

SCUOLA DI SCIENZE
Dipartimento di Chimica Industriale “Toso Montanari”

Corso di Laurea Magistrale in

Chimica Industriale

Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

SINTESI DI ACIDO GLUCARICO DA D-GLUCOSIO CON
CATALIZZATORI A BASE DI ORO NANOPARTICELLARE

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Calogero Morreale

RELATORE

Chiar.mo Prof. Fabrizio Cavani

CORRELATORE

Dott.ssa Stefania Solmi

Sessione III

Anno Accademico 2014-2015

INDICE

INDICE	1
ABBREVIAZIONI.....	3
1. INTRODUZIONE.....	4
1.1 Carboidrati	5
1.2 Molecole piattaforma.....	7
1.3 Acido glucarico.....	8
2. ATTUALI METODI DI SINTESI DELL'ACIDO GLUCARICO	10
2.1 Sintesi di Sohst-Tollens	10
2.2 Ossidazione catalizzata da nitrossidi	12
2.3 Produzione di acido glucarico in E.Coli ricombinante.....	13
2.4 Ossidazione catalitica con pentossido di vanadio.....	14
2.5 Ossidazione elettrocatalitica del glucosio.....	15
2.6 Ossidazione catalitica con nanoparticelle metalliche	16
2.6.1 Nanoparticelle di oro e platino	16
2.6.2 Nanoparticelle di rame e platino	17
3. NANOPARTICELLE	18
3.1 Campi di applicazione	19
3.1.1 Medicina.....	19
3.1.2 Microelettronica	19
3.1.3 Materiali polimerici.....	20
3.1.4 Catalisi.....	20
3.2 Nanoparticelle di oro	21
3.3 Reazioni catalizzate da nanoparticelle di oro	21
3.3.1 Ossidazione del monossido di carbonio	22
3.3.2 Ossidazione di alcani e alcheni	23
3.3.3 Reazioni con NO _x	24
3.3.4 Ossidazione del glicerolo	25
3.3.5 Ossidazione del glucosio	26
4. SCOPO DELLA TESI	28
5. PARTE SPERIMENTALE	29
5.1 Materie prime utilizzate.....	30
5.2 Sintesi dei catalizzatori.....	31
5.3 Caratterizzazione dei catalizzatori.....	34

5.3.1	TEM (Microscopia elettronica in trasmissione).....	35
5.3.2	XRD (Diffrazione a raggi X).....	36
5.4	Test catalitici.....	38
5.4.1	Reattore	38
5.4.2	Condizioni operative	39
5.4.3	Trattamento del campione.....	39
5.5	Analisi quantitativa.....	40
5.5.1	HPLC (Cromatografia liquida ad alta pressione).....	40
5.6	Analisi qualitativa.....	43
5.6.1	ESI-MS (Spettroscopia di massa a elettrospray).....	43
6.	RISULTATI E ANALISI DEI DATI	45
6.1	Sviluppo del metodo analitico	45
6.1.1	Analisi quantitativa di glucosio e acido gluconico.....	51
6.1.2	Analisi quantitativa di arabinosio e acido glicerico	52
6.1.3	Calibrazione	53
6.1.4	Trattamento dei dati analitici.....	62
6.2	Caratterizzazione dei catalizzatori.....	63
6.2.1	Analisi TEM.....	63
6.2.2	Analisi XRD.....	69
6.3	Test catalitici.....	71
6.3.1	Screening iniziale	72
6.3.2	Bilancio di massa	73
6.3.3	Temperatura	75
6.3.4	Effetto del bismuto sulla selettività.....	78
6.3.5	pH.....	78
6.3.6	Tempo di reazione.....	80
6.4	Schema di reazione	82
7.	LAVORI FUTURI.....	84
8.	CONCLUSIONI	85
	BIBLIOGRAFIA.....	86

ABBREVIAZIONI

GLU: glucosio

GA: acido glucarico

GLA: acido gluconico

PVA: polivinilalcol

AC: carbone attivo

NPs: nanoparticelle

HPLC: cromatografia liquida ad alta pressione

DAD: diode-array detector

RID: refractive index detector

ESI-MS: spettroscopia di massa ad elettrospray

TEM: microscopio elettronico a trasmissione

EDX: energy dispersive X-ray analysis

XRD: diffrazione a raggi X

XRF: fluorescenza a raggi X

RT: tempo di ritenzione

X: conversione

S: selettività

Y: resa

1. INTRODUZIONE

L'inizio del ventunesimo secolo è stato segnato dal progressivo esaurimento delle risorse fossili e da un continuo intensificarsi delle problematiche ambientali causate dalle attività antropiche. Questo andamento sembra essere destinato ad accentuarsi e ciò sta inevitabilmente portando ad un cambiamento nella chimica industriale verso nuovi processi che prevedono l'utilizzo di materie prime rinnovabili. Nonostante le risorse fossili saranno disponibili ancora per molto tempo, l'utilizzo di quest'ultime potrebbe diventare economicamente svantaggioso già fra pochi anni, come si può dedurre dagli andamenti in Figura 1.1. Per queste ragioni si sta procedendo, già da alcuni decenni, ad individuare quelle che potrebbero essere le materie prime rinnovabili ideali per sostituire il petrolio.

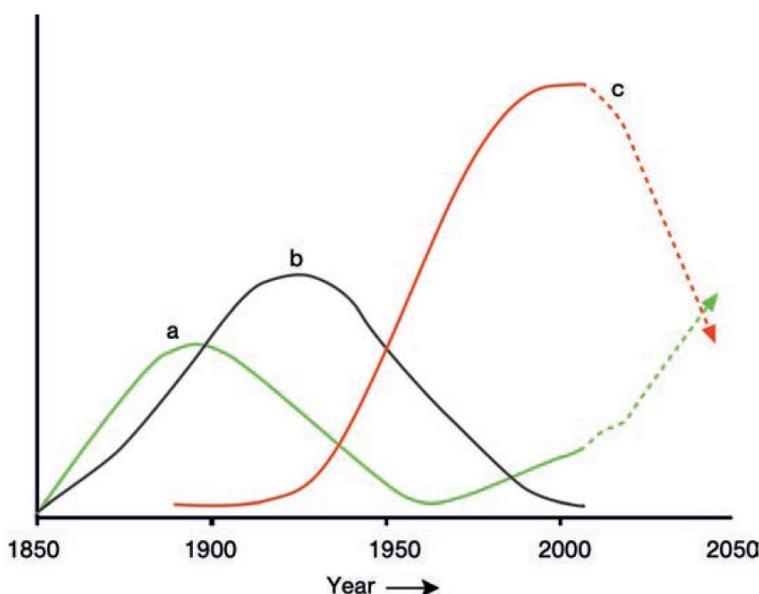


Figura 1.1 – Utilizzo delle materie prime nell'industria chimica dal 1850 ad oggi e previsione dell'andamento nei prossimi 50 anni: (a) rinnovabili, (b) carbone, (c) petrolio, gas naturale ^[1]

L'utilizzo delle biomasse rappresenta ad oggi una delle vie più interessanti da percorrere nell'ottica della chimica industriale sostenibile. Per biomassa si intende "l'insieme dei materiali organici disponibili su base ricorrente o rinnovabile, fra cui coltivazioni energetiche dedicate, residui alimentari vegetali, piante acquatiche, legname e residui di materiale legnoso, scarti animali e altri materiali di scarto utilizzabili per scopi industriali (produzione di energia, combustibili, composti chimici e materiali)" ^[2]. L'utilizzo di tali materie prime e l'applicazione

dei principi di sostenibilità, sia ambientale che economica, costituisce uno dei principali obiettivi della chimica industriale moderna.

La produzione annua di biomassa rinnovabile è stimata sui 180 miliardi di tonnellate e circa il 75% di essa è costituita da carboidrati (Figura 1.2), e in minor parte da lignina, grassi, proteine e acidi nucleici. Attualmente solo il 4% della quantità di biomassa disponibile viene sfruttata dall'uomo, il resto viene degradato e riciclato secondo i cicli naturali biologici e geologici [3].

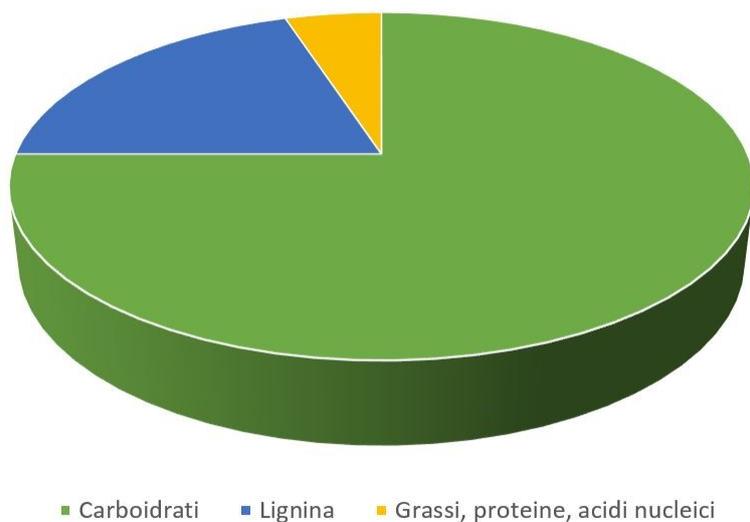


Figura 1.2 – Distribuzione dei principali componenti presenti nelle biomasse [1]

1.1 CARBOIDRATI

Vista la grande abbondanza dei carboidrati nella biomassa rinnovabile, questa classe di biomolecole potrebbe rappresentare quindi un'ideale alternativa al petrolio nella produzione dei building blocks necessari al fine di sviluppare un'appropriata filiera di produzione, che vada dai prodotti di base fino ad arrivare alla chimica fine. La quasi totalità dei carboidrati è presente in natura sotto forma di polisaccaridi, principalmente cellulosa, amido, chitina e glicogeno. I building blocks utilizzati nella maggior parte delle sintesi organiche però sono generalmente molecole con basso peso molecolare, motivo per il quale per ottenerli da fonti rinnovabili è necessario passare per i monomeri di questi polisaccaridi.

I processi di conversione dei polisaccaridi nei loro monomeri sono basati generalmente su reazioni di idrolisi in ambiente acido e a seconda della materia prima di partenza si possono ottenere diverse miscele anche complesse di monosaccaridi. Per esempio gran parte della

biomassa rinnovabile di origine vegetale è costituita da materiale lignocellulosico, i cui costituenti sono la lignina e i due polisaccaridi cellulosa ed emicellulosa. L'emicellulosa è un polimero ramificato contenente esosi e pentosi. La sua struttura particolarmente complessa gli conferisce un basso grado di cristallinità che rende la reazione di idrolisi abbastanza semplice. La cellulosa è invece un polisaccaride ad alta cristallinità le cui unità ripetenti sono molecole di glucosio legate fra loro da ponti β -(1,4)-glicosidici e, a differenza dell'emicellulosa, è più difficile da idrolizzare per via del suo impaccamento molto compatto.

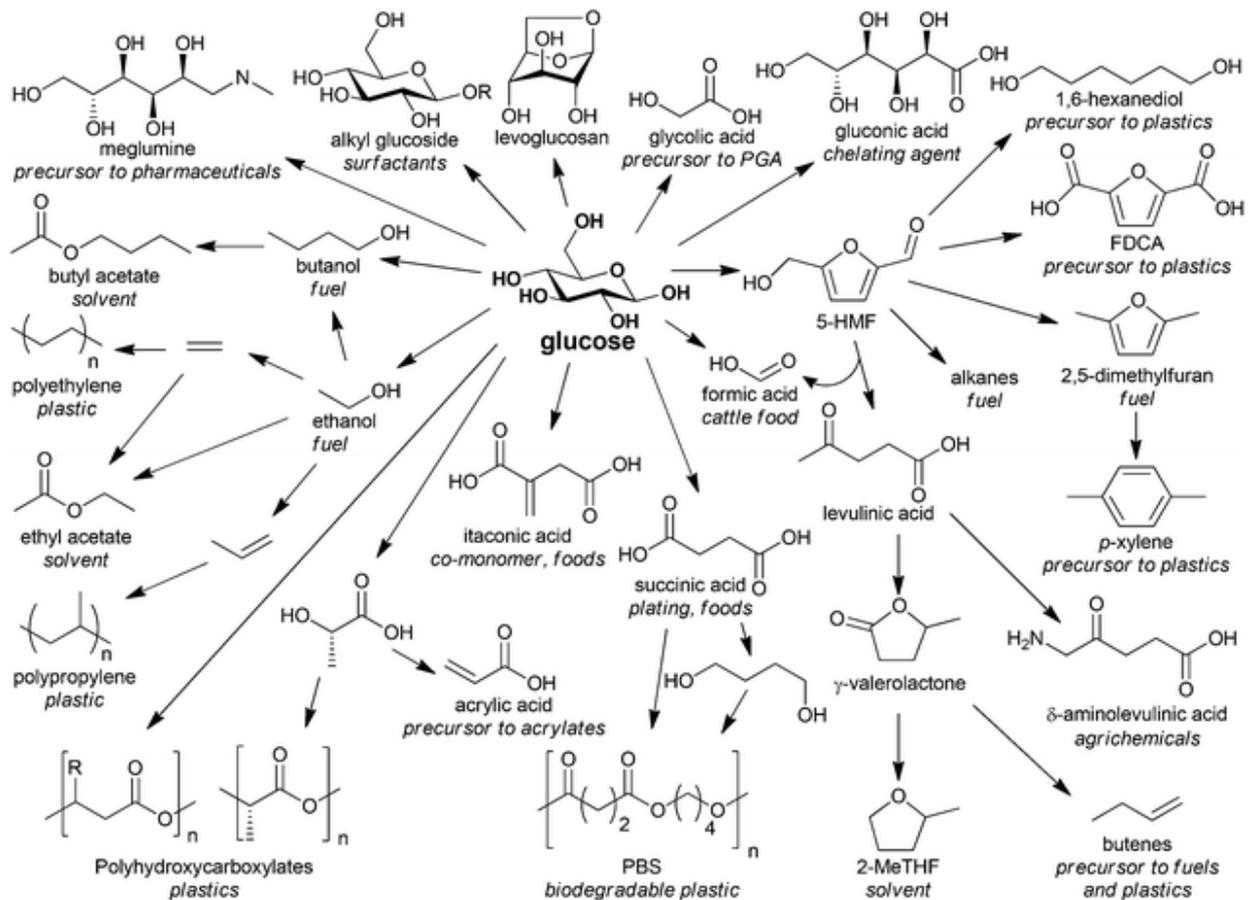
Nonostante i metodi di sintesi dei monosaccaridi a partire da materiale lignocellulosico non siano particolarmente efficienti, alcuni di essi possono essere ottenuti industrialmente con processi relativamente semplici e vengono prodotti in quantità molto elevate: il saccarosio viene estratto dalla barbabietola da zucchero (in Europa) o dalla canna da zucchero (nel resto del mondo) e la sua produzione annua ammonta a circa 172 milioni di tonnellate ^[4]; il glucosio viene prodotto mediante idrolisi enzimatica dell'amido in quantità pari a circa 30 milioni di tonnellate all'anno; il fruttosio viene ottenuto isomerizzando il glucosio in ambiente basico oppure mediante idrolisi dell'inulina o del saccarosio e ne vengono prodotte 60.000 tonnellate l'anno. Il prezzo dei monosaccaridi più comuni si aggira in un range compreso fra 0.30 e 1 €/kg ^[1] e ciò rende il loro utilizzo in ambito industriale estremamente competitivo.

