

Obtención de Fibras y Gránulos de Carbono para la Inmovilización de Enzimas

Martha L. Malagón M.*, Yolanda Rico R.** , Helda A. de López**, Luis Alfonso Caicedo M.***

RESUMEN

Se prepararon fibras y gránulos de carbono a partir de brea de carbón. Previa filtración, estabilización a 330°C y atmósfera de nitrógeno. Las fibras se obtuvieron por extrusión y los gránulos por inyección sobre agua. La inmovilización de lactasa por adsorción mostró que los gránulos de carbono fueron el soporte más adecuado, teniendo como criterios la menor caída de presión y la mayor capacidad de inmovilización. Los gránulos de carbono fueron caracterizados obteniéndose una densidad de partícula de 2,407 g/cm³, una porosidad de 81,69% y un tamaño de partícula de 3 mm.

ABSTRACT

Fibers and pellets of carbon were prepared from coal tar. The tar was filtrated and stabilized in a nitrogen atmosphere at 330°C. The fibers were prepared by extrusion and pellets by injection on water. Lactase was immobilized by adsorption process. Pellets were better support than fibers, because produced lower pressure drop and upper enzyme retention. Pellets showed the following characteristics: density 2,407 g/cm³, porosity 81,69% and diameter 3 mm.

INTRODUCCIÓN

Las fibras de carbono son materiales carbonizados livianos, de alta resistencia mecánica, infusibles, inertes químicamente y biocompatibles. Por estas razones se utilizan en las industrias de construcción para reforzar concreto, en la fabricación de artículos deportivos, en medicina para implantes como remplazo de ligamentos, tendones, etc. [10].

Los procesos de obtención de las fibras de carbono a partir de los diferentes precursores tienen en común las siguientes etapas: pretratamiento, que es una serie de procesos que incluyen extracción, calentamiento para retirar partículas infusibles, incremento en el tamaño de las moléculas que constituyen la brea, remoción de la materia volátil y aumentar el punto de ablandamiento; se realizan con el fin de adecuar la materia prima para el siguiente proceso que es el hilado. Los hilos, que son de naturaleza termoplástica, pasan a ser infusibles en el proceso de estabilización que consiste en someterlos a un

medio oxidante, generalmente aire, a temperatura moderada, y que genera una serie de reacciones de polimerización oxidativa y creación de sitios activos por oxidación de carbonos alquílicos, que traen como consecuencia una estructura cíclica de mayor peso molecular e infusible. Después de estabilizada la fibra se carboniza para desarrollar sus propiedades finales. Si la temperatura de carbonización es menor de 1.700°C, se habla de fibras de carbono, mientras que si se superan los 2.500°C se llaman fibras grafitizadas [2,8,14].

La inmovilización de enzimas y microorganismos ha adquirido gran importancia a nivel biotecnológico, gracias a las ventajas que presenta respecto a las células y enzimas libres [19]. Dentro de los soportes presentados en la bibliografía se encuentran el vidrio poroso [17], los alginatos [15], el carbón activado [7], la alúmina [11], las cerámicas [18], y otros. Teniendo en cuenta que en Colombia existe brea de carbón, que es una de las materias primas más económicas para la obtención de fibras, es conveniente desarrollar la tecnología para la producción de estos materiales y encontrar nuevas aplicaciones, dentro de las cuales se propone la inmovilización de enzimas.

En el presente trabajo se adaptó la metodología existente para la obtención de fibras de carbono [3,12,13] y se desarrolló una tecnología para producir materiales carbonizados en forma de gránulos, con el fin de comparar su utilidad en la preparación de biocatalizadores en reactores empacados.

I. FIBRAS DE CARBONO

Las fibras de carbono se pueden clasificar de acuerdo con sus propiedades mecánicas en:

- Fibras GP: fibras de carbono de propósito general.
- Fibras HP: fibras de carbono de alta eficiencia, las cuales a su vez, se dividen en:

- HT: De alta resistencia a la tracción.
- HM: De alto módulo de Young
- HE: De alta elongación.

