำแข็งที่เกิดขึ้นทำให้โปรตีนฉีกขาดเสียหาย โครงสร้างพื้นฐานเปลี่ยน ทำให้โปรตีนเสื่อมเสียคุณภาพ [4]

อัตราการแช่แข็งนั้นส่งผลต่อการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายขั้นตอนต่อไปอัตราการแช่แข็งที่ช้า เช่น ที่ 0.5 องศาเซลเซียสต่อนาทีจะทำให้ขนาดของผลึกน้ำแข็งมีขนาดใหญ่ และมีพื้นที่ผิวของน้ำแข็งน้อย จากการเกิด ice nucleation น้อยกว่า crystal growth ซึ่งจะใช้ระยะเวลาการทำให้แห้งสั้นกว่า เนื่องจากโครงสร้างของผลึกน้ำแข็งใหญ่กว่าแรงต้านทางการไหลของไอน้ำน้อย แต่ก็จะทำให้ใช้เวลาในการแช่แข็งยาวนานและส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพได้มากเนื่องจากเกิดการแยกวัตภาค [5] ในขณะอัตราการแช่แข็งที่เร็ว เช่น ที่ 2.0 องศาเซลเซียสต่อนาทีจะทำให้ขนาดของผลึกน้ำแข็งมีขนาดเล็ก และมีพื้นที่ผิวของน้ำแข็งมากจากการเกิด ice nucleation มากกว่า crystal growth ซึ่งจะส่งผลให้เวลาในการทำให้ผลิตภัณฑ์แห้งยาว เนื่องจากการไหลของไอน้ำมีแรงต้านทานสูงเพราะโครงสร้างของผลึกน้ำแข็งมีขนาดเล็ก และส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพได้น้อยเนื่องจากเกิดการแยกวัตภาคหรือน้ำแข็งขนาดเล็กทำให้โครงสร้างโปรตีนเสียหายได้น้อยกว่า ดังนั้นอัตราการแช่แข็งปานกลางที่ 1.0 องศาเซลเซียสต่อนาทีน่าจะมีความเหมาะสม เพราะลดการเกิดการแยกวัตภาคและทำให้โครงสร้างผลึกน้ำแข็งไม่เล็กจนเกินไป นอกจากนี้ยังทำให้โครงสร้างน้ำแข็งในแต่ละบรรจุภัณฑ์มีความใกล้เคียงกันด้วย [6]

1.3 การแช่แข็งผลิตภัณฑ์อย่างสมบูรณ์ของน้ำและตัวทำละลายที่ไม่ตกผลึก

หลังจากขั้นตอนการแช่แข็งแล้ว ผลิตภัณฑ์จะต้องอยู่ในสถานะที่เป็นของแข็งอย่างสมบูรณ์ ซึ่งอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ที่ตัวถูกละลายสามารถตกผลึกได้นั้นจะใช้อุณหภูมิต่ำกว่า eutectic temperature : T_{eu} หรือหากผลิตภัณฑ์ที่ตัวถูกละลายไม่สามารถตกผลึกได้จะใช้อุณหภูมิต่ำกว่า glass transition of maximally freeze concentrated solution : T_g' ซึ่งเป็นค่า glass transition temperature : T_g ของสารละลายที่ถูกแช่แข็งจนแข็งมากที่สุด ไม่ใช่ค่า T_g ของของแข็งชนิดนั้น [6, 7] เช่น น้ำตาลซูโครสของแข็งรูปผลึกมีค่าจุดหลอมเหลวที่ 186 องศาเซลเซียส ของแข็งรูปอสัณฐาณมีค่า T_g ที่ 60 องศาเซลเซียส แต่ในรูปสารละลายน้ำตาลซูโครสจะไม่ตกผลึก จะอยู่ในรูปของแข็งอสัณฐานจนกระทั่งแข็งตัวมากที่สุดจะมีค่า T_g' เท่ากับ -32 องศาเซลเซียส ดังนั้นการแช่แข็งเพื่อที่จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลซูโครสแข็งตัวจะต้องใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าค่า T_g' ที่ -32 องศาเซลเซียส (ไม่ใช่ T_g ที่ 60 องศาเซลเซียส) ซึ่งโดยทั่วไปการทำฟรีซดรายจะตั้งอุณภูมิการแช่แข็งที่ -40 องศาเซลเซียส หรือหากเครื่องมือบางรุ่นสามารถลดอุณหภูมิไปได้ถึง -50 องศาเซลเซียส จะใช้อุณหภูมิที่ลงไปถึงได้เพื่อให้สารละลายแข็งตัวได้สมบูรณ์และรวดเร็ว หากค่า T_g' หรือ T_{eu} สูงกว่า -38 องศาเซลเซียส ซึ่งหลังจากแช่แข็งจนถึงอุณหภูมิสุดท้ายแล้วจะต้องแช่แข็งต่ออีกระยะเวลาหนึ่ง เช่น ประมาณ 10 ชั่วโมง เพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์เป็นน้ำแข็งอย่างสมบูรณ์ หากผลิตภัณฑ์มีปริมาตรบรรจุมากก็จะใช้เวลานาน โดยทั่วไปแล้วจะบรรจุผลิตภัณฑ์สูงไม่เกิน 2 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการเกิดแรงต้านทานการไหลของไอน้ำ ซึ่งจะช่วยลดระยะเวลาในการทำแห้งขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ [8, 9]