Ad oggi il limite principale nello sviluppo di una chimica basata sui carboidrati è la mancanza di adeguate tecnologie di processo da applicare su scala industriale, le quali fino ad ora sono limitate ad un numero esiguo di applicazioni commerciali. Fra quelle già consolidate rivestono un ruolo di notevole importanza: la fermentazione di biomasse per l'ottenimento di bioetanolo (470 milioni di tonnellate annue) ^[5], la produzione di furfurale mediante idrolisi dell'emicellulosa in ambiente acido, la sintesi dell'acido lattico tramite fermentazione di monosaccaridi e la produzione dell'acido citrico anch'essa mediante fermentazione di biomasse. Queste ed altre molecole ottenibili da materie prime rinnovabili vengono chiamate "molecole piattaforma". Si tratta di composti che possono essere utilizzati come punto di partenza per la sintesi di altre classi di composti chimici e lo sviluppo dei processi per la loro produzione rappresenta oggi uno fra gli obiettivi principali della ricerca nel campo della chimica sostenibile.

L'utilizzo delle biomasse per la produzione di chemicals è dunque subordinato allo sviluppo di tali tecnologie e ad una comprensione più approfondita dei fenomeni chimici che stanno alla base delle trasformazioni interessate.

1.2 MOLECOLE PIATTAFORMA

Attraverso processi di natura chimica o biochimica è possibile ottenere diverse classi di molecole piattaforma a partire dalle biomasse, come mostrato nello Schema 1.1. Fra i derivati della fermentazione aerobica degli zuccheri troviamo il metanolo, l'1,3-propandiolo, l'acido citrico, l'acido malico e l'acido isoascorbico. Per fermentazione anaerobica si possono ricavare una vasta serie di building blocks che vanno dagli alcoli (etanolo, n-butanolo, maltolo, 2-etil esanolo) agli alcheni (etilene, propilene, butadiene) fino agli acidi organici (acido acetico, acido lattico, acido itaconico, acido acrilico) [6]. Molti altri chemicals sono ottenibili mediante processi puramente chimici che coinvolgono per lo più reazioni di idrolisi o ossidazioni catalitiche del glucosio. Tuttavia, tranne in pochi casi, la maggior parte di queste sintesi è poco efficiente o è ancora in fase di sviluppo.



Schema. 1.1 – Principali chemicals ottenibili da glucosio e loro utilizzo [7]

1.3 ACIDO GLUCARICO

Recentemente il Dipartimento dell'Energia degli Stati Uniti ha stilato un rapporto contenente uno screening dei potenziali chemicals ad alto valore aggiunto ricavabili dalle biomasse e nello specifico delle molecole piattaforma ottenibili dalla trasformazione di zuccheri e gas di sintesi [8]. L'acido glucarico risulta essere fra i dodici composti chimici, ottenibili da biomasse, di maggiore interesse per l'industria chimica.

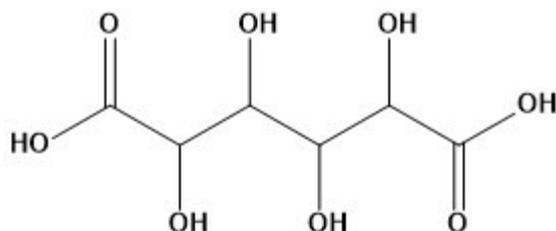
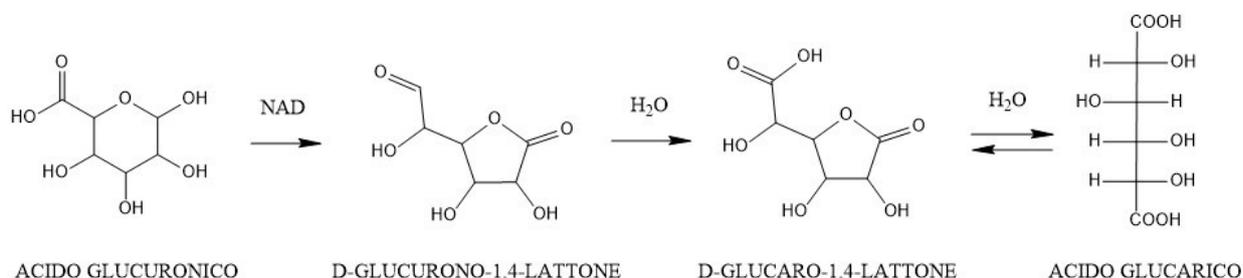


Fig. 1.3 – Struttura dell'acido glucarico

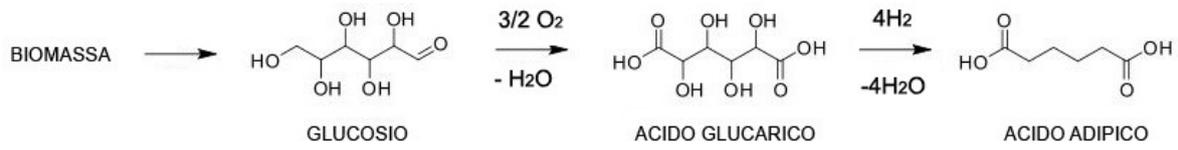
L'acido glucarico, noto anche come acido saccarico, è un acido aldarico di formula $C_6H_{10}O_8$ derivato dall'ossidazione di entrambi i gruppi terminali del glucosio. Viene prodotto in natura in varie specie di mammiferi e vegetali e rappresenta insieme al D-glucaro-1,4-lattone il prodotto finale del metabolismo dell'acido glucuronico [9] come mostrato nello Schema 1.2.



Schema 1.2 – Via metabolica dell'acido glucuronico

I suoi usi sono molteplici: nell'ambito medico-biologico è stato proposto il suo impiego come agente antitumorale [10], come integratore alimentare per la regolazione del livello di colesterolo [11] e per la diagnosi precoce degli infarti [12]; altre applicazioni sono l'utilizzo come inibitore della corrosione dei metalli [13] e come agente sequestrante cationico [14] per la produzione di detergenti privi di fosfati [14]. Fra i suoi derivati potenzialmente interessanti trova spazio anche il D-glucaro-1,4-lattone che potrebbe essere impiegato come solvente. Tuttavia, gran parte dell'interesse della ricerca sulla sintesi dell'acido glucarico è dovuta soprattutto al suo potenziale utilizzo nella chimica dei polimeri. I sali e gli esteri possono essere adoperati per la produzione di nuovi poliesteri iper-ramificati e il suo derivato, l' α -ketoglucarato, per la sintesi

di innovativi elastomeri ^[15]. Infine lo stesso acido glucarico, attraverso un processo di riduzione catalitica, può essere convertito in acido adipico e quest'ultimo utilizzato come monomero per la sintesi del nylon-6,6, poliammide avente una produzione annua di 3,4 milioni di tonnellate ^[16].



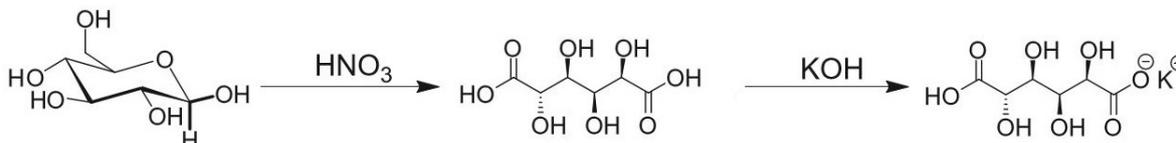
Schema 1.3 – Sintesi di acido adipico a partire da biomasse

2. ATTUALI METODI DI SINTESI DELL'ACIDO GLUCARICO

Attualmente la via di sintesi più utilizzata per ottenere l'acido glucarico prevede l'ossidazione del glucosio con acido nitrico, ma nell'ultimo decennio sono state proposte diverse alternative basate su processi sia chimici che biochimici. Tuttavia ad oggi non è stato identificato ancora nessun processo economicamente vantaggioso per un eventuale sviluppo su scala industriale ^[17]. Le barriere tecnologiche per lo sviluppo di tali processi comprendono l'individuazione di un catalizzatore altamente selettivo e attivo nei confronti della reazione di ossidazione del glucosio e l'eliminazione di ossidanti tossici o dannosi per l'ambiente come ad esempio l'acido nitrico.

2.1 SINTESI DI SOHST-TOLLENS

La prima sintesi dell'acido glucarico risale al 1888 ^[18] ad opera dei chimici tedeschi Sohst e Tollens. Il metodo prevede l'ossidazione del glucosio mediante acido nitrico e la successiva aggiunta di idrossido di potassio al fine di isolare il prodotto come glucarato monopotassico.



Schema. 2.1 – Sintesi di Sohst-Tollens

Questo processo ha il vantaggio di utilizzare l'acido nitrico oltre che come ossidante anche come solvente, inoltre il suo costo è relativamente economico e la reazione può essere condotta a pressione atmosferica. Per questi motivi negli anni sono stati portati avanti diversi tentativi di ottimizzare questa sintesi per poterla portare su scala industriale ^[19] anche se con scarsi risultati: negli anni '50 è stato proposto un impianto pilota per la produzione dell'acido glucarico mediante ossidazione con acido nitrico come riportato in Figura 2.1.

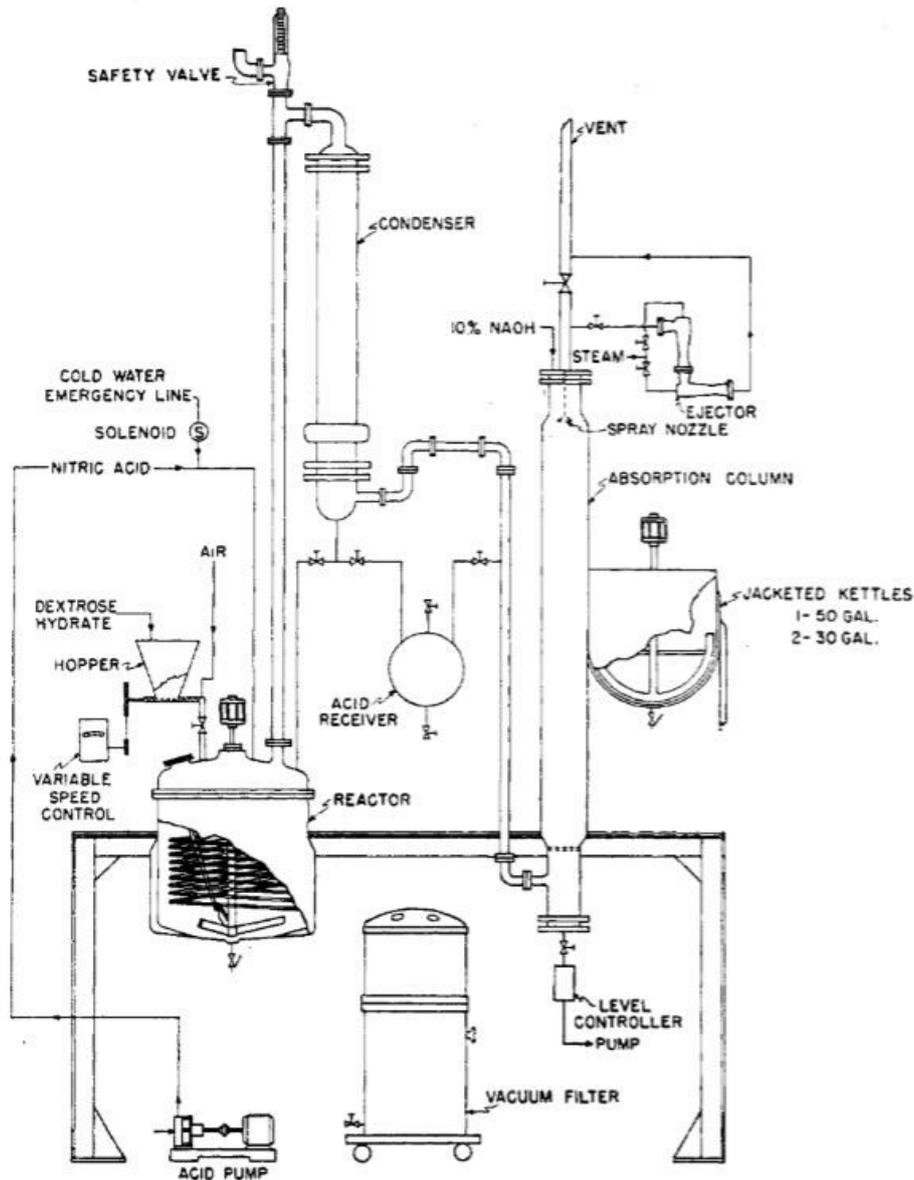


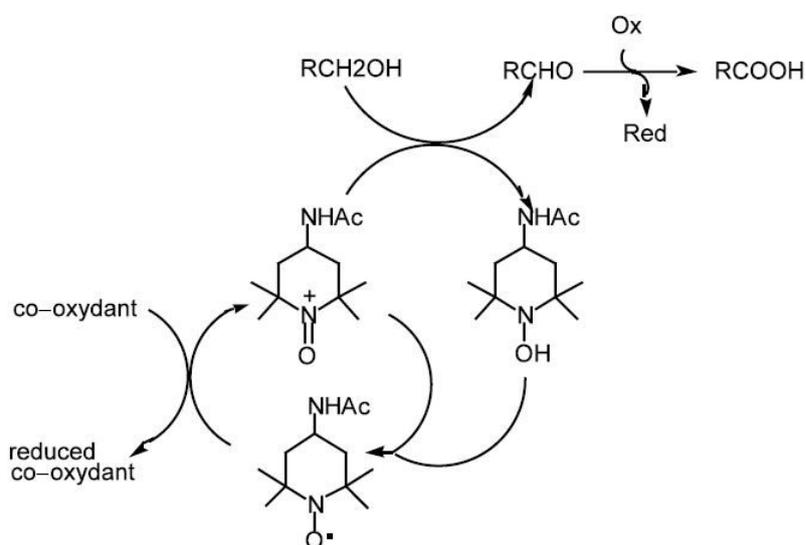
Figura. 2.1 – Impianto pilota per la produzione di acido glucarico progettato da G. Mustakas et al. nel 1954 ^[20]