* Universidad de Nacional, Actualmente Universidad de la Salle, Bogotá, D.C.

** Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, D.C.

*** Profesor Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, D. C.

En el cuadro 1 se pueden apreciar algunos valores de propiedades de estas fibras.

Cuadro 1. Propiedades de los diferentes tipos de fibra de carbono

Tipo de fibra	Resistencia máxima a la tracción* (MPa)	Módulo de Young * (GPa)
GP	1.000	40
HT	2.500	200-250
HM	2.000-2.500	300
HE	4.000-6.000	200-250

*Resistencia máxima a la tracción del acero 0,8% de carbono laminado en caliente: 830 MPa, módulo de Young: 200 GPa.

II. GRÁNULOS DE CARBONO

Las partículas granuladas han sido utilizadas como soportes en catálisis química y bioquímica gracias a que proporcionan baja caída de presión, alta resistencia física y tamaño de partícula controlable [5,17]. Los materiales usados son generalmente carbón activado [5], alúmina [11], aglutinante [15] y otros más [17,18]. La elaboración de gránulos de carbono con propiedades físicas y químicas semejantes a las de las fibras de carbono no ha sido relacionada en la bibliografía consultada.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La brea de carbón, utilizada para este estudio de producción de fibra y gránulos de carbono, proviene en forma de bloques del complejo industrial Acerías Paz del Río. Se le determinó el punto de ablandamiento de acuerdo con la técnica desarrollada en el proyecto de materiales carbonáceos [2]. Se sometió a calentamiento un miligramo de brea de carbón en un fusiómetro y se observó en un estereoscopio a un aumento de 0,4 X hasta que los bordes se tornaron difusos. Esta temperatura se consideró como el punto de ablandamiento de la brea. Una muestra de 20 gramos de brea molida se filtró en caliente [12,13], pasándola por una malla de acero de 75 mm e inyectando una corriente de nitrógeno. El montaje del equipo

se presenta en la figura 1. Las condiciones de operación en esta etapa fueron las siguientes: velocidad de calentamiento de 1,5°C/min, temperatura de filtración de 100°C, presión manométrica de nitrógeno de 1 psi y velocidad de filtración de 2 g/min.

La muestra filtrada se sometió a un tratamiento térmico, triturándola previamente en mortero de hierro. Se colocó la muestra en el equipo para tratamiento térmico (véase figura 2), se inició el calentamiento a una velocidad de 1,0°C/min hasta una temperatura de 330°C y presión manométrica de nitrógeno de 0,5 psi. Al final del tratamiento, se dejó enfriar la brea hasta temperatura ambiente. Se suspendió el flujo de nitrógeno cuando la temperatura descendió a 50°C [12,13].

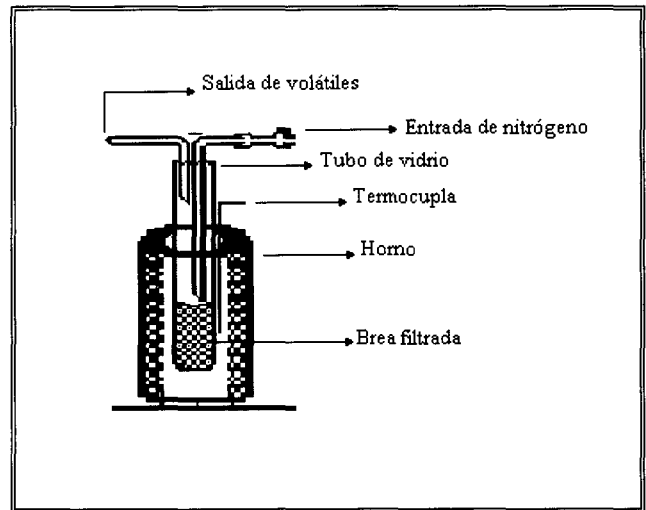


Figura 2. Montaje del equipo para tratamiento térmico.