ในทางปฏิบัติส่วนใหญ่ตัวถูกละลายไม่สามารถตกผลึกได้ แต่จะเกิดของแข็งรูปอสัณฐาน ซึ่งกรณีดังกล่าวจะไม่มี eutectic temperature หรือ T_{eu} เหมือนที่อธิบายข้างต้น แต่จะมี collapse temperature : T_c ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงสุดของผลิตภัณฑ์ที่ยังคงสภาพลักษณะโครงสร้างจุลภาคเพื่อให้เกิดการแช่แข็งและทำให้แห้งได้ [9] กรณีของแข็งที่เกิด eutectic composition ได้ T_{eu} มีความสำคัญในการแช่แข็งและทำให้แห้ง เนื่องจากอุณหภูมินี้คืออุณหภูมิสูงสุดของผลิตภัณฑ์ที่ยอมให้ได้ในระหว่างการทำแห้งขั้นปฐมภูมิ ถ้าอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์สูงกว่าอุณหภูมิ T_{eu} ในขณะที่ยังมีผลึกน้ำแข็งอยู่ การทำให้แห้งจะเกิดจากการเปลี่ยนสถานะของเหลว

เป็นไอน้ำ แทนที่จะเป็นการเปลี่ยนแปลงจากสถานะของแข็งเป็นไอน้ำ ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างจุลภาคที่ไม่ต้องการคือโครงสร้างยุบตัวลง (collapse) อย่างไรก็ตาม eutectic จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อตัวถูกละลายสามารถตกผลึกได้เท่านั้น แต่ส่วนใหญ่ตัวถูกละลายจะไม่ตกผลึกในระหว่างการแช่แข็งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างออกไป

สารละลายที่เกิดของแข็งรูปอสัณฐานในระหว่างการแช่แข็งจะเป็นส่วนผสมของน้ำแข็งกับตัวถูกละลายที่เข้มข้น (freeze concentrated) หรือตัวถูกละลายที่อยู่ในรูปของแข็งอสัณฐาน ของแข็งรูปอสัณฐานนี้จะต้องมีความแข็งแรงเพียงพอที่จะรักษาโครงสร้างจุลภาคไว้ได้ภายหลังจากน้ำแข็งระเหิดออกไป ณ อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิที่เกิด T_g' จะมีความหนืดสูงเพียงพอที่จะไม่ทำให้เกิดการไหลของมวลสาร (glassy state) แต่ ณ อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิที่เกิด T_g' ตัวถูกละลายจะไหลได้ (rubbery state) เมื่อน้ำแข็งระเหิดออกไป ทำให้ผลิตภัณฑ์ยุบตัวลง [7] อุณหภูมิที่เกิด T_g ของสารละลายที่แข็งตัวมากที่สุด หรือ T_g' มีความสำคัญสำหรับตัวถูกละลายรูปอสัณฐาน ในลักษณะเดียวกับที่อุณหภูมิ T_{eu} มีความสำคัญสำหรับตัวถูกละลายที่เป็นของแข็งรูปผลึก ถ้าอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์สูงเกินอุณหภูมิที่เกิด T_g' ผลิตภัณฑ์จะเกิดการยุบตัวลง ดังนั้นจึงมักเรียกอุณหภูมิที่เกิด T_g' นี้ว่า collapse temperature หรือ T_c [10]

1.4 เทคนิคการให้ความร้อน (annealing) เพื่อปรับโครงสร้าง หรือเร่งการตกผลึก

annealing หรือเทคนิคการให้ความร้อน (thermal treatment) เป็นกระบวนการปรับโครงสร้างของผลึกน้ำแข็งให้มีขนาดใหญ่ขึ้น และมีความสม่ำเสมอ โดยการแช่แข็งจนผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิถึงค่าที่ตั้งไว้ แล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงว่า T_g' ประมาณ 10-20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงลดอุณหภูมิถึงค่าที่ตั้งไว้อีกครั้ง ซึ่งการทำ annealing จะช่วยลดความต้านทานการไหลของไอน้ำ และส่งผลให้เวลาในการทำแห้งขั้นปฐมภูมิสั้นลง [11, 12]