Il mancato successo di questo processo è dovuto a varie problematiche insite nel metodo. Prima fra tutte una scarsa selettività della reazione di ossidazione che comporta basse rese in acido glucarico; ciò porta di conseguenza ad una scarsa produttività e ad un aumento notevole dei costi operativi legati alla separazione dell'acido glucarico dai sottoprodotti di reazione. Un altro problema fondamentale è legato all'utilizzo dell'acido nitrico il quale durante la reazione di ossidazione viene parzialmente decomposto portando alla formazione di NO_x e N_2O che devono essere abbattuti con sistemi di abbattimento adeguati e costosi per l'impianto. Questi sono fra i principali responsabili di alcune problematiche ambientali fra cui lo smog fotochimico e le piogge acide. A causa di ciò, al fine di soddisfare le attuali normative vigenti,

l'impianto deve prevedere l'integrazione di sistemi di abbattimento di questi coprodotti che comportano ulteriori costi aggiuntivi. L'acido nitrico, oltre ad essere un forte ossidante, è anche un acido forte, quindi l'impianto deve essere costruito con materiali idonei al contatto con esso. Visti i numerosi problemi di tipo chimico, impiantistico e soprattutto economico, questo impianto non è mai stato sviluppato su scala industriale. Questo ha portato negli anni allo sviluppo di nuove sintesi alternative basate su processi biochimici o su reazioni di ossidazione che non prevedono l'utilizzo di acido nitrico.

2.2 OSSIDAZIONE CATALIZZATA DA NITROSSIDI

Recentemente sono state investigate le proprietà dei nitrossidi come promotori della reazione di ossidazione degli alcoli. In particolare Merbouh et al. hanno messo a punto un metodo per la sintesi dell'acido glucarico utilizzando il 4-acetammido-TEMPO ^[21] (Schema 2.2). La scelta di utilizzare quest'ultimo piuttosto che il suo precursore, il 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinyloxy (TEMPO), è data dalla maggiore stabilità e da una più bassa volatilità del derivato rispetto al nitrossido di partenza.



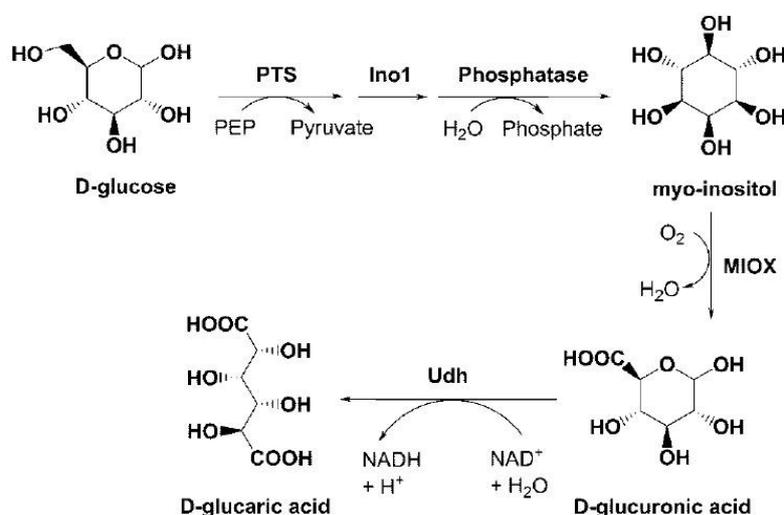
Schema 2.2 – Schema della reazione di ossidazione di un alcol con 4-AcNH-TEMPO

La metodica prevede l'ossidazione del glucosio in presenza di quantità catalitiche di 4-AcNH-TEMPO utilizzando ipoclorito di potassio come specie co-ossidante. La reazione viene condotta ad una temperatura fra 0 e 5°C e la miscela di reazione viene basificata con NaOH

fino a pH 11,5. Il prodotto viene infine isolato mediante aggiunta di etanolo il quale favorisce la formazione del precipitato di glucarato monopotassico. La sintesi è altamente selettiva e si ottengono rese in acido glucarico molto elevate, prossime al 90%. Nonostante l'elevata efficienza del metodo, l'alto costo dell'agente ossidante rende il processo praticamente inattuabile su scala industriale.

2.3 PRODUZIONE DI ACIDO GLUCARICO IN E. COLI RICOMBINANTE

Uno studio del 2009 di T.S. Moon et al. ha messo in evidenza la possibilità di produrre acido glucarico a partire da D-glucosio tramite una sintesi enzimatica ottenuta con *Escherichia Coli* ricombinante [22]. La reazione è stata resa possibile grazie ad una sofisticata procedura di manipolazione genetica, la quale ha permesso di creare una via metabolica ad hoc avente come prodotto finale l'acido glucarico. Per la sintesi sono stati utilizzati tre enzimi presenti in tre diversi microorganismi (lieviti, topi e batteri) che sono stati trasferiti su *Escherichia Coli* per ottenere il microorganismo ricombinante in grado di effettuare la sintesi desiderata (Schema 2.3).



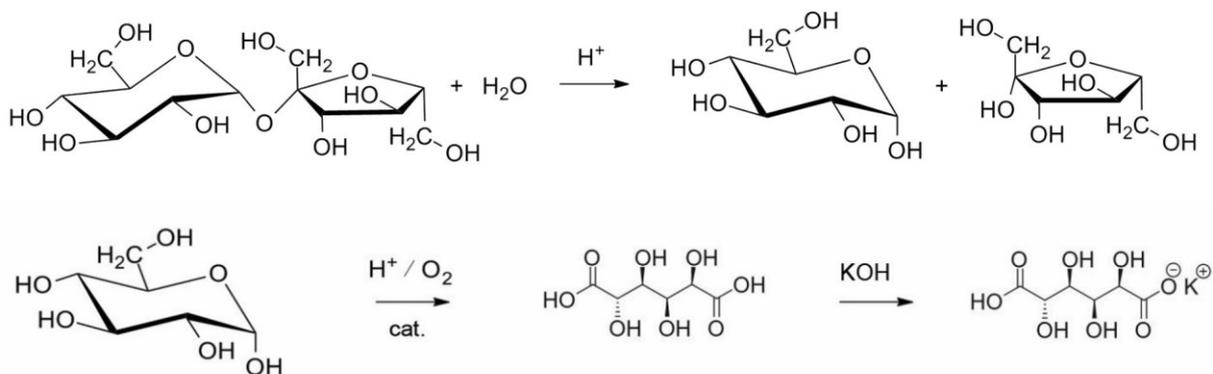
Schema 2.3 – Sintesi enzimatica di acido glucarico in *E.Coli* ricombinante

Un aspetto molto vantaggioso di questa sintesi è la possibilità di lavorare a temperature molto basse, intorno ai 30°C, utilizzando solamente il glucosio e la coltura batterica di

Escherichia Coli senza l'ausilio di ossidanti o catalizzatori. D'altro canto la resa in acido glucarico ottenuta è del 17%, troppo bassa per poter giustificare una produzione su scala industriale già di per sé abbastanza complessa per via della sua natura biochimica.

2.4 OSSIDAZIONE CATALITICA CON PENTOSSIDO DI VANADIO

Nel corso degli anni sono state proposte varie sintesi dell'acido glucarico che si avvalgono dell'ausilio di catalizzatori in fase eterogenea. V. Pamuk et al. hanno verificato che la reazione di ossidazione del glucosio può essere attivata da pentossido di vanadio supportato su silice e porta alla formazione di acido glucarico con una resa del 64% [23]. Il substrato di partenza utilizzato in questo metodo è una melassa contenente il 52% di saccarosio che viene ossidata con aria in presenza di acido nitrico, acido solforico e nitrito di sodio (Schema 2.4). Questi ultimi favoriscono la reazione di inversione del saccarosio, senza la quale non sarebbe possibile portare avanti la sintesi, e in secondo luogo favoriscono l'ossidazione del glucosio formatosi. L'aria, oltre che ossidare il glucosio, contribuisce anche a ossidare gli ossidi di azoto formati durante la reazione e quindi a rigenerare parte dell'acido nitrico. La sintesi viene effettuata in un reattore a letto fisso termostato a 60°C e il prodotto viene successivamente isolato come glucarato monopotassico insolubile.



Schema 2.4 – Schema della reazione di sintesi dell'acido glucarico a partire da saccarosio

Questo metodo ha il vantaggio di utilizzare la melassa, un prodotto di scarto dell'industria dello zucchero, piuttosto che il glucosio. Ciò unito all'utilizzo di aria, anziché ossigeno puro, si traduce in un abbassamento dei costi rispetto alle sintesi che partono da glucosio e utilizzano ossigeno come ossidante. Tuttavia i problemi legati all'utilizzo di alte concentrazioni di acidi

forti e la formazione di NO_x lo rendono un metodo poco sostenibile, dal punto di vista economico e ambientale, e non conveniente per un'applicazione su scala industriale.

2.5 OSSIDAZIONE ELETTROCATALITICA DEL GLUCOSIO

È possibile effettuare un'ossidazione controllata del glucosio in un reattore elettrocatalitico con conversione quasi totale, ottenendo come prodotti acido gluconico e acido glucarico rispettivamente con rese del 15% e dell'84% [24]. Il metodo prevede l'ossidazione di una soluzione di glucosio applicando una differenza di potenziale fra due elettrodi posizionati all'interno del reattore. L'anodo è costituito da MnO_2 nanoparticellare depositato su un elettrodo poroso di titanio e il catodo da una rete metallica posizionata attorno all'elettrodo (schema dell'impianto in Figura 2.2). La reazione viene condotta in condizioni molto blande mantenendo la temperatura a 30°C , il pH intorno a 7 e con un'intensità di corrente pari a 6 mA cm^{-2} .

L'ossidazione ha luogo per il semplice passaggio degli elettroni nel circuito, per cui il vantaggio più evidente di questo metodo sta nel non utilizzare nessuna specie ossidante, né tantomeno soluzioni di acidi forti. Sebbene il metodo in sé non presenti nessun aspetto critico, l'utilizzo di un reattore elettrocatalitico su scala industriale comporterebbe dei costi troppo elevati per giustificarne l'impiego.

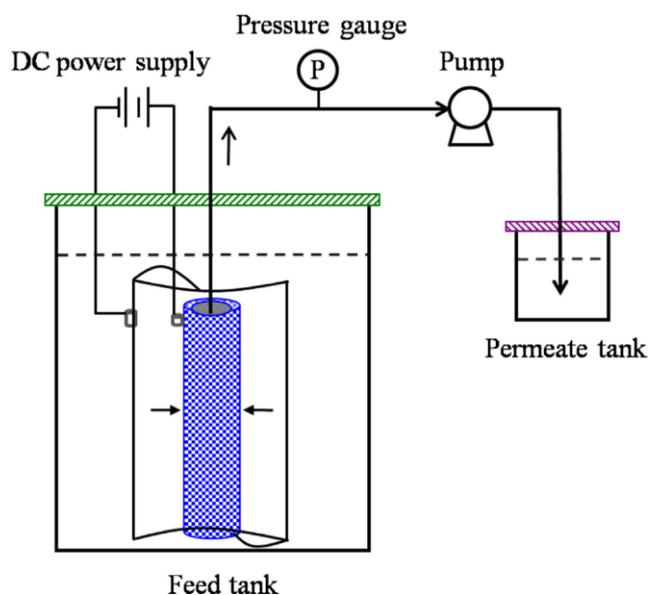


Fig. 2.2 – Reattore elettrocatalitico per l'ossidazione controllata del glucosio

2.6 OSSIDAZIONE CATALITICA CON NANOPARTICELLE METALLICHE

Sono stati proposti diversi metodi di sintesi basati sull'utilizzo di nanoparticelle metalliche. Alcuni metalli nobili mostrano su scala nanometrica un'elevata attività per le reazioni di ossidazione in fase liquida anche a temperature relativamente basse. Ciò, unito alla possibilità di poter supportare le nanoparticelle facilitando così il loro riutilizzo, fa sì che oggi lo studio della sintesi dell'acido glucarico si stia focalizzando molto su questo tipo di catalizzatori.