Para el hilado se colocó la muestra en el portamuestras del equipo para hilar; se inyectó nitrógeno y se inició el calentamiento a una temperatura de 50°C por encima del punto de ablandamiento de la brea tratada térmicamente. La brea fundida cayó a través del orificio de 0,3 mm de diámetro formando un hilo, el cual se enrolló en el bobinador [12,13]. El montaje del equipo para el hilado se presenta en la figura 3.

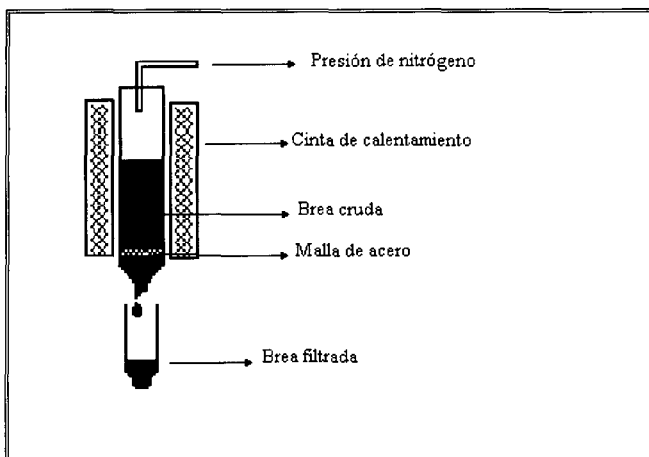


Figura 1. Montaje del equipo para filtración

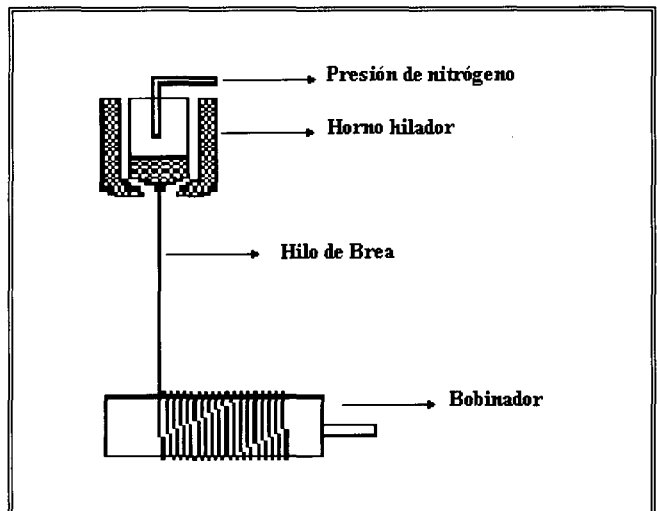


Figura 3. Montaje del equipo para hilado.

Las condiciones determinadas para un hilado continuo y uniforme fueron: velocidad de calentamiento de $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$, temperatura de hilado de 180°C , presión de nitrógeno de 4,0 psi, distancia del orificio de extrusión al bobinador de 20-21 cm y velocidad de hilado de 60 m/min.

Para el granulado se partió de la muestra tratada térmicamente. La temperatura necesaria para obtener esferas fue de 60°C por encima del punto de ablandamiento, y la presión fue intermitente con el fin de permitir que los gránulos se formaran. Éstos fueron recogidos en una probeta con agua, que permitió el enfriamiento de las esferas sin que se deformaran. El orificio utilizado en la boquilla fue de 0,5 mm de diámetro, mayor que el empleado en el hilado, con el fin de evitar que la brea se acumule en la boquilla y las esferas formadas sean de un diámetro muy grande. Con este procedimiento se obtuvieron esferas de 3 mm de diámetro.

Las condiciones de operación fueron: temperatura de granulado de 187°C y presión manométrica de nitrógeno de 1 psi.