ขณะให้ความร้อนสารหลายชนิดไม่สามารถตกผลึกได้เมื่อแช่แข็ง การเกิด supercooling และการแช่แข็งอย่างรวดเร็วทำให้ตัวถูกละลายกลายเป็นของแข็งรูปอสัณฐานที่ไม่คงตัว (metastable amorphous solute) ถ้าให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิที่เกิด glass transition แต่ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวจะทำให้ตัวถูกละลายตกผลึก Gatlin และ DeLuca [12] พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ หรือให้ความร้อนอย่างช้า ๆ แก่สารละลายของยา cefazolin sodium, nafcillin sodium และ mannitol ที่แช่แข็งแล้วจะทำให้ตัวยาเปลี่ยนมาอยู่ในรูปผลึกได้ จึงพัฒนาเทคนิคการให้ความร้อนนี้ขึ้นเพื่อเตรียมผลิตภัณฑ์ให้มีคุณสมบัติเป็นผลึก เทคนิคนี้เริ่มต้นด้วยการลดอุณหภูมิของสารละลายไปที่อุณหภูมิต่ำ ให้ความร้อนจนสูงกว่าอุณหภูมิที่ตัวยาตกผลึกเล็กน้อย และรักษาอุณหภูมิให้คงที่ที่จุดนี้เป็นเวลา 15 นาที ลดอุณหภูมิลงอีกครั้งแล้วจึงทำให้แห้งที่อุณหภูมิที่กำหนดไว้

การตกผลึกของตัวยาในระหว่างการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปผลึกซึ่งมีความคงตัวสูงกว่ายาที่อยู่ในรูปอสัณฐาน [13, 14] นอกจากนั้นระยะเวลาในการทำให้แห้งจะลดลงอย่างมาก ถ้าตัวยาเกิดการตกผลึกในระหว่างการแช่แข็ง MacKenzie [15] รายงานว่า ถ้า inositol ตกผลึกจะสามารถทำให้แห้งที่อุณหภูมิสูงถึง -2 องศาเซลเซียส แต่ถ้า inositol ไม่ตกผลึกจะไม่สามารถทำให้ inositol แห้งได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า -27 องศาเซลเซียส

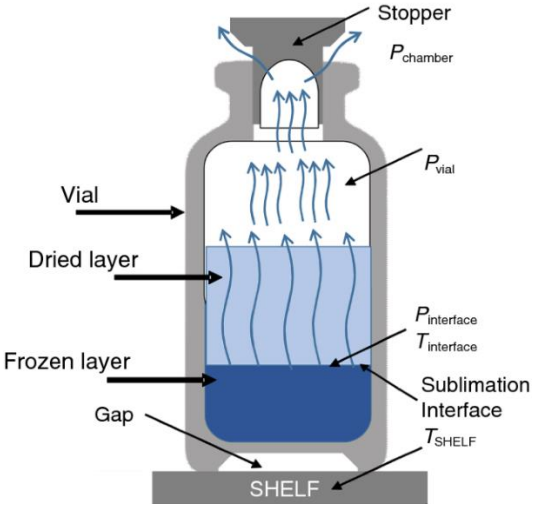
ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมโดยกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายควรมีลักษณะภายนอกที่สวยงาม มีโครงสร้างที่ไม่ยุบตัว เนื้อของผงยาซึ่งมักนิยมเรียกว่า freeze-dried cake หรือเรียกสั้น ๆ ว่า cake นั้น ควรมีปริมาตรเท่ากับปริมาตรของสารละลายตั้งต้น เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะดังกล่าวจึงต้องรักษาโครงสร้างจุลภาคที่เกิดขึ้นในระหว่างการแช่แข็งไว้ตลอดในช่วงที่เกิดการระเหิดของน้ำแข็ง และตัวทำละลายที่เป็นอสัณฐาน

สารละลายที่เกิดการตกผลึกในระหว่างการแช่แข็งจะให้สารที่เป็นส่วนผสมของ eutectic ice และผลึกตัวถูกละลายเมื่อน้ำแข็งระเหิดออกไปผลึกตัวถูกละลายที่ประกอบด้วยน้ำเพียงเล็กน้อยจะเหลืออยู่

2. การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (primary drying)

การทำให้แห้งขั้นปฐมภูมิเป็นขั้นตอนที่กำจัดน้ำแข็งอิสระ (free ice) คือน้ำแข็งที่ไม่ได้ถูกดูดซับไว้โดยวัตถุหรือผลิตภัณฑ์ที่ต้องการทำให้แห้ง น้ำแข็งอิสระถูกระเหิดกลายเป็นไอ โดยแรงขับดันที่ทำให้เกิดการระเหิดคือความแตกต่างระหว่างแรงดันไอของน้ำแข็งที่แนวการเกิดระเหิด (sublimation front) กับแรงดันของไอน้ำในตู้แช่แข็งและทำให้แห้ง (pressure chamber) เนื่องจากแรงขับดันให้เกิดการระเหิดเป็นความแตกต่างของแรงดันไอน้ำในระบบ ไม่ใช่แรงดันรวมของระบบ จึงมักเข้าใจผิดว่า การแช่แข็งและทำให้แห้งสามารถเกิดขึ้นได้ภายใต้สุญญากาศเท่านั้น ที่จริงแล้วการแช่แข็งและทำให้แห้งที่ความดันบรรยากาศก็สามารถเกิดขึ้นได้โดยการแพร่ของโมเลกุลน้ำจากความแตกต่างของความดันอากาศ (air pressure gradient) ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นช้า ๆ กระบวนการแช่แข็งและทำให้แห้งในทางอุตสาหกรรมจะใช้ปั๊มสุญญากาศดูดอากาศทำให้ความดันรวมลดต่ำกว่าความดันไอของน้ำแข็งในผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างเช่น ความดันไอของน้ำแข็งที่อุณหภูมิ -35 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.168 มิลลิเมตรปรอท การระเหิดโดยการไหลของไอน้ำจะเกิดขึ้นได้เมื่อลดความดันของระบบให้ต่ำกว่า 0.168 มิลลิเมตรปรอท [16, 17]