2.6.1 NANOPARTICELLE DI ORO E PLATINO

Ad oggi una delle sintesi più interessanti con catalizzatori a base di metalli nobili, è stata proposta dall'azienda statunitense Rennovia Inc., specializzata nella produzione di chemicals da fonti rinnovabili. L'azienda è proprietaria di un brevetto depositato nel 2011 dove riporta l'ottenimento di acido glucarico con alte rese ossidando il glucosio con ossigeno [25]. Il catalizzatore utilizzato è costituito da nanoparticelle di platino e oro supportate su TiO₂. Mantenendo il pH neutro, ad una temperatura di 120°C e con una pressione di 27 bar di ossigeno, si ottiene una conversione totale del glucosio e una resa del 71% in acido glucarico.

Generalmente l'ossidazione del glucosio in catalisi eterogenea necessita di pH fortemente basici. Il catalizzatore proposto da Rennovia, invece, sembra essere attivo anche a pH neutro. Questo è uno degli aspetti più vantaggiosi di questa sintesi, dato che l'aggiunta di una base forte costituisce generalmente un grosso problema per quanto riguarda neutralizzazione, separazione e recupero a fine reazione. Inoltre, a differenza dei metodi di sintesi tradizionali, in questo caso viene evitato l'utilizzo di acido nitrico come ossidante portando quindi ad una considerevole diminuzione dei problemi connessi con il suo impiego, citati nei paragrafi precedenti. Infine un altro grosso vantaggio è consiste nell'utilizzo di un catalizzatore supportato, il quale può essere facilmente separato ed eventualmente riutilizzato dopo ogni ciclo reattivo.

La tecnologia di cui è proprietaria Rennovia prevede anche una successiva idrodeossigenazione altamente selettiva dell'acido glucarico che porta alla formazione di acido adipico. Attualmente lo stato di sviluppo del processo ha permesso la costruzione di un impianto pilota che produce acido adipico a partire da soluzioni concentrate di glucosio. In futuro, ciò potrebbe portare verosimilmente alla commercializzazione di un processo di produzione di materiali polimerici a base di nylon-6,6 a partire da materie prime rinnovabili.

2.6.2 NANOPARTICELLE DI RAME E PLATINO

Recentemente degli studi condotti da R.V. Chaudari et al. hanno messo in evidenza la possibilità di ottenere acido glucarico mediante un'ossidazione selettiva catalizzata da nanoparticelle di rame e platino in lega supportate su TiO_2 [26]. La reazione viene condotta in ambiente basico ad una temperatura compresa fra i 45 e i 60°C, viene utilizzato ossigeno puro come ossidante e si ottiene una resa massima in acido glucarico pari al 32 %. Lo studio sulla reazione è focalizzato da una parte sull'influenza del metodo di sintesi sulle prestazioni del catalizzatore e dall'altra sulla distribuzione dei prodotti ottenuti utilizzando come substrato di partenza il glucosio o l'acido gluconico.

È stato verificato che i catalizzatori bimetallici Pt-Cu hanno un'attività maggiore rispetto ai corrispettivi catalizzatori monometallici nonché maggiore della somma delle loro attività. Ciò sta ad indicare un effetto sinergico dei due metalli nel meccanismo di reazione. Inoltre, a seguito dei test di reattività, le nanoparticelle in lega risultano essere più selettive delle nanoparticelle di tipo core-shell nella sintesi dell'acido glucarico. In tutti i casi l'acido glucarico è presente come prodotto maggioritario e i sottoprodotti principali che si osservano sono l'acido ossalico, l'acido tartronico, l'acido glicerico, l'acido glicolico e l'acido lattico.

Lo studio mette in evidenza anche una profonda influenza del reagente di partenza sulla selettività della reazione. Nello specifico si osserva che utilizzando l'acido gluconico anziché il glucosio la selettività verso la formazione dell'acido glucarico risulta essere maggiore. Ciò è dovuto al fatto che utilizzando l'acido gluconico, essendo già di per sé una forma parzialmente ossidata del glucosio nonché un intermedio chiave della sintesi, si eliminano tutti i sottoprodotti derivanti dal primo step di ossidazione che porta dal glucosio all'acido gluconico.

Uno degli aspetti più vantaggiosi di questa sintesi è sicuramente l'utilizzo di ossigeno puro come ossidante che permette di evitare l'utilizzo di acido nitrico. Inoltre anche la catalisi in fase eterogenea costituisce un grosso vantaggio per quanto riguarda la semplificazione dei processi di separazione e riutilizzo del catalizzatore. D'altro canto bisogna notare che la reazione viene condotta in ambiente basico e rimangono quindi delle problematiche non indifferenti legate alla presenza dell'idrossido di sodio nella miscela di reazione.

3. NANOPARTICELLE

Si definiscono nanoparticelle tutti i materiali le cui tre dimensioni sono comprese in un intervallo che va da 1 a 100 nm ^[27]. Fra queste possono essere annoverate alcune polveri sottili di origine naturale come, ad esempio, le ceneri generate da vulcani e da incendi, ma anche il cosiddetto particolato prodotto nei processi di combustione di origine antropica. Generalmente, in questi casi, si tratta di nanoparticelle con composizione chimica eterogenea e morfologia irregolare. Al contrario le nanoparticelle prodotte appositamente in laboratorio vengono sintetizzate in modo da ottenere composizioni e strutture ben definite al fine di conferirgli particolari proprietà. I nanomateriali possono avere caratteristiche chimico-fisiche notevolmente diverse dai corrispettivi materiali bulk e in genere si notano delle deviazioni abbastanza evidenti in alcune proprietà come il punto di fusione, le proprietà ottiche, le proprietà magnetiche e la reattività. Alcune di esse, come ad esempio certe proprietà ottiche, sono note fin dal IV secolo d.C. e la coppa di Licurgo rappresenta la più antica testimonianza storica dell'utilizzo di nanoparticelle a noi pervenuta.



Figura 3.1 – La coppa di Licurgo è un manufatto in vetro dichroico risalente all'epoca romana. Se illuminata da dietro si colora di rosso, se illuminata frontalmente esibisce una colorazione verde-grigio. La particolare proprietà cangiante è dovuta alla presenza di nanoparticelle di oro e argento disperse nella matrice vetrosa.

La possibilità di poter variare a proprio piacimento le proprietà di un materiale agendo sulle sue dimensioni, ha attirato negli ultimi decenni l'attenzione di svariati settori scientifici fra cui

quello medico, quello biochimico e quello della chimica industriale. Ciò ha permesso lo sviluppo di una nuova categoria di discipline riunite sotto il nome di nanoscienze.

3.1 CAMPI DI APPLICAZIONE

3.1.1 MEDICINA

Uno dei fenomeni al quale si assiste diminuendo progressivamente le dimensioni di un materiale, è l'aumento dell'intensità della luce diffusa, fenomeno meglio conosciuto come scattering. Questo comportamento può essere sfruttato per lo sviluppo di particolari tecniche di imaging, come ad esempio quelle utilizzate in campo medico per l'individuazione di cellule tumorali. Le nanoparticelle di oro mostrano un'elevata biocompatibilità e possono essere utilizzate come scaffold per il trasporto di determinati anticorpi. Questi ultimi, una volta rilasciati all'interno dell'organismo, si andranno ad agglomerare in prossimità delle zone ricche di cellule tumorali. Al contrario, nelle zone dove sono presenti solamente cellule sane, il sistema oro-anticorpo si disperderà in maniera omogenea su tutto il tessuto. In questo modo è possibile mediante una scansione individuare il tessuto danneggiato con estrema accuratezza e senza l'ausilio di tecniche invasive ^[28]. Secondo lo stesso principio è possibile posizionare dei nanotubi di oro sulla circonferenza delle cellule danneggiate e trattare il tumore con un laser N-IR, sfruttando la risonanza plasmonica dell'oro nanoparticellare nella regione del vicino infrarosso ^[29].

3.1.2 MICROELETTRONICA

Nel campo della microelettronica le nanoparticelle metalliche vengono utilizzate per la produzione di circuiti stampati. Spesso la natura polimerica della scheda rende impossibile l'utilizzo di alte temperature per la fusione della pasta conduttiva convenzionalmente usata per stampare il circuito. Su scala nanometrica, invece, si verifica un abbassamento del punto di fusione di un materiale, per cui è possibile utilizzare le nanoparticelle per stampare il circuito ad una temperatura di fusione inferiore alla temperatura di rammollimento del polimero. Inoltre, utilizzando particelle di dimensioni nanometriche è possibile stampare il circuito con tecniche a getto d'inchiostro piuttosto che con le più costose tecniche fotolitografiche o di evaporazione sottovuoto. Generalmente l'oro è il metallo più utilizzato per questo tipo di applicazioni data la sua alta conducibilità e la resistenza agli agenti atmosferici. Tuttavia a causa del suo alto costo, sono in fase di sviluppo delle tecnologie che prevedono l'utilizzo di nanoparticelle di rame ^[30].

3.1.3 MATERIALI POLIMERICI

Data una matrice polimerica, è possibile intercalarvi dei nanomateriali in modo da ottenere un polimero nanocomposito con prestazioni meccaniche notevolmente migliorate. Fra i vari tipi di nanocompositi, si trovano spesso dei polimeri rinforzati con silicati stratificati, come ad esempio la montmorillonite, oppure con nanofibre o nanotubi di carbonio. Incorporando, ad esempio, in un nylon-6 una quantità di nanotubi di carbonio pari all'1% in peso della massa totale, si riesce a raddoppiare la resistenza meccanica del materiale.

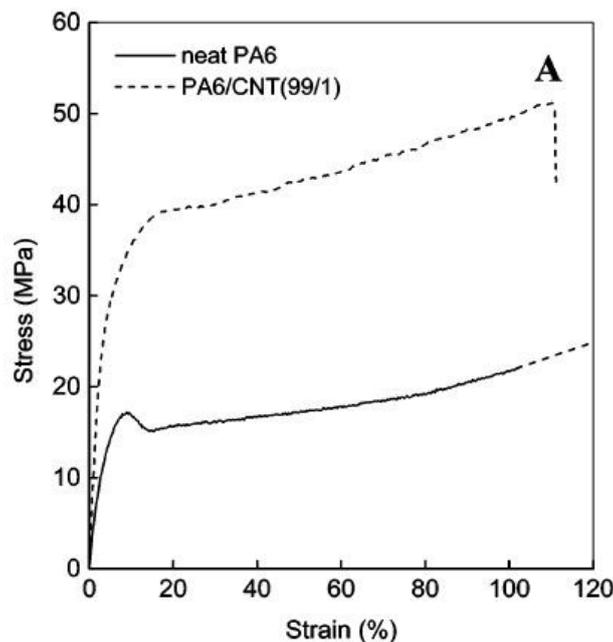


Figura 3.2 – Diagramma stress-strain di un nylon-6 caricato con l'1% in peso di nanotubi di carbonio. La linea tratteggiata indica il comportamento del polimero nanocomposito mentre la linea continua si riferisce alla matrice polimerica originale ^[31].

Questi materiali possono essere utilizzati per tutte quelle applicazioni che richiedono un'elevata resistenza meccanica o quando vi è la necessità di usare un polimero ad elevata conducibilità.

3.1.4 CATALISI

Le nanoparticelle metalliche hanno trovato largo impiego nel campo della catalisi. Queste possiedono, rispetto ai metalli bulk, un rapporto superficie-volume estremamente più elevato che corrisponde ad una maggiore quantità di atomi presenti in superficie, i quali possiedono un'energia di legame più bassa. Questa condizione fa sì che gli atomi che si trovino in superficie mostrino una reattività molto elevata. È possibile ottenere catalizzatori con diversa reattività

variando una grande moltitudine di parametri come ad esempio le dimensioni e la forma delle nanoparticelle, il metallo, il metodo di preparazione, il tipo di supporto se si vuole un catalizzatore eterogeneo, e, in tal caso, anche il metal loading e la distribuzione delle specie attive sulla superficie del supporto. In particolare, i vantaggi derivanti dall'utilizzo di catalizzatori supportati, uniti ai significativi progressi delle nanotecnologie, hanno costituito un grande slancio per la ricerca nel campo della catalisi eterogenea con nanoparticelle metalliche.

3.2 NANOPARTICELLE DI ORO

Per molto tempo l'oro è stato ritenuto inattivo come catalizzatore a causa della sua elevata inerzia chimica sotto forma di materiale bulk. Per anni la sua unica applicazione rilevante a livello industriale è stata la produzione di cavi sottili ^[32] per via della sua elevata conducibilità elettrica. Tuttavia l'oro può essere ottenuto sotto forma di nanoparticelle o di clusters con diametri anche inferiori a 2 nm, ed essere depositato su una grande varietà di supporti fra cui ossidi metallici, carboni attivi, carburi, solfuri e polimeri. In tali condizioni, l'oro mostra una sorprendente attività catalitica per una vasta gamma di reazioni anche a temperature relativamente basse, motivo per il quale ha attirato su di sé una grande attenzione da parte del mondo dell'industria chimica.

L'incremento esponenziale della reattività dell'oro di dimensioni nanometriche è dovuto principalmente a fattori elettronici. Nella sua forma bulk l'oro ha configurazione elettronica $[\text{Xe}]4f^{14}5d^{10}6s^1$ e la sua inerzia chimica è dovuta in gran parte agli effetti relativistici causati dal suo elevato peso atomico. L'elettrone $6s^1$ risulta difficilmente ionizzabile per via della stabilizzazione data dalla contrazione relativistica, rendendo di fatti molto difficile l'interazione orbitalica con gli orbitali di frontiera di un'altra molecola. Recenti studi ^[33] hanno dimostrato come, su scala nanometrica, l'oro perda il suo carattere metallico e le sue proprietà elettroniche varino a seconda delle vacanze elettroniche che si vengono a creare in seguito alla diversa disposizione degli atomi sulla superficie del supporto. Ciò giustifica anche la grande variabilità della reattività che si può notare al cambiare della forma e delle dimensioni delle nanoparticelle.