Para estabilizar las fibras se enrollaron en dos varillas de vidrio, que se colocaron dentro del horno del equipo. Se inyectó aire y se inició el calentamiento. La temperatura fue controlada por medio de un microcontrolador (LFE Instruments Division modelo 2010), el cual se programó para un calentamiento escalonado con incrementos de temperatura de 20°C y tiempos para cada una de 1,5; 2,0; 2,5 y 3,0 horas respectivamente, a intervalos de temperatura de $130 - 190^{\circ}\text{C}$, $210 - 230^{\circ}\text{C}$, $250 - 270^{\circ}\text{C}$ y $310 - 330^{\circ}\text{C}$, respectivamente [12,13]. El equipo utilizado se muestra en la figura 4.

Las condiciones de operación en esta etapa fueron: velocidad de calentamiento de $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, tiempo de estabilización de 38 horas, flujo de aire de 2,45 mL/s y temperatura de estabilización de 330°C .

Los gránulos fueron estabilizados en el mismo equipo, colocándolos sobre papel aluminio de forma separada uno de otro con el fin de evitar que se aglomeraran. Los tiempos para cada escalón fueron 1,0; 1,5; 2,5 y 5,0 horas para las mismas temperaturas empleadas en la estabilización de los hilos breosos, con el fin de lograr la infusibilidad de los gránulos y llevarlos a carbonización. Las condiciones fueron las siguientes: velocidad de calentamiento de $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, tiempo de estabilización de 44 horas, flujo de aire de 2,45 mL/s y temperatura de estabilización de 330°C .

Los hilos y gránulos de brea se carbonizaron en atmósfera de nitrógeno; se empleó el mismo horno utilizado para la estabilización [12,13]. El montaje del equipo se muestra en la figura 5.

Las condiciones de operación en esta última etapa fueron las mismas tanto para fibras como para gránulos de carbono y son: velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, tiempo de

residencia de 1 hora, temperatura de carbonización de 800°C y flujo de nitrógeno de 2,45 mL/min.

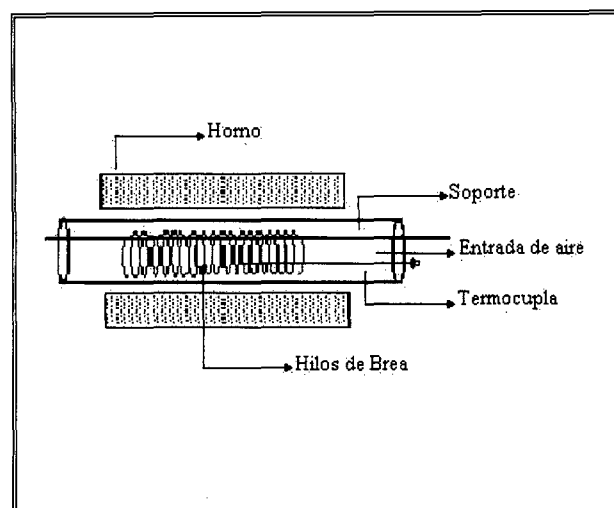


Figura 4. Montaje del equipo para estabilización.

Para corroborar las propiedades de las fibras y de los gránulos de carbono como agentes adsorbentes, se colocaron 100 mg de soporte en un baño termostataado con agitación, a una temperatura de 20°C y enzima lactasa comercial (Lactozym™), con una concentración de proteína de 64 mg/mL y una actividad enzimática inicial de 8180,65 U/mL. Se midió el contenido de proteína a diferente tiempos hasta llegar a un valor constante.

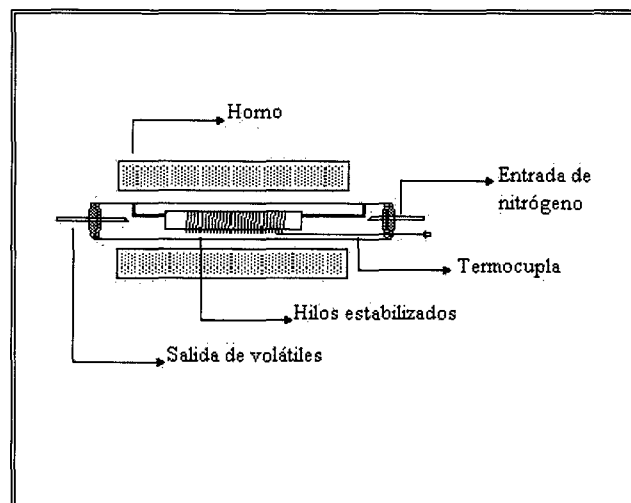


Figura 5. Montaje del equipo para carbonización.