การทำแห้งขั้นปฐมภูมิเป็นขั้นตอนที่ใช้เวลานานที่สุด ดังนั้นการปรับกระบวนการทำแห้งในขั้นตอนนี้จะส่งผลต่อต้นทุนการผลิตอย่างชัดเจน หลักที่ใช้ในการปรับในช่วงการทำแห้งขั้นปฐมภูมิ คือ การเลือกอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม ทำให้ผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิถึงอุณหภูมิที่ต้องการอย่างรวดเร็ว และคงอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์คงที่ที่อุณหภูมิที่ต้องการตลอดช่วงการทำแห้งปฐมภูมิ ในระหว่างการทำให้แห้งขั้นปฐมภูมิจำเป็นต้องระมัดระวังอุณหภูมิหลัก 2 ประการ คือ อุณหภูมิการเกิด eutectic melting (melt back) : T_{eu} และอุณหภูมิการอ่อนตัว glass transition of maximally freeze concentrated solution : T_g' ซึ่งถ้าสูงเกินก็จะเกิดการยุบตัวลง ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่คงรูป และสูญเสียลักษณะที่พึงประสงค์ การเกิด T_{eu} เกี่ยวข้องกับการหลอมเหลวของ eutectic phase ทั่วตลอดเนื้อสารที่แช่แข็ง (frozen matrix) การเกิด T_{eu} ทำให้การแห้งเป็นการระเหยของน้ำจากสถานะของเหลวกลายเป็นไอ แทนที่จะเป็นการระเหิดของน้ำแข็ง ส่วนการยุบตัวลงเกิดขึ้น เมื่อโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ที่แห้งบางส่วนไม่แข็งแรงพอที่จะรับน้ำหนักตัวเองได้ จึงเกิดการ ยุบตัวลงของเนื้อสาร ทั้งนี้ T_{eu} เกิดขึ้นกับสารที่สามารถเกิด true eutectic mixture ได้ เช่น โซเดียมคลอไรด์ ส่วนการยุบตัวลงเกิดขึ้นกับสารที่เกิดของแข็งรูปอสัณฐานเมื่อแช่แข็ง เช่น น้ำตาลซูโครส [18, 19]



รูปที่ 3 แสดงลักษณะไวแอล (vial) และจุกยางที่ใช้ในกระบวนการการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย [20]

รูปที่ 3 แสดงลักษณะของภาชนะบรรจุชนิดไวแอล (vial) ที่ใช้ในกระบวนการการทำให้แห้งด้วยวิธีฟรีซดราย ซึ่งจุกยางที่ใช้จะมีลักษณะพิเศษ คือ มีส่วนโค้งที่ยกสูงด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้ง 2 ด้านเพื่อที่จะสามารถปิดจุกยางลงเพียงครึ่งเดียว (semi-stoppered) ให้มีช่องให้ไอน้ำสามารถออกได้ และเมื่อผลิตภัณฑ์ผ่านการทำแห้งทั้งขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิเรียบร้อยแล้ว สามารถกดฝาปิดได้ภายใต้สุญญากาศโดยไม่ต้องนำไวแอลที่ผ่านกระบวนการทำแห้งเรียบร้อยแล้วออกมาปิดฝาด้านนอกอีกครั้ง

อุณหภูมิผลิตภัณฑ์ในระหว่างการทำแห้งขั้นปฐมภูมิควรจะมีค่าต่ำกว่า collapse temperature : T_c เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีคุณลักษณะภายนอกที่สวยงาม โดยช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่านี้ เรียกว่า temperature safety margin เป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่า อุณหภูมิผลิตภัณฑ์สูงจะทำให้กระบวนการทำแห้งเร็วขึ้น การเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียสจะช่วยลดเวลาการทำแห้งขั้นปฐมภูมิประมาณร้อยละ 13 [21] ดังนั้นกระบวนการทำแห้งจะปรับเครื่องที่อุณหภูมิผลิตภัณฑ์สูงที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ [22] หรือตั้งค่าอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ที่ต้องการใกล้กับ T_c ที่สุดเท่าที่จะทำได้ แต่ยิ่งใกล้ก็จะยิ่งเสี่ยงกับการที่ผลิตภัณฑ์จะยุบตัว ดังนั้นจะต้องมี temperature safety margin ประมาณ 5 องศาเซลเซียส แต่หากระยะเวลาการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายยาวนานอาจปรับลงเหลือ 2 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ไม่ควรสูงกว่า -15 องศาเซลเซียส เพราะอาจทำให้การถ่ายเทความร้อนหรือมวลสารเกิดขึ้นเกินกว่าที่ความสามารถของเครื่องจะรับได้ ซึ่งจะส่งผลให้การควบคุมความดันและอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์เสียไป