3.3 REAZIONI CATALIZZATE DA NANOPARTICELLE DI ORO

Negli anni Ottanta, la scoperta di due importanti reazioni catalizzate da nanoparticelle di oro, ovvero l'ossidazione del monossido di carbonio ^[34] riportata da M. Haruta e l'idroclorinazione dell'acetilene descritta nel lavoro di G.J. Hutchings ^[35], ha dato il via ad un importante sviluppo

della ricerca nel campo della catalisi eterogenea con questo metallo. Questa spinta ha permesso di migliorare le conoscenze per quanto riguarda la sintesi, la caratterizzazione e le applicazioni dei catalizzatori a base di oro. Ad oggi si possono contare decine di processi chimici che utilizzano le nanoparticelle di oro come catalizzatore eterogeneo, alcune delle quali sono mostrate nella Tabella 3.1.

Type of reaction	Reactant	Temperature (K)	Support	Notes
Complete oxidation	CO	200–400	Be(OH) ₂ , Mg(OH) ₂ , Mn ₂ O ₃ , Fe ₂ O ₃ , etc.	acidic metal oxides are excluded as a support.
	HCHO	300–450	TiO ₂	regenerable by sun light
	CH ₃ OH	300–450	TiO ₂	regenerable by sun light
	CH ₄ , C ₃ H ₈	450–650	Co ₃ O ₄	as active as Pd, Pt catalysts
	trimethylamine	330–500	Fe ₂ O ₃ , NiFe ₂ O ₄	commercialized for odor eater
Oxidative decomposition	chlorofluorocarbon	550–823	Co ₃ O ₄ , Al ₂ O ₃ , LaF ₃	LaF ₃ for HCN Eynthesis
	o-chlorophenol	450–550	Fe ₂ O ₃	integrated with Pt/SnO ₂ + Ir/La ₂ O ₃
	dioxin	400–500	Fe ₂ O ₃	integrated with Pt/SnO ₂ + Ir/La ₂ O ₃
Reduction or decomposition of NOx	NO + C ₃ H ₆	450–800	Al ₂ O ₃	to N ₂ , mixed with Mn ₂ O ₃
	N ₂ O (+ O ₂ + H ₂ O)	500–	Co ₃ O ₄	to N ₂
Oxidation or Reduction of COx	CO + H ₂ O	400–500	TiO ₂ , ZrO ₂ , CeO ₂	to CO ₂ + H ₂
	CO + 2H ₂	400–500	ZnO	to methanol
	CO ₂ + 3H ₂	400–500	ZnO	to methanol
	CO ₂ + 3H ₂	400–500	TiO ₂	to CO
Selective oxidation	C ₃ H ₆ + H ₂ + O ₂	300–500	TiO ₂ (anatase), Ti-SiO ₂	to propylene oxide
	C ₃ H ₈ + O ₂ + H ₂	300–400	TiO ₂ (anatase)	to acetone
	C ₄ H ₁₀ + O ₂ + H ₂	300–400	TiO ₂ (anatase)	to butanol
	glycols	room temp.	activated carbon	to α-hydroxy acids, liquid phase
Selective hydrogenation	CH=CH	400–500	Al ₂ O ₃	to ethylene
	CH ₂ =CH–CH=CH ₂	400–500	Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , TiO ₂	to butenes
	crotonaldehyde	500–550	ZnO	to crotyl alcohol
	acrolein	513–593	ZrO ₂	to allyl alcohol
Hydrochlorination	CH=CH	373–393	AuCl ₃ /activated carbon	to vinyl chloride

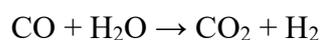
Tabella 3.1 – Alcuni esempi di reazioni catalizzate da nanoparticelle di oro [36].

3.3.1 OSSIDAZIONE DEL MONOSSIDO DI CARBONIO

I catalizzatori a base di oro possiedono un'elevata attività per la reazione di ossidazione del monossido di carbonio a bassa temperatura e superano di gran lunga le prestazioni ottenute con qualsiasi altro metallo [37]. Questa reazione riveste un ruolo di grande importanza per via della possibilità di poter utilizzare questo sistema catalitico per purificare i fumi di combustione contenenti monossido di carbonio. L'attività del catalizzatore è fortemente dipendente dal supporto utilizzato che influenza anche la temperatura alla quale è attivo il catalizzatore stesso. È stato verificato che i supporti attivi per questa reazione risultano essere gli ossidi metallici e

fra tutti va evidenziato il comportamento del catalizzatore Au/Fe₂O₃, attivo già a -76 °C; e si ottengono eccellenti risultati anche utilizzando la hopcalite, un ossido misto di tipo MnO_x-CuO_y [38]. Fra le varie applicazioni possibili per questa reazione è stato proposto anche il suo impiego per l'abbattimento del CO nelle fuel cells [39]: uno dei principali problemi in questi sistemi è la presenza di tracce di monossido di carbonio, derivanti dalla reazione di reforming degli idrocarburi, le quali avvelenano il catalizzatore utilizzato nella fuel cell stessa. Il meccanismo catalitico coinvolto non è ancora del tutto chiaro, ma quasi certamente l'interazione fra il metallo e il supporto risulta essere un fattore di importanza cruciale. Fra i meccanismi proposti, si è ipotizzato che l'ossidazione del CO avvenga all'interfaccia supporto-metallo, oppure che avvenga un trasferimento di carica dalle vacanze elettroniche presenti sulla superficie del supporto verso le nanoparticelle di oro e che ciò attivi il metallo nella reazione di ossidazione [40].

Le nanoparticelle di oro risultano essere attive anche per la reazione di water gas shift (WGS), largamente utilizzata in ambito industriale per produrre idrogeno a partire da CO e acqua (Schema 3.1).



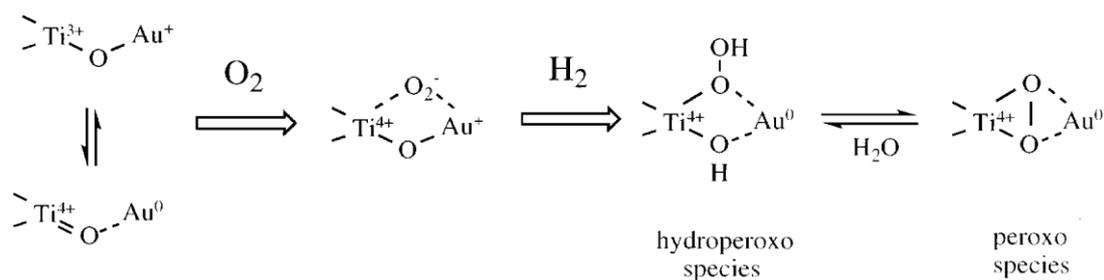
Schema 3.1 – Reazione di Water Gas Shift

I catalizzatori generalmente utilizzati sono a base di rame o ferro ma è stato verificato che anche l'oro possiede un'elevata attività nei confronti di questa reazione [41]. Il meccanismo di interazione fra le nanoparticelle di oro e l'idrogeno è ancora molto controverso e si hanno opinioni discordanti in merito: M. Haruta e D. Andreeva sostengono che l'oro riesca a dissociare direttamente l'idrogeno [41], mentre altri studi [42] mettono in dubbio il fatto che ciò possa avvenire.

3.3.2 OSSIDAZIONE DI ALCANI E ALCENI

L'ossidazione di alcani e alcheni viene condotta industrialmente utilizzando catalizzatori di tipo Pd/Al₂O₃. Impiegando catalizzatori a base di oro supportato su Co₃O₄, si riescono a riprodurre le stesse attività del catalizzatore di palladio nell'ossidazione degli alcani, mentre si riportano basse attività per quanto riguarda la reazione con alcheni [37]. Tuttavia è stato scoperto che l'oro risulta essere molto attivo per la reazione di epossidazione del propilene: in uno studio di M. Haruta [43], viene messa in evidenza la possibilità di ottenere ossido di propilene con una selettività del 99% utilizzando Au/TiO₂ con un'alimentazione costituita da propilene (10%), ossigeno (10%), idrogeno (10%) e argon (70%). La selettività risulta essere maggiore a basse

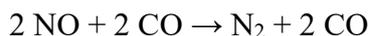
conversioni, per cui la reazione viene condotta mantenendo la conversione del propilene sul valore di 1%. Nello stesso lavoro è stato proposto anche un meccanismo di attivazione dell'ossigeno da parte del sistema metallo-supporto (illustrato nello Schema 3.2). All'interfaccia fra il metallo e il supporto si viene a creare un equilibrio fra le specie $Ti^{4+}=O-Au^0$ e $Ti^{3+}-O-Au^+$, l'ossigeno molecolare viene attivato dalla specie contenente il catione Ti^{3+} . Così facendo, il sistema a quattro centri reagisce con l'idrogeno per formare la specie idroperossido, la quale è in equilibrio con la specie attiva perossido. Quest'ultima rimane legata al supporto tramite il titanio mentre il propilene verrà principalmente adsorbito sulla superficie delle nanoparticelle di oro per poi formare il prodotto di epossidazione.



Schema 3.2 – Possibile meccanismo di attivazione dell'ossigeno da parte del catalizzatore [43].

3.3.3 REAZIONI CON NO_x

È stato visto che, in assenza di ossigeno, i catalizzatori a base di oro mostrano un'elevata efficienza nella reazione di riduzione del NO ad opera del CO (Schema 3.3), molto più alta del tradizionale sistema catalitico PGM a tre vie utilizzato nei motori a combustione [44].



Schema 3.3 – Riduzione di NO con CO catalizzata da oro

L'oro risulta essere attivo già ad una temperatura di 27°C, mentre a 150°C circa si ha la conversione completa del NO ad azoto molecolare. Inoltre questo sistema catalitico risulta essere molto più selettivo del catalizzatore PGM e meno sensibile ai fenomeni di disattivazione causati dall'umidità presente nell'atmosfera. Il limite principale nell'utilizzo del catalizzatore a base di oro è la sua scarsa attività in presenza di ossigeno, motivo per il quale questi sistemi non possono ancora essere utilizzati per purificare i fumi prodotti dai classici motori a combustione.

Catalizzatori di tipo Au/Al₂O₃ sono stati testati per la reazione di riduzione di NO con propilene. Il catalizzatore rimane inattivo in assenza di ossigeno ma si possono notare dei considerevoli miglioramenti già con l'aggiunta del 5% di O₂ nel flusso di alimentazione. Il

meccanismo proposto da M. Haruta prevede una iniziale ossidazione di NO a NO₂ seguita dalla riduzione del NO₂ ad azoto molecolare ad opera del propilene ^[44] (Schema 3.4).

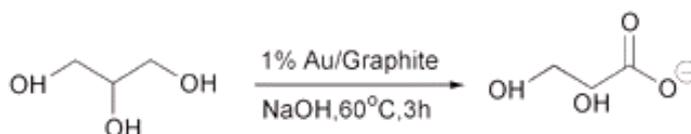


Schema 3.4 – Riduzione del NO con propilene

Questo meccanismo può avvenire anche a temperature più basse rispetto alla riduzione one-step del NO, la quale richiede una maggiore energia di attivazione. È stato anche verificato che questi sistemi catalitici possono essere notevolmente migliorati mediante l'aggiunta di Mn₂O₃: quest'ultimo è un ottimo catalizzatore per la reazione di ossidazione di NO a NO₂ e consente di aumentare l'attività catalitica dell'intero processo di riduzione velocizzando il primo step reattivo. Risultati simili, anche se con conversioni più basse, sono stati riportati anche riducendo il NO con altri idrocarburi come propano, etano ed etilene in presenza di Mn₂O₃-Au/Al₂O₃ ^[44].

3.3.4 OSSIDAZIONE DEL GLICEROLO

G.J. Hutchings et al. hanno investigato l'ossidazione selettiva del glicerolo con catalizzatori a base di oro, riuscendo ad ottenere una selettività totale verso la produzione di acido glicerico in condizioni blande (60°C, 3 bar) utilizzando idrossido di sodio in quantità stechiometriche (Schema 3.5). Lo stesso risultato è stato ottenuto con nanoparticelle di oro supportate sia su carbone attivo sia su grafite. Nello stesso studio viene messo in evidenza come i catalizzatori a base di oro risultino essere più attivi dei catalizzatori eterogenei a base di platino, notoriamente utilizzati per le ossidazioni di alcoli e polioli ^[45].



Schema 3.5 – Ossidazione selettiva del glicerolo con nanoparticelle di oro supportate.

Recentemente L. Prati et al. hanno riportato l'ossidazione del glicerolo su catalizzatori a base di oro con una selettività del 76% verso la formazione di acido glicerico ^[46] ottenendo una conversione del 90% ad una temperatura di 50°C in presenza di base. In questo caso il catalizzatore utilizzato è costituito da nanoparticelle di oro non supportate, sospese in acqua e opportunamente stabilizzate con vari agenti chelanti. Lo studio dimostra come la dimensione dei cluster nanoparticellari sia fortemente influenzata dal tipo di stabilizzante usato e così anche

le proprietà catalitiche dell'intero sistema. I catalizzatori stabilizzati con tetrakis-idrossipropilfosfonio cloruro (THPC) mostrano un'attività catalitica misurata in termini di TOF da 3 a 15 volte maggiore rispetto alle nanoparticelle stabilizzate con citrato di sodio o PVA.

Gli stessi autori in un lavoro precedente ^[47] hanno studiato l'effetto sinergico osservato aggiungendo il platino in lega nei catalizzatori a base di oro: è stata riscontrata un'elevata selettività dei catalizzatori di tipo AuPd/AC nell'ossidazione del glicerolo a glicerato utilizzando ossigeno come ossidante ad una temperatura di 50°C.

3.3.5 OSSIDAZIONE DEL GLUCOSIO

L'ossidazione aerobica del glucosio è stata per lungo tempo investigata utilizzando catalizzatori a base di platino e palladio. Questi ultimi permettono di ottenere elevati valori di conversione e alte selettività, ma presentano numerosi svantaggi fra cui una forte tendenza alla disattivazione, all'avvelenamento e un parziale leaching della fase attiva ^[48]. Gli studi condotti da L. Prati et al. hanno messo in luce le grandi potenzialità dei catalizzatori a base di oro nella reazione di ossidazione del glucosio. Come si può vedere dalla Figura 3.3, questi presentano delle ottime proprietà catalitiche con valori di TOF nettamente superiori rispetto ai catalizzatori con i quali erano stati condotti gli studi precedenti ^[48].