Los gránulos de carbono fueron seleccionados como mejor soporte debido a que inmovilizaron una mayor cantidad de proteína, comparada con la obtenida en las fibras de carbono. Se determinó, en una muestra representativa, la densidad de partícula, la porosidad [1] y el tamaño de los gránulos.

IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los puntos de ablandamiento y rendimientos de la brea en las diferentes etapas del proceso para la obtención de fibras y gránulos de carbono se presentan en el cuadro 2. Una característica importante tanto para las fibras como para los

gránulos de carbono es la infusibilidad que adquiere el material durante el proceso de estabilización, en el cual se aumenta el punto de ablandamiento y la resistencia de la fibra. El comportamiento de oxidación de fibras ha sido estudiado con aire a diferentes temperaturas desde 550 a 860°C, y se ha observado una relación lineal entre el tamaño de la fibra y el tiempo de oxidación [20].

Cuadro 2. Rendimientos obtenidos en el procesamiento de fibras y gránulos de carbono

Etapa de proceso	Punto de ablandamiento (°C)	Rendimiento en cada etapa (%)	Rendimiento total (%)
Brea	68	-	100
Brea filtrada	68	83,55	83,55
Brea tratamiento térmico	132	80,06	66,89
Brea hilada o granulada	132 - 140	85,00	56,86
Fibras estabilizadas	Infusible	82,80	47,07
Gránulos estabilizados	Infusible	85,18	48,43
Fibras carbonizadas	Infusible	82,40	38,79
Gránulos carbonizados	Infusible	78,41	37,97

La estabilización tanto de las fibras como de los gránulos fue la etapa más crítica del proceso, la de mayor consumo de tiempo y en la que se requiere un control más preciso de la velocidad de calentamiento y la temperatura.

En la estabilización, los gránulos perdieron la forma esférica y se aplanaron por efecto de la temperatura al alcanzar el punto de ablandamiento. Es posible que se hubiera podido evitar este efecto calentando a una velocidad mucho más baja y con un tiempo de residencia mayor, pero el tiempo de estabilización hubiera sido muy largo, y no sería práctico por incrementar el costo total del proceso.

En cuanto a la caracterización física de los gránulos de carbono, se obtuvo una densidad de partícula de 2,407 g/cm³ y una porosidad de 81,89%, adecuada para la inmovilización de enzimas, como lo presenta Dalvie [6] en su trabajo realizado con glucosa-oxidasa inmovilizada por adsorción, en el cual se alcanzó un porcentaje de inmovilización del 45%. Se seleccionó un tamaño de partícula de 3 mm para los gránulos de carbono, que resulta adecuado para eliminar los efectos externos de transferencia de masa, sin caídas de presión excesivas como ha sido estudiado por Butt [4].

El tiempo para estabilizar los gránulos fue 14% mayor que para las fibras, y los tiempos de residencia en cada temperatura también se incrementaron. Durante la carbonización de los gránulos se observó que éstos se aproximaron a su forma esférica inicial.

El porcentaje de lactasa inmovilizada, en términos de proteína, sobre gránulos de carbono fue 10,40% de la inicial con gránulos de carbono y 2,67% en fibras de carbono.

CONCLUSIONES

Se produjeron gránulos de carbono infusibles, a partir de brea de carbón, con características que les permiten ser utilizados como soporte para la inmovilización de enzimas.