การทำแห้งขั้นปฐมภูมิจะทำที่ความดันต่ำเพื่อช่วยเพิ่มอัตราการระเหิดของน้ำแข็ง ความดันห้องทำแห้ง (chamber pressure: P_c) มีผลต่อทั้งการถ่ายเทความร้อนและมวลสาร และเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการออกแบบกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย ความดันห้องทำแห้งควรมีค่าต่ำกว่าความดันไอของน้ำแข็งที่อุณหภูมิผลิตภัณฑ์เป้าหมายเพื่อให้อัตราการระเหิดสูง ยิ่งความดันห้องทำแห้งมีค่าต่ำอัตราการระเหิดก็ยิ่งสูง แต่อย่างไรก็ดี ความดันห้องทำแห้งที่ต่ำเกินไปก็ทำให้เกิดปัญหา เช่น ผลิตภัณฑ์มีการถ่ายเทความร้อนที่มีความแตกต่างกันมาก ทำให้อุณหภูมิผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกันมากในแต่ละขวด [23] โดยทั่วไปแล้วจะตั้งค่าความดันห้องทำแห้ง ที่ 50-200 mTorr มีรายงานว่า ความดันห้องทำแห้งปานกลาง (100-150 mTorr) จะช่วยให้การถ่ายเทความร้อนมีความสม่ำเสมอ [23] ดังนั้นขั้นตอนแรกของการพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์พรีซดรายจะต้องหาอุณหภูมิ T_{eu} ของระบบที่สามารถเกิด eutectic mixture ได้ หรือหาค่า T_c ของระบบเป็นของแข็งรูปอสัณฐาน

เมื่อแช่แข็งโดย thermal analysis method [24] ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด และวิธีการอื่น ๆ เช่น การวัดความต้านทานไฟฟ้า [25, 26] และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารขณะแช่แข็งและทำให้แห้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ [27] แล้วนำผลการทดลองที่ได้มาใช้กับผลิตภัณฑ์จริงในเครื่องฟรีซดรายระดับอุตสาหกรรม โดยการใช้หัววัดอุณหภูมิใส่ลงในขวดผลิตภัณฑ์เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ตลอดกระบวนการ

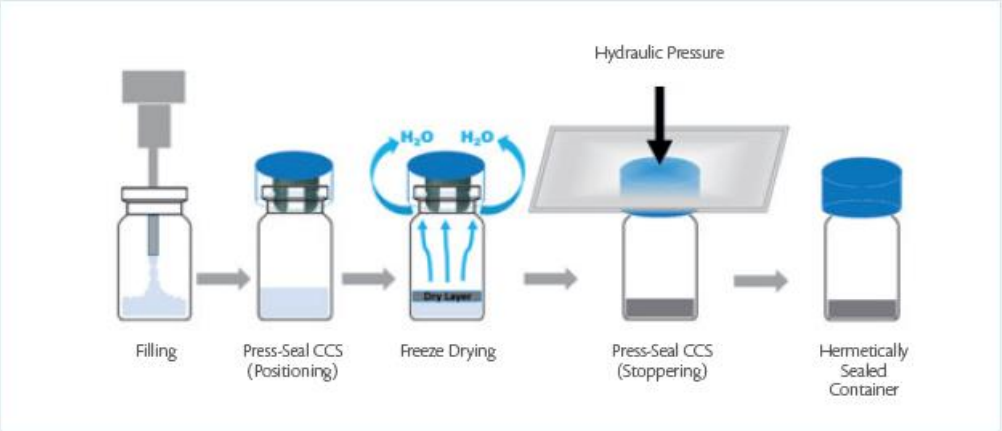
3. การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (secondary drying)

การทำแห้งขั้นทุติยภูมิเป็นการกำจัดน้ำที่ดูดซับอยู่บนพื้นผิวผลิตภัณฑ์ (bound water) ออกไป น้ำที่ดูดซับนี้เป็นน้ำซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงเป็นน้ำแข็งในระหว่างการแช่แข็ง จึงไม่สามารถระเหิดกลายเป็นไอในช่วงการทำแห้งขั้นปฐมภูมิได้ น้ำที่ดูดซับนี้อาจทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมสลายได้ โดยทั่วไปแล้วหลังจากจบการทำแห้งขั้นปฐมภูมิผลิตภัณฑ์จะยังมีน้ำหลงเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 5-10 ขึ้นอยู่กับสูตรตำรับ จึงจำเป็นต้องกำจัดออกให้มีปริมาณความชื้นตกค้างไม่เกินร้อยละ 1 ในการกำจัดน้ำที่ถูกดูดซับออกไปนั้น ควรเพิ่มอุณหภูมิและลดความดันลง ควรระมัดระวังเรื่องการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงการทำแห้งขั้นทุติยภูมิในยาที่ไม่ทนต่อความร้อน ในการทำแห้งขั้นทุติยภูมินี้ อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์จะเพิ่มสูงขึ้นจนเท่ากับอุณหภูมิของ shelf [28, 29]

เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการทำแห้งขั้นปฐมภูมิและน้ำแข็งระเหิดออกไปหมดแล้ว จึงเพิ่มอุณหภูมิเพื่อเข้าสู่การทำแห้งขั้นทุติยภูมิเพื่อกำจัดน้ำที่ไม่แข็งตัว (unfrozen water) หากเพิ่มอุณหภูมิก่อนที่น้ำแข็งจะระเหิดหมด จะเสี่ยงต่อการเกิดการยุบตัว หรือเกิดการรละลายของน้ำแข็งที่เหลืออยู่ ตัวบ่งชี้ถึงการสิ้นสุดขั้นตอนการทำแห้งขั้นปฐมภูมิจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการควบคุมการผลิต ส่วนมากจะใช้วิธีดูการตอบสนองของอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ เช่น เมื่ออุณหภูมิของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นมาเท่ากับอุณหภูมิของ shelf ซึ่งความถูกต้องของวิธีนี้ขึ้นกับการวางตำแหน่งของตัววัดอุณหภูมิ และตำแหน่งของตัวอย่างที่วัดอุณหภูมิ ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดการยุบตัว จึงยังไม่เพิ่มอุณหภูมิของ shelf ทันทีหลังจากที่อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ขึ้นถึงอุณหภูมิของตู้ แต่จะยืดเวลาการเพิ่มอุณหภูมิของตู้ออกไปหลายชั่วโมง เพื่อให้แน่ใจว่า ไม่มีน้ำแข็งหลงเหลืออยู่ ซึ่งในช่วงนี้จะต้องเพิ่มอุณหภูมิสูงกว่าการทำแห้งขั้นปฐมภูมิเพื่อให้น้ำที่ค้างอยู่ถูกกำจัดออกไปได้ อัตราการเพิ่มอุณหภูมิในการทำแห้งทุติยภูมิควรจะมีการเพิ่มขึ้นช้า ๆ เพราะหากอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว อาจส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างแบบอสัณฐานยุบตัวได้ โดยเฉพาะในช่วงแรกของการทำแห้งขั้นทุติยภูมิซึ่งยังมีปริมาณความชื้นหลงเหลืออยู่ค่อนข้างสูง และค่า Tg ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นอัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่ 0.1-0.15 องศาเซลเซียสต่อนาที ในผลิตภัณฑ์แบบอสัณฐานน่าจะมีความเหมาะสมและปลอดภัย

ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างแบบผลึกปกติแล้วไม่ค่อยยุบตัวในช่วงการทำแห้งทุติยภูมิ สามารถใช้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิที่สูงกว่าได้ เช่น 0.3-0.4 องศาเซลเซียสต่อนาที อัตราการกำจัดน้ำในช่วงนี้ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิผลิตภัณฑ์ ไม่ได้ขึ้นอยู่กับความดันของห้องทำแห้ง ดังนั้นความดันห้องทำแห้งสามารถใช้เท่ากับการทำแห้งปฐมภูมิได้ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึงอุณหภูมิสุดท้ายในการทำแห้งขั้นทุติยภูมิแล้ว ผลิตภัณฑ์ควรจะคงอยู่ที่อุณหภูมินั้นในระยะเวลาที่เพียงพอที่จะกำจัดน้ำได้ตามต้องการ การให้อุณหภูมิสูงระยะเวลาสั้นจะให้ผลดีกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำแต่ระยะเวลายาว เช่น ใช้ระยะเวลาในการทำแห้ง 3-6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิสุดท้ายอยู่ในช่วง 40-50 องศาเซลเซียสโดยปรับตามสูตรตำรับ ระยะเวลาในการทำแห้งขั้นทุติยภูมิหาได้จากการตรวจวัดความชื้นที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาต่าง ๆ ระหว่างการทำแห้งขั้นทุติยภูมิ โดยการเก็บตัวอย่างออกมาโดยไม่รบกวนกระบวนการทำแห้ง เช่น การใช้ sample thief และนำมาตรวจหาปริมาณความชื้นที่หลงเหลืออยู่ด้วยวิธี Karl Fischer titration, thermal gravimetric analysis (TGA) หรือ Infrared spectroscopy [16, 17] แล้วนำมาวิเคราะห์หาจุดที่ค่าความชื้นที่หลงเหลือต่ำกว่าเกณฑ์ที่ตั้งไว้เพื่อใช้เป็นจุดยุติการทำแห้งทุติยภูมิ จากข้อมูลในการปรับกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายในแต่ละขั้นตอนที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่งมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงที่แตกต่างกัน