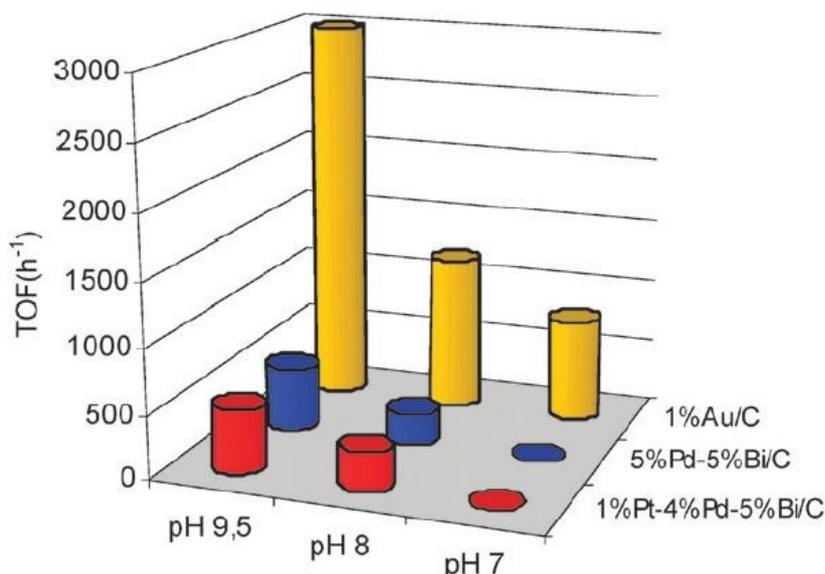
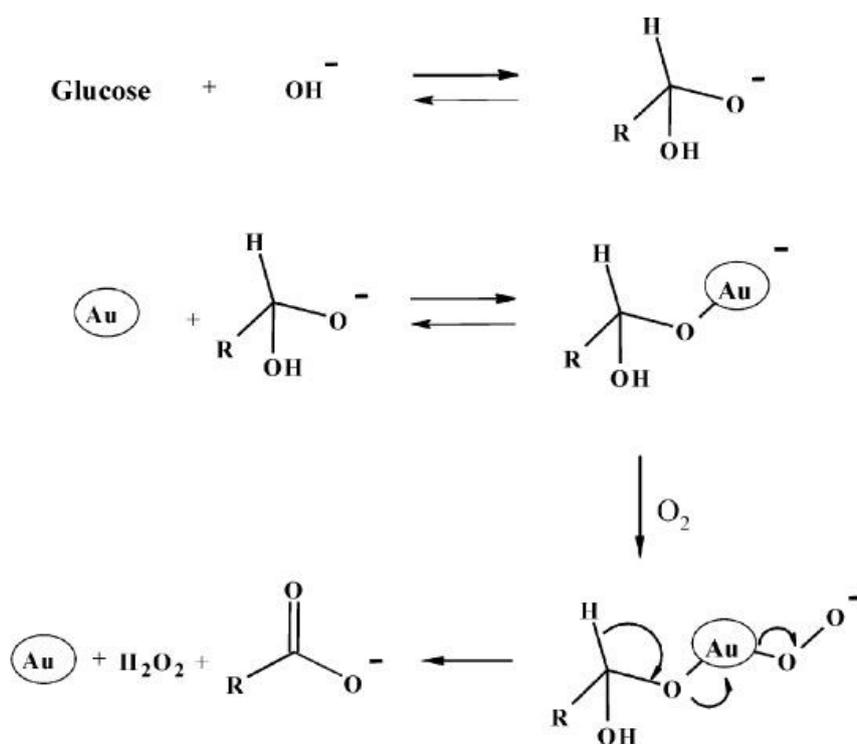


Figura 3.3 – Andamento dell'attività catalitica al variare del pH utilizzando catalizzatori a base di oro, platino, palladio e bismuto.

Ulteriori ricerche hanno permesso di individuare due punti chiave nella comprensione di questa reazione, ossia che i catalizzatori monometallici a base di oro sono attivi solo in presenza

di una base e che le nanoparticelle supportate hanno una stabilità maggiore rispetto ai sistemi colloidali, sebbene anche quest'ultime posseggano una certa attività catalitica [49,50].

L'ossidazione del glucosio ad acido gluconico con selettività del 99% è stata condotta da L. Prati et al. utilizzando 1% Au/AC a 50°C in condizioni di pH basico (7-9.5) [49]. Durante la reazione non si osserva nessuna isomerizzazione del glucosio a fruttosio e la selettività rimane alta anche a bassi valori di pH, sebbene la conversione diminuisca drasticamente. In un altro studio viene suggerito un meccanismo di reazione, illustrato nello Schema 3.6, che prevede l'ossidazione del gruppo aldeidico del glucosio tramite catalisi basica e la successiva coordinazione dell'ossigeno molecolare tramite un atomo di oro.



Schema. 3.6 – Meccanismo di reazione per la formazione di acido gluconico a partire da glucosio [50].

4. SCOPO DELLA TESI

Lo scopo di questo lavoro di tesi è lo sviluppo di un nuovo processo per l'ossidazione di glucosio ad acido glucarico con ossigeno e catalizzatori eterogenei a base di nanoparticelle. In particolare sono stati sintetizzati catalizzatori monometallici a base di oro e catalizzatori multimetallici contenenti oro ed altri metalli in lega. Tutti i catalizzatori sono stati preparati depositando i metalli sotto forma di nanoparticelle su carbone attivo. I sistemi catalitici più interessanti sono stati caratterizzati con TEM al fine di stimare le dimensioni medie delle particelle presenti sul supporto, la loro distribuzione e composizione.

Le prove di attività catalitica sono state condotte in un reattore batch di tipo autoclave utilizzando acqua come solvente, ossigeno puro come ossidante e lavorando in un range di temperatura compreso fra i 60 e i 90°C. Le reazioni sono state condotte in presenza di idrossido di sodio in quantità variabili. Le miscele di reazione ottenute sono state centrifugate al fine di allontanare il catalizzatore e le soluzioni sono state successivamente analizzate mediante HPLC.

Lo studio sull'attività dei catalizzatori è stato focalizzato sull'individuazione dei metalli e delle condizioni di reazione ottimali che permettano di aumentare la selettività in acido glucarico. Questo lavoro di tesi si propone quindi di individuare un catalizzatore potenzialmente utilizzabile per lo sviluppo di un processo di produzione dell'acido glucarico sostenibile sia da un punto di vista economico che ambientale.

5. PARTE SPERIMENTALE

In questo lavoro sperimentale ci si è soffermati principalmente su tre aspetti riguardanti il processo di sintesi di GA:

- *Sintesi dei catalizzatori*

Dopo aver effettuato uno screening iniziale sono stati selezionati i sistemi catalitici migliori ai fini della reazione di nostro interesse e su questi sono stati effettuati ulteriori studi di caratterizzazione e reattività

- *Ottimizzazione delle condizioni di reazione*

Sono stati valutati gli effetti sulla reazione che si hanno variando la temperatura, il pH e il tempo di reazione con lo scopo di individuare i parametri critici che influenzano la selettività della reazione

- *Metodo analitico*

È stato messo a punto un metodo analitico efficiente per la separazione e la determinazione degli acidi organici e dei monosaccaridi presenti nelle miscele di reazione

Gli strumenti utilizzati per l'analisi delle miscele di reazione e per la caratterizzazione dei catalizzatori sono i seguenti:

- *TEM (microscopio a trasmissione elettronica)*

Utilizzato per alcuni studi di caratterizzazione sui catalizzatori fra cui la stima delle dimensioni delle NPs, lo stato di aggregazione di quest'ultime su AC e la loro composizione

- *XRD (diffrazione a raggi X)*

Mediante questa tecnica è stato possibile determinare il diametro medio dei cristalliti metallici presenti nei catalizzatori

- *HPLC (cromatografia liquida ad alta pressione)*

Usata per l'analisi qualitativa e quantitativa delle miscele di reazione

- *ESI-MS (spettrometria di massa ad elettrospray)*

Utilizzata per la determinazione qualitativa dei composti formati nella reazione di ossidazione del GLU

5.1 MATERIE PRIME UTILIZZATE

Nella Tabella 5.1 sono riportate le caratteristiche dei composti chimici utilizzati per la sintesi dei catalizzatori, le prove di reattività e per la preparazione degli standard di calibrazione dell'HPLC. Tutti i composti sono stati utilizzati tal quali senza ulteriori trattamenti o purificazioni.

COMPOSTO	FORMULA	STATO	P.M.	PUREZZA
Glucosio	$C_6H_{12}O_6$	solido	180.16	>99%
Acido gluconico	$C_6H_{12}O_7$	solido	196.16	97%
Acido glucarico	$C_6H_{10}O_8$	solido	210.14	98%
Acido ossalico	$C_2H_2O_4$	solido	90.03	>99%
Acido tartarico	$C_4H_6O_6$	solido	150.09	>99%
Acido tartronico	$C_3H_4O_5$	solido	120.06	>97%
Acido lattico	$C_3H_6O_3$	liquido	90.08	85%
Acido formico	CH_2O_2	liquido	46.02	>95%
Acido glicerico	$C_3H_6O_4$	liquido	106.08	
Acido glicolico	$C_2H_4O_3$	solido	76.05	99%
Arabinosio	$C_5H_{10}O_5$	solido	150.13	>98%
Polivinilalcol	$(C_2H_4O)_n$	solido	13.000-23.000	87-89% idrolizzato
Acido tetracloroaurico	$HAuCl_4 \cdot xH_2O$	solido	339.79	>99%
Nitrato di bismuto	$Bi(NO_3)_3 \cdot 5H_2O$	solido	485.07	98%
Cloruro di rutenio	$RuCl_3 \cdot 3H_2O$	solido	261.47	>99%
Cloruro rameoso	$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	solido	170.48	>99%
Solfato ammonico ferroso	$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	solido	392.14	99%
Nitrato di argento	$AgNO_3$	solido	169.87	>99%
Acido esacloroplatinico	$H_2PtCl_6 \cdot xH_2O$	liquido	409.81	>99%
Cloruro di palladio	$PdCl_2$	solido	177.33	99%
Idrossido di sodio	$NaOH$	pellet	39.99	100%
Sodio boro idruo	$NaBH_4$	solido	37.83	>99%
Carbone attivo NORIT SX1G	/	polvere	/	/

Tabella 5.1 Materie prime utilizzate

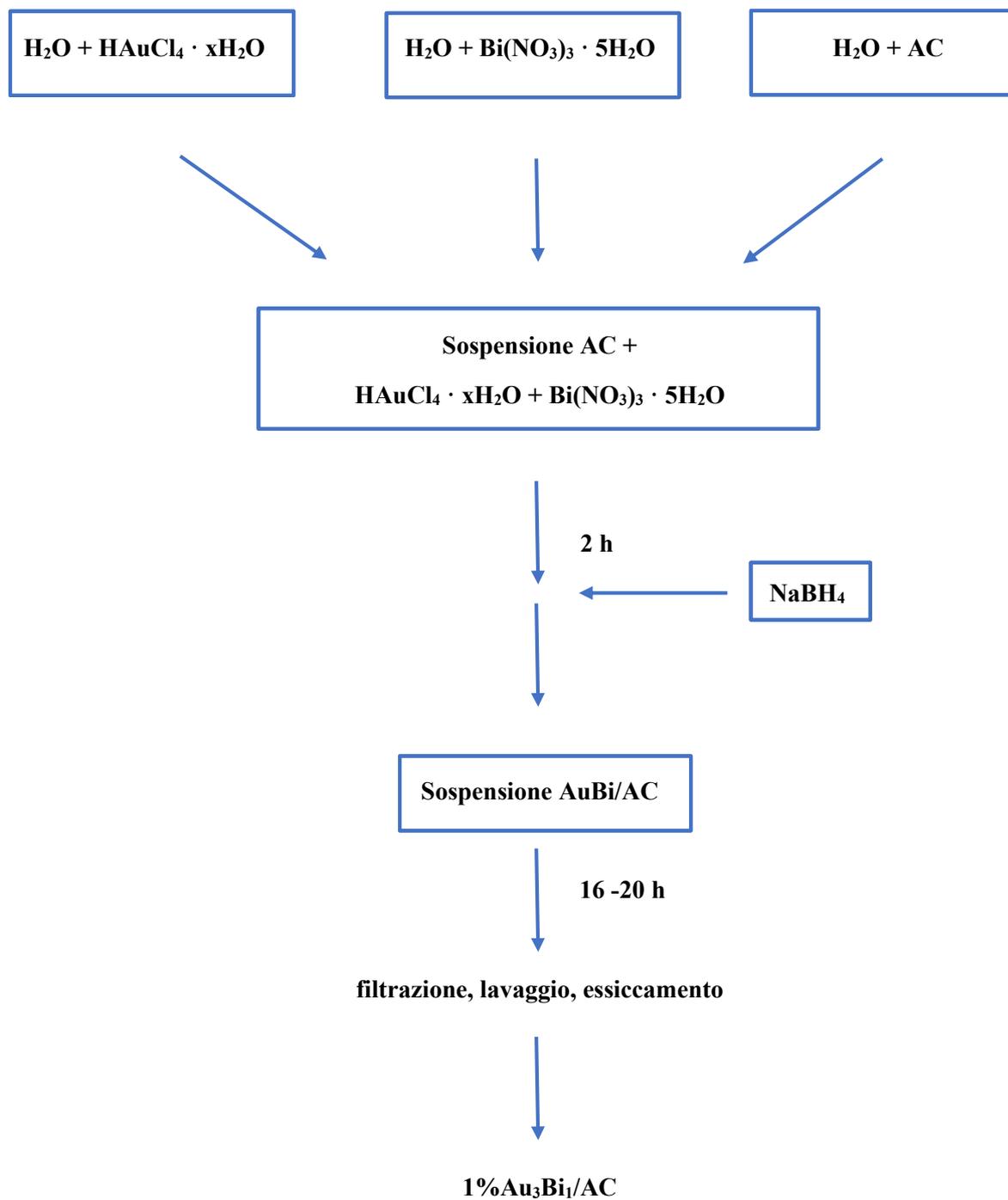
5.2 SINTESI DEI CATALIZZATORI

I sistemi catalitici studiati sono stati sintetizzati seguendo una procedura già descritta in letteratura ^[26] che permette di preparare catalizzatori contenenti diversi metalli in lega. Tale metodo prevede inizialmente la preparazione delle soluzioni acquose contenenti ciascuna un sale precursore dei metalli che si vogliono depositare. Nel caso del catalizzatore monometallico di oro è stata preparata solamente la soluzione contenente l'acido tetracloroaurico. Viene quindi preparata una sospensione di AC in acqua alla quale saranno unite le soluzioni contenenti i sali precursori. La miscela viene posta sotto agitazione (500 rpm) per 2 h dopodiché viene aggiunto sodio boro idruro in leggero eccesso, la cui quantità è stata calcolata mediante i potenziali di riduzione. Quest'ultimo funge da riducente e permette ai metalli dei sali precursori disciolti di essere ridotti allo stato elementare e depositarsi direttamente sul supporto. A questo punto la miscela viene lasciata sotto agitazione (500 rpm) per 16-20 h per poi essere filtrata. Il filtrato viene lavato con acqua deionizzata ed infine seccato in stufa per una notte alla temperatura di 120°C.