Se adaptó la tecnología existente para la producción de fibras de carbono infusibles y se comparó su capacidad de inmovilización de lactasa y sus características operacionales con las de los gránulos de carbono, resultando estos últimos como el mejor soporte para ser utilizado en un biorreactor.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda financiera otorgada por Colciencias y las instalaciones y colaboración de los docentes del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANNUAL BOOK OF ASTM STANDARDS, 1992
2. ARANA, H., *Fibras de Carbono*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1989.
3. BERMÚDEZ, R.F., "Estudio de las variables que intervienen en la obtención de fibra de carbón isotrópica estabilizada a partir de brea de carbón colombiana modificada". Proyecto de grado presentado para optar al grado de Químico, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, 1993.
4. BUTT, J. B. *et al.*, "Rates of reaction in a recycling system dehydration of ethanol and diethyl ether over alumina". En: *AIChE Journal*, 1962, Vol. 8: 42-47.
5. COELHO, L. *et al.*, "Biofilm Reactors: an Experimental and Modeling Study of Wastewater Denitrification in fluidized- Bed Reactors of Activated Carbon Particles". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1992, Vol.40: 625-633.
6. DALVIE, S. K. y BALTUS, R. E., "Distribution of Immobilized Enzymes on Porous Membranes". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1992, Vol. 40: 1173-1180.
7. DENNIS, K., *et al.*, "Immobilization of enzymes in porous supports: effects of support-enzyme solution contacting". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1984, Vol. 26: 892-900.
8. EHRBURGER, P., "Surface properties of Carbon Fibres". Carbon Fibers Filaments and Composites, Series C. En: *Mathematical and Physical Sciences*, Ed. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1990, Vol. 177.
9. FERNÁNDEZ, J. J., *et al.*, "Modification of Coal-Tar Pitch by Air-Blowing I. Variation of Pitch Composition and Properties". En: *Carbon*, 1995, Vol. 33(3): 295-307.
10. FIGUEIREDO, J. L., *et al.*, *Carbon Fibers Filaments and Composites*, Ed. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, London, 1990.
11. FINOCCHIARO, T. *et al.*, "Lactose Immobilized on Alumina". En: *Journal of Dairy Science*, 1979, pp. 215-222.

12. FLORIÁN, N. M., "Influencia de la fracción insoluble en quinoleína sobre las condiciones de estabilización de una fibra de brea de carbón", Proyecto de grado presentado para optar al grado de Químico a la Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, D.C., 1992.
13. GARZÓN, W., "Contribución al Estudio de la Estabilización de una Fibra de Brea de Alquitrán de Carbón". Proyecto de grado presentado para optar al grado de Químico, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, D.C.", 1992.
14. JHONSON, D. J., "Structure and properties of carbon fibres". En: *Carbon Fibers Filaments and Composites, Series C: Mathematical and physical sciences*, Ed. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1990, Vol. 177.
15. MELICK, M. R., *et al.*, "Mathematical Modeling of Ethanol Production by Immobilized Zymomonas Mobilis in a Packed Bed Fermenter". En: *Biotechnology and Bioengineering*, 1987, Vol.29: 370-382.
16. MIURA, K., *et al.*, "Examination of the oxidative stabilization reaction of the pitch based carbon fiber through continuous measurement of oxygen chemisorption and gas formation rate". En: *Carbon*, 1995, Vol. 33(3): 275-282.
17. OKOS, E. S., *et al.* "Activity and stability of b-galactosidase immobilized on porous glass". En: *Journal of Food Science*, 1974, Vol. 39: 88-93.
18. PAPANNAKOS, N., *et al.*, "Studies on modelling and simulation of lactose hydrolysis by free and immobilized b-galactosidase from Aspergillus niger". En: *Chemical Engineering Journal and Biochemical Engineering Journal*, 1993, Vol. 52(1): 1-12
19. WISEMAN, A., *Manual de Biotecnología de las enzimas*, Zaragoza. Editorial Acribia, S.A, 1991.
20. YIN, Y., *et al.*, "Oxidation behaviour of carbon fibres". *Journal of Materials Science*, Apr. 15, 1994, Vol. 29(8): 2250-2254.