การศึกษาผลของปริมาณความชื้นที่ตกค้างต่อความคงตัวของ freeze-dried haemoglobin ที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0.2 โมลาร์เป็นสารช่วยในตำรับฟรีซดราย โดยติดตามการเสื่อมสลายไปเป็น methaemoglobin ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 4 ปี [30] พบว่า ที่ระดับความชื้นตกค้างต่ำกว่าร้อยละ 2 ตรวจพบปริมาณ methaemoglobin ในช่วงร้อยละ 30 แต่เมื่อปริมาณความชื้นตกค้างสูงมากกว่าร้อยละ 8 พบปริมาณ methaemoglobin สูงกว่าร้อยละ 60 การพิจารณาว่า ปริมาณความชื้นตกค้างเท่าไรจึงจะเหมาะสมจึงขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด โดยสารที่แห้งแล้วมีคุณสมบัติเป็นของแข็งอสัณฐานจะมีความชื้นตกค้างมากกว่าสารที่เป็นของแข็งรูปผลึก โดยทั่วไปในกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายจะกำหนดค่าความชื้นไว้ประมาณร้อยละ 1-2 หลังจากนั้นจึงเข้าขั้นตอนการปิดจุกยางภายในเครื่องทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายเพื่อป้องกันการสัมผัสกับอากาศภายนอก เป็นส่วนหนึ่งของเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) ในกระบวนการผลิตยาปราศจากเชื้อ และป้องกันการดูดซับความชื้นกลับเข้าสู่ผงยาอีก ดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอน 1) การบรรจุสารละลายที่ผ่านการกรองปราศจากเชื้อแล้ว (filling) 2) การปิดจุกยางแบบครึ่งเดียว เพื่อให้มีช่องว่างสำหรับการระเหิดของตัวทำละลายได้ (positioning) 3) การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย (freeze drying) 4) การปิดจุกยางให้สนิทภายในตู้ฟรีซดราย (stoppering) ซึ่งในขั้นตอนนี้หากไม่ต้องการให้ภายในไวแอลเป็นสุญญากาศก็สามารถปล่อยอากาศที่ผ่านการกรองกำจัดเชื้อแล้วเข้าไปภายในตู้ได้ หรือสามารถปล่อยก๊าซเฉื่อยที่ผ่านการกรองกำจัดเชื้อเข้าไปทดแทนก็ได้เช่นกัน และขั้นตอนสุดท้าย 5) การปิดสนิทด้วยฝาอลูมิเนียม (hermetically sealed)



รูปที่ 4 แสดงกระบวนการการทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

(อ้างอิงจาก: https://ima.it/pharma/paper/impact-of-container-closure-system-on-freeze-drying-process/

สรุป

การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายเป็นวิธีการทำแห้งภายใต้อุณหภูมิและความดันต่ำที่นิยมใช้กับเภสัชภัณฑ์ สารเคมี ชีววัตถุ เช่น โปรตีน เปปไทด์ เอนไซม์ แอนติเจน แอนติบอดี และสารเคมีที่ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะความพรุนสูง มีพื้นที่ผิวมาก ง่ายต่อการละลายกลับมาเป็นสารละลายก่อนใช้ สามารถปรับเข้ากับเทคนิคปลอดเชื้อได้ แต่ก็เป็นกระบวนการที่มีต้นทุนทางด้านพลังงานและเวลาสูงกว่าวิธีการทำแห้งรูปแบบอื่น การทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดรายประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) การแช่แข็ง (freezing) 2) การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (primary drying) และ 3) การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (secondary drying) ปัจจัยหลักที่ต้องคำนึงถึงคือ อุณหภูมิและความดัน โดยเฉพาะอุณหภูมิที่มีการเปลี่ยนสถานะของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ T_{eu} Tg’ และ T_c นอกจากนี้ ในแต่ละขั้นตอนของการ