Tutti i catalizzatori sono stati sintetizzati in modo da ottenere un metal loading totale dell'1%. I sistemi bimetallici presentano un rapporto molare Au:Me₁ di 3:1 mentre i catalizzatori trimetallici sono stati preparati utilizzando un rapporto Au:Me₁:Me₂ di 3:1:1 dove Me_{1,2} sta ad indicare un metallo fra Bi, Cu, Ag, Fe, Ru, Pt o Pd.

Il vantaggio principale di questa metodica è la sua relativa semplicità dato che non vengono utilizzati agenti stabilizzanti, non è necessario aggiustare il pH ed inoltre si lavora a temperatura ambiente. D'altro canto, però, si è notato dagli studi di caratterizzazione che in certi casi l'oro tende a subire dei fenomeni di segregazione sul supporto probabilmente per via dell'assenza di stabilizzante. Alla luce di ciò è stato preparato anche un catalizzatore monometallico contenente NPs di oro stabilizzate con PVA ed è stata testata la sua attività per confrontarla con quella del catalizzatore non stabilizzato.

Il metodo di preparazione di quest'ultimo catalizzatore prevede l'applicazione della stessa procedura appena discussa fatta eccezione per l'aggiunta del PVA alla soluzione del sale precursore prima di essere depositato su AC. In accordo con quanto riportato negli studi di A. Villa e L. Prati ^[46] la quantità di stabilizzante gioca un ruolo fondamentale nella morfologia del catalizzatore e in questo caso è stato utilizzato, come suggerito, un rapporto PVA:Au di 0.5:1.



Schema 5.1 – Stadi per la sintesi del catalizzatore bimetallico 1%Au₃Bi₁/AC

Di seguito viene riportata come esempio la sintesi del catalizzatore bimetallico 1%Au₃Bi₁/AC:

- Sono stati disciolti 0.06g di HAuCl₄ · xH₂O in 15 ml di acqua DI

- Sono stati disciolti 0.0285g di $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ in 15 ml di acqua DI
- Sono stati sospesi 4.4g di AC NORIT SX 1G in 60 ml di acqua DI
- Le tre soluzioni sono state riunite e poste sotto agitazione per 2 h
- Sono stati disciolti 0.01g di NaBH_4 in 5 ml di acqua DI e sono stati aggiunti alla miscela
- La miscela è rimasta sotto agitazione fino al giorno seguente
- La sospensione è stata filtrata su imbuto Buckner con carta da filtro Filterlab 1300/80
- Il filtrato è stato abbondantemente lavato con acqua DI
- Il catalizzatore ottenuto è stato essiccato in stufa a 120°C per una notte

La sintesi del catalizzatore trimetallico è stata effettuata apportando alcune modifiche ad un metodo di preparazione già descritto in letteratura da L. Prati et al. ^[51]:

- Sono stati disciolti 0.06g di $\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ in 15 ml di acqua DI
- Sono stati disciolti 0.0241g di $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ in 15 ml di acqua DI
- Sono stati sospesi 5.855g di AC NORIT SX 1G in 60 ml di acqua DI
- Le tre soluzioni sono state riunite e poste sotto agitazione per 2 h
- Sono stati disciolti 0.01g di NaBH_4 in 5 ml di acqua DI e sono stati aggiunti alla miscela
- Sono stati disciolti 0.0285g di $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ in 15 ml di acqua DI e sono stati aggiunti alla miscela
- La miscela è rimasta sotto agitazione per 2 h
- Sono stati disciolti 0.01g di NaBH_4 in 5 ml di acqua DI e sono stati aggiunti alla miscela
- La miscela è rimasta sotto agitazione fino al giorno seguente
- La sospensione è stata filtrata su imbuto Buckner con carta da filtro Filterlab 1300/80
- Il filtrato è stato abbondantemente lavato con acqua DI
- Il catalizzatore ottenuto è stato essiccato in stufa a 120°C per una notte

Di seguito vengono riportati tutti i catalizzatori sintetizzati con le relative caratteristiche:

CATALIZZATORE	SUPPORTO	RAPPORTO MOLARE		SALI PRECURSORI
		Au: Me		
Au/AC	AC NORIT SX 1G	/		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$
$\text{Au}_{\text{pVA}}/\text{AC}$	AC NORIT SX 1G	/		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$
AuBi/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
AuCu/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
AuFe/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
AuRu/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
AuAg/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ AgNO_3
AuPd/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ PdCl_2
AuPt/AC	AC NORIT SX 1G	3:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$
AuPtBi/AC	AC NORIT SX 1G	3:1:1		$\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Tabella 5.2 Catalizzatori sintetizzati

5.3 CARATTERIZZAZIONE DEI CATALIZZATORI

Nell'ambito della catalisi la caratterizzazione gioca un ruolo fondamentale nello studio dei sistemi catalitici. Questa rappresenta infatti un importante mezzo di verifica mediante il quale si possono ottenere informazioni preziose sulla struttura e sulla composizione chimica della superficie. Ciò è utile da un lato per avere un feedback sul processo di sintesi utilizzato, dall'altro per investigare le proprietà catalitiche correlandole direttamente alle caratteristiche della superficie.

5.3.1 TEM (MICROSCOPIA ELETTRONICA IN TRASMISSIONE)

La microscopia elettronica in trasmissione è una tecnica analitica utilizzata per la caratterizzazione delle superfici e permette di ottenere ingrandimenti con risoluzioni molto elevate. La tecnica prevede l'invio di un fascio di elettroni su un campione in condizioni di vuoto (10^{-6} torr), in assenza di vibrazioni e di campi magnetici esterni. Il campione è costituito da una sezione di pochi nanometri del materiale di partenza, il suo spessore dipende dal voltaggio di accelerazione ma generalmente si utilizzano spessori che vanno da 50 a 500 nm. Il portacampione consiste di una griglia di rame, molibdeno, oro o platino con un diametro compreso fra i 2.5 e i 3 mm sul quale viene depositato l'analita. La sorgente di elettroni è un filamento di tungsteno che genera elettroni tramite emissione termoionica. Questi vengono accelerati da un potenziale elettrico (100-300 keV), collimati ed infine focalizzati sul campione grazie all'utilizzo di apposite lenti. Gli elettroni generati interagiscono con la superficie del campione e una parte di essi viene "trasmessa" senza subire l'interazione con il campione. Questa frazione di elettroni viene catturata da uno schermo fluorescente, sensibile ad essi, sul quale si ottiene un'immagine reale del campione ingrandita da 10^3 fino a 10^6 volte. Uno schema dell'intero apparato strumentale è mostrato nella Figura 5.1.

Con i microscopi di tipo STEM (microscopio elettronico a trasmissione in scansione) è possibile effettuare un rastering del campione ovvero hanno la possibilità di focalizzare il fascio di elettroni su sezioni molto piccole della superficie da analizzare in modo da ottenere un'immagine ad elevatissimo dettaglio. Con questa tecnica è possibile ottenere immagini risolte anche su scala atomica.

I catalizzatori caratterizzati in questo lavoro sono stati preparati con la seguente procedura: il campione da analizzare è stato sospeso in etanolo e trattato mediante ultrasuoni per 15 minuti. La sospensione è stata depositata su di un multifoil holey-carbon film sostenuto da una griglia di rame ed infine il preparato è stato asciugato a 100°C . Le osservazioni sono state effettuate con un microscopio TEM/STEM FEI TECNAI F20 a 200 KeV.

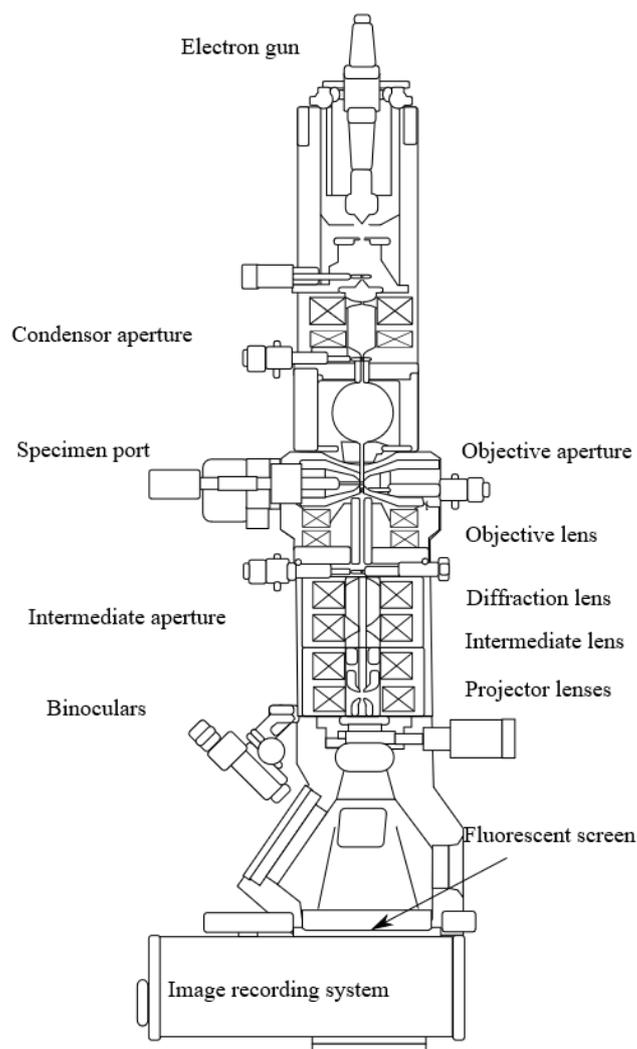


Figura 5.1 – Schema di un microscopio elettronico a trasmissione

5.3.2 XRD (DIFFRATTOMETRIA A RAGGI X)

La diffrazione a raggi X è una tecnica analitica ampiamente utilizzata per lo studio dei solidi cristallini e permette di determinare diverse proprietà del materiale fra cui la cristallinità di un solido, la stima della grandezza dei cristalliti, le fasi presenti, le dimensioni delle celle unitarie e il tipo di atomi che la compongono. Lo strumento possiede una sorgente che permette di inviare un fascio di raggi X collimato sul campione, il quale viene diffratto nello spazio in direzioni che dipendono dalla fase cristallina presente sul campione. Se la distanza fra i piani del reticolo è dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda dei raggi X, fissata una λ si avrà un'interferenza costruttiva solo per determinati angoli di incidenza, come mostrato nella Figura 5.2.

Tale fenomeno è descritto dalla legge di Bragg:

$$n \lambda = 2 d \sin \theta$$

n = ordine di diffrazione (intero)

λ = lunghezza d'onda del raggio incidente

d = distanza tra i piani reticolari

θ = angolo di incidenza della radiazione

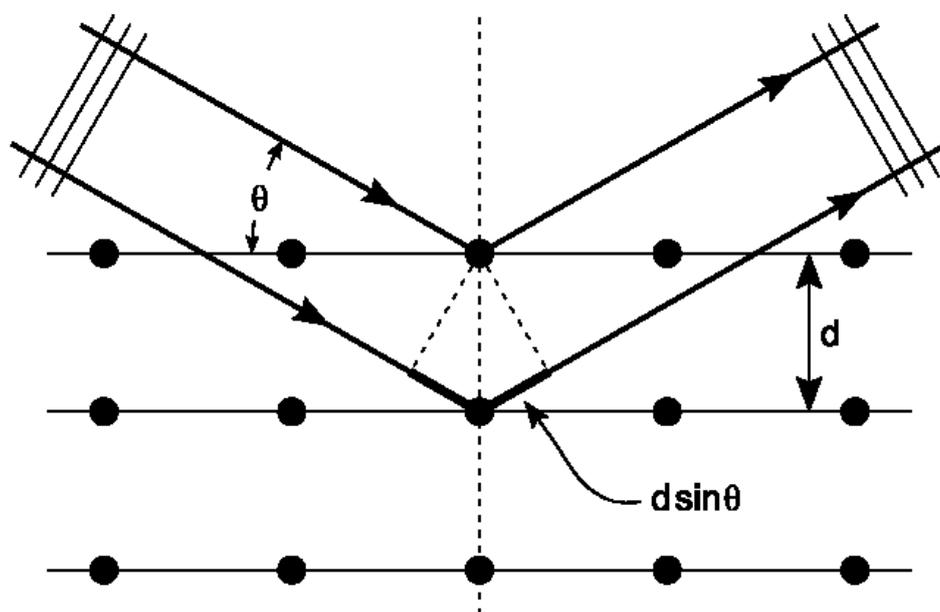


Figura 5.2 – Diffrazione dei raggi X su un reticolo cristallino

Sul diffrattogramma viene riportata l'intensità della radiazione riflessa in funzione di 2θ e la dimensione dei cristalliti è ricavabile mediante l'equazione di Scherrer:

$$d = \frac{K \lambda}{b \cos \theta}$$

K = fattore di forma (costante adimensionale)

b = larghezza del riflesso misurata a metà dell'intensità

Mediante questa tecnica analitica è stato possibile stimare le dimensioni medie delle NPs depositate sul supporto e avere un riscontro con la caratterizzazione della superficie eseguita con il TEM. Le analisi XRD sono state effettuate con un diffrattometro Bragg-Brentano X'pertPro Panalytical utilizzando come sorgente della radiazione X un anodo di rame (radiazione $K\alpha$ a $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). Essendo uno dei riflessi principali dell'oro centrato a $44^\circ 2\theta$,

sono stati registrati i riflessi da 41 a 47 °2 θ , con un'acquisizione ogni 0.08 °2 θ ciascuna della durata di 1.5 secondi.

5.4 TEST CATALICI

Una volta sintetizzati i catalizzatori sono stati condotti dei test al fine di valutare l'efficienza dei singoli sistemi catalitici e per confrontare le attività e le selettività ottenute con ognuno di essi. Le prove di reattività e il metodo di analisi utilizzati sono riportati nei seguenti paragrafi.

5.4.1 REATTORE

Le reazioni sono state condotte in laboratorio con un reattore batch di tipo autoclave (mostrato nella Figura 5.3). Il reattore è costituito da un vessel d'acciaio collegato alla testa del reattore tramite una giunzione flangiata. Per assicurare la tenuta al variare della temperatura è presente una guarnizione di teflon ancorata alla parte superiore del vessel. Sulla testa del reattore è presente un manometro, un capillare di acciaio cavo per l'introduzione di una termocoppia, una linea di carico e una di scarico, entrambe controllate da una valvola di intercettazione.

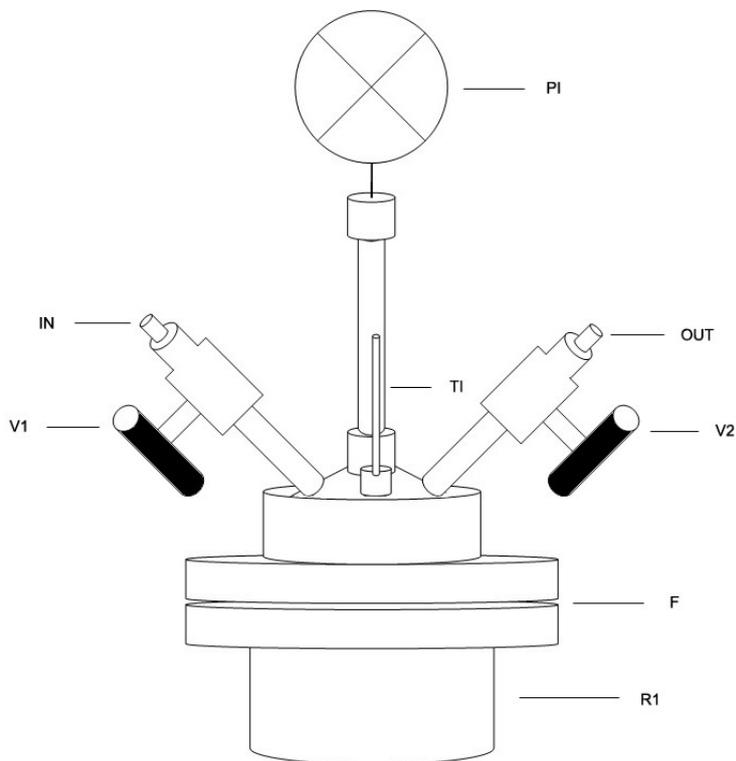


Figura 5.3 – Reattore batch utilizzato per i test catalitici

Il reattore è composto da:

- R1: vessel cilindrico in acciaio con volume libero pari a 50 ml. All'interno è presente un agitatore magnetico. Sulla giunzione flangiata è presente un solco circolare all'interno del quale è collocata una guarnizione di teflon.
- F: accoppiamento a flange costituito da due flange piane tenute insieme da sei bulloni
- TI: tubo capillare in acciaio per l'inserimento di un misuratore di temperatura a termocoppia. Il misuratore è pescante ma non è a contatto con la miscela di reazione
- PI: indicatore di pressione analogico WIKA 315SS (0-10 bar)
- IN: linea in ingresso per il carico di reagenti in fase gas
- V1: valvola di intercettazione per la linea di carico
- OUT: linea in uscita per lo scarico di reagenti in fase gas
- V2: valvola di intercettazione per la linea di scarico

5.4.2 CONDIZIONI OPERATIVE

Tutte le reazioni sono state condotte in fase liquida utilizzando come reagente una soluzione acquosa di glucosio al 5% in peso con un volume totale di 15 ml (misurato con un cilindro graduato). A questa soluzione vengono aggiunti il catalizzatore e l'idrossido di sodio in rapporto variabile. Dopo aver posto un agitatore magnetico dentro il vessel, questo viene avvitato alla testa del reattore mediante la giunzione a flangia e vengono pulite le linee fluendo dentro ossigeno puro. A questo punto viene caricato ossigeno in eccesso stechiometrico (10 bar) che funge da ossidante per la miscela di reazione. Il reattore viene posto a contatto con un mantello riscaldante che permette di raggiungere la temperatura di set-point in pochi minuti tramite un controllo del riscaldamento a feedback. Infine viene attivata l'agitazione magnetica (400 rpm) allo scopo di garantire uno scambio di materia ottimale e viene inserita una termocoppia all'interno di TI (vedi paragrafo precedente) per monitorare la temperatura della miscela di reazione. Una volta trascorso il tempo di reazione stabilito per i test catalitici, il reattore viene posto in un bagno di ghiaccio al fine di permettere un raffreddamento veloce e infine sfiatato. A questo punto viene smontato il vessel dal quale si preleva la miscela di reazione che sarà sottoposta agli opportuni trattamenti per essere poi analizzata.

5.4.3 TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Una volta terminata la reazione, la miscela ottenuta viene posta all'interno di una provetta per centrifuga e viene centrifugata a 4300 rpm per 15 minuti. Ciò permette di separare il catalizzatore precedentemente sospeso nella miscela di reazione e prelevare il surnatante

contenente i prodotti di reazione. Il volume del surnatante viene accuratamente misurato con un cilindro graduato poiché sarà utilizzato come dato per la determinazione delle rese e delle selettività dei prodotti ottenuti. Una parte della miscela di reazione viene conservata in un vial e dopo essere stata opportunamente etichettata viene posta in frigorifero per evitare l'eventuale degradazione di composti labili nel tempo che intercorre fra il trattamento del campione e l'analisi HPLC.

5.5 ANALISI QUANTITATIVA

I campioni prelevati da ogni miscela di reazione sono stati esaminati tramite analisi HPLC per eseguire una determinazione qualitativa e quantitativa che ha permesso di correlare di volta in volta, rese e selettività nei prodotti ottenuti in funzione dei parametri operativi che venivano investigati durante una particolare serie di prove.

5.5.1 HPLC (CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ALTA PRESSIONE)

La cromatografia liquida ad alta pressione è una tecnica largamente utilizzata nel campo della chimica analitica che permette di separare, identificare e quantificare i singoli composti presenti all'interno di una miscela di reazione. Differisce dalla cromatografia liquida tradizionale per via delle alte pressioni utilizzate, che possono andare dai 20 ai 300 bar, mentre nella cromatografia liquida ordinaria la forza motrice è data solo dalla forza di gravità. Come in tutte le tecniche cromatografiche la separazione è resa possibile grazie alla diversa ripartizione dei singoli analiti fra la fase stazionaria presente all'interno della colonna e la fase mobile costituita dal solvente.

Generalmente una moderna apparecchiatura HPLC è dotata di un sistema di trattamento degli eluenti, una pompa, un sistema di iniezione, una o più colonne di separazione, uno o più rivelatori ed infine un software che permette l'elaborazione dei segnali generati dai rivelatori.

- Sistema di trattamento degli eluenti

Il sistema di trattamento degli eluenti prevede lo stoccaggio di uno o più solventi all'interno di appositi contenitori di vetro. Prima di arrivare al miscelatore gli eluenti vengono degassati mediante un degassatore (pompa da vuoto, distillatore, riscaldatore, agitatore meccanico o gorgogliatore). Alcuni strumenti contengono anche dei filtri per allontanare eventuali solidi sospesi nel solvente. Le analisi HPLC possono essere effettuate usando due diversi regimi di eluizione. Si chiama eluizione a gradiente quella che si ottiene utilizzando una miscela di due

o più solventi con polarità diversa, la cui composizione viene variata in maniera programmata nel tempo. Si chiama eluizione isocratica quella che si ottiene con un singolo solvente o miscela di solventi di composizione costante.

- *Pompa*

Le pompe utilizzate per HPLC sono principalmente di due tipi: reciprocanti (più diffuse) e a siringa (o spostamento). Le pompe reciprocanti sono formate da una piccola camera in cui il solvente viene pompato dal movimento di un pistone a sua volta azionato da un motore elettrico; due valvole che si aprono in modo alternato controllano il flusso del solvente in ingresso e in uscita dal cilindro. Questo tipo di pompe produce un flusso pulsato che viene stabilizzato da uno smorzatore di pulsazioni. Le pompe a spostamento consistono in delle camere a forma di siringa munite di un pistone attivato da un motore collegato ad un meccanismo a vite. L'eluente viene spinto dal pistone verso la colonna.

- *Sistema di iniezione del campione*

Il metodo di iniezione più diffuso è la valvola a loop. Tale dispositivo consente di campionare una quantità di liquido compresa fra 1 μl e 100 μl . Esistono dei sistemi di autoiniezione costituiti da un campionatore automatico programmabile e una siringa per introdurre volumi che vanno da 1 μl a più di 1 ml. Nella Figura 5.4 è illustrato il meccanismo di funzionamento di una valvola a loop a sei vie.

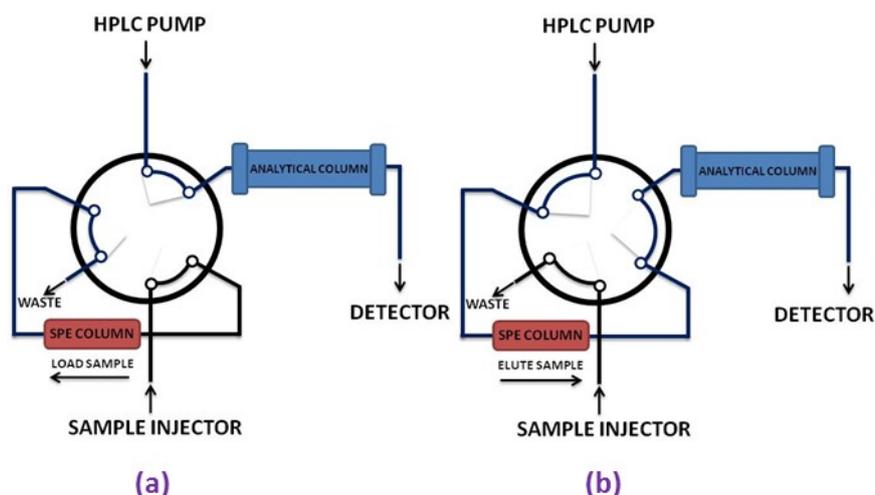


Figura 5.4 – Schema di funzionamento di una valvola a loop nella a) posizione di carica e b) nella posizione di analisi

- *Colonna*

Le colonne per HPLC sono costituite da tubi di acciaio inox, o talvolta PEEK (polietere-eterochetone), al cui interno viene collocato un riempimento che funge da fase stazionaria. Il diametro delle particelle che costituiscono il riempimento è uno dei parametri fondamentali che influenzano l'efficienza della separazione cromatografica e generalmente è compreso in un range che va dai 2 μm ai 50 μm . Colonne di questo genere presentano tipicamente un'efficienza di circa 10000 piatti/colonna. È possibile utilizzare anche una colonna di protezione a monte della colonna di separazione per incrementare la vita di quest'ultima eliminando il particolato e i componenti che si legano irreversibilmente alla fase stazionaria.

- *Rivelatore*

I rivelatori per HPLC si suddividono in due categorie: i rivelatori delle proprietà di massa (indice di rifrazione, costante dielettrica, densità) e i rivelatori delle proprietà del soluto (assorbimento UV, fluorescenza, corrente di diffusione). Fra i più comuni vi è il rivelatore ad assorbimento UV-visibile con Diode Array (DAD) che consiste in uno spettrofotometro a scansione con un sistema ottico a reticolo. Questo rivelatore utilizza una serie di fotodiodi che fungono da elementi sensibili al passaggio della radiazione luminosa. Un altro rivelatore molto utilizzato è il RID (rivelatore a indice di rifrazione) che si basa su una misura differenziale di indice di rifrazione ottenuta confrontando il segnale della cella di riferimento con quella di analisi.

Per le analisi dei campioni è stata utilizzata un'apparecchiatura HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity Quaternary LC. Le misure sono state condotte in condizioni di eluizione isocratica utilizzando come solvente H_2SO_4 0.0025M in acqua UPP con un flusso di 0.500 ml/min. Il sistema di iniezione consiste in una valvola a sei vie di tipo loop con un volume di campionamento di 20 μl . Per la separazione analitica sono state adoperate due colonne ad esclusione ionica Rezex ROA-Organic Acid H^+ (8%) di dimensioni 300x7.8 mm, la fase stazionaria è costituita da una resina solfonica con particelle di diametro pari a 8 μm . Le due colonne sono state collegate in serie senza pre-colonna. Lo strumento utilizza due rivelatori: un UV-DAD che per queste analisi è stato settato alla lunghezza d'onda di 202 nm e un rivelatore a indice di rifrazione. Il compartimento colonne è stato termostato a 80°C mentre il