ทำแห้งด้วยวิธีฟรีซดราย ก็มีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิผลิตภัณฑ์ อัตราการลดหรือเพิ่มอุณหภูมิ การให้ความร้อน ความดันตู้ทำแห้ง ระยะเวลาที่ใช้ในการทำแห้งขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ ซึ่งจะต้องมีการปรับให้เหมาะสมของแต่ละผลิตภัณฑ์ ซึ่งการปรับปัจจัยในขั้นตอนหนึ่งก็จะมีผลต่อการทำแห้งในขั้นตอนต่อไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Adams G. The Principles of Freeze-Drying. In: Day J.G., Stacey G.N. (eds) Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Methods in Molecular Biology™, vol 368. Humana Press. 2007,15-38. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2_2
2. Murase N, Franks F. Salt precipitation during the freeze concentration of phosphate buffer solutions. Biophys Chem. 1989;34:293–300.
3. Shalaev E, Johnson-Elton T, Change L, Pikal MJ. Thermophysical properties of pharmaceutically compatible buffers at sub-zero temperatures: implications for freeze drying. Pharm Res. 2002;19:195–211.
4. Chang BS, Kendrick BS, Carpenter JF. Surface induced denaturation of proteins during freezing and its inhibition by surfactants. J Pharm Sci. 1996;85:1325–1330.
5. Heller MC, Carpenter JF, Randolph TW. Protein formulation and lyophilization cycle design: prevention of damage due to freeze-concentration induced phase separation. Biotechnol Bioeng. 1999;63:166–174.
6. Tang XC, Pikal MJ. Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. Pharm Res. 2004;21:191–200.
7. Nail SL, Gatlin LA. Freeze drying: Principles and practice. In: Avis KE, Lieberman HA, Lachman L, editors. Pharmaceutical dosage forms: Parenteral Medications, vol 2. 2nd ed, revised and expanded. New York: Marcel Dekker, 1993:163-233.
8. Hancock BC, Zografi G. The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids. Pharm Res. 1994;11(4):471-7.
9. Pikal MJ, Shah S. The collapse temperature in freeze drying: Dependence on measurement methodology and rate of water removal from the glassy phase. Int J Pharm. 1990;62:165-186.
10. Pikal MJ. Shah S, Senior D, Lang JE. Physical chemistry of freeze-drying: measurement of sublimation rates for frozen aqueous solutions by a microbalance technique. J Pharm Sci. 1983;72:635–650.
11. Searles JA, Carpenter JF, Randolph TW. Annealing to optimize the Primary drying rate, reduce freezing-induced drying rate heterogeneity, and determine T(g)' in pharmaceutical lyophilization. J Pharm Sci. 2001;90:872–887.
12. Gatlin L, DeLuca PP. A study of the phase transition in frozen antibiotic solutions by differential scanning calorimetry. J Parenter Drug Assoc. 1980;34(5):398-407.
13. Pikal MJ, Lukas AL, Lang JE. Thermal decomposition of amorphous β-lactam antibacterials. J Pharm Sci. 1977;66(9):1312-1316.
14. Pikal MJ, Lukas AL, Lang JE, Gaines K. Quantitative crystallinity determinations of β-lactam antibiotics by solution calorimetry: Correlations with stability. J Pharm Sci. 1978;67(6):767-772.
15. Mackenzie AP. The physico-chemical basis for the freeze-drying process. Develop Biol Standard. 1977;36:51-67.
16. Roy ML, Pikal MJ. Process control in freeze drying: determination of the end point of sublimation drying by an electronic moisture sensor. J Parenter Sci Technol. 1989;43:60–66.

17. Nail SL, Johnson W. Methodology for in-process determination of residual water in freeze-dried products. Dev Biol Stand. 1992;74:137–151.
18. Jennings TA. Discussion of primary drying during lyophilization. J Parenter Sci Technol. 1988;42 (4):118-121.
19. Roy ML, Pikal MJ. Process control in freeze drying: Determination of the end point of sublimation drying by and electronic moisture sensor. J Parenter Sci Technol. 1989;43(2):60-66.
20. Muneeshwaran M, Srinivasan G, RajaB., Chi-Chuan Wang. Investigation of heat and mass transfer behavior of mannitol during vial freeze-drying. J Therm Anal Calorim. 2022;147,2393–2404. https://doi.org/10.1007/s10973-021-10635-3.
21. Pikal MJ. Freeze-drying of proteins. Part I: process design. Bio Pharm. 1990;3:18–28.
22. Pikal MJ. Freeze-drying of proteins part II: formulation selection. Bio Pharm. 1990;3:26–30.
23. Pikal MJ, Roy ML, Shah S. Mass and heat transfer in vial freeze-drying of pharmaceuticals: role of the vial. J Pharm Sci. 1984;73:1224–1237.
24. Franks F. Improved freeze-drying: An analysis of the basic scientific principles. Process Biochem 1989;24:iii-vii.
25. Jennings TA. The use of resistivity probe design on the measurement of the freezing temperature of lyophilized formulations. J Parenter Drug Assoc.1980;34:109-126.
26. Nail SL, Gatlin LA. Advances in control production freeze dryers. J Parenter Sci Technol.1985;39:16-27.
27. Jennings TA. Effect of pressure on the sublimation rate of ice. J Parenter Sci Technol. 1986;40:95-97.
28. Pikal MJ, Shah S. Intravial distribution of moisture during the secondary drying stage of freeze-drying. PDA J Pharm Sci Technol. 1997;51(1):17-24.
29. Pikal MJ, Shah S, Roy ML, Putman R. The secondary drying stage of freeze-drying: Drying kinetics as a function of temperature and chamber pressure. Int J Pharm. 1990;60:203-217.
30. Pristoupil TI, Kramlova M, Fortova H, Ulrych S. Haemoglobin lyophilized with sucrose: the effect of residual moisture on storage. Haematologia 1985;18:45-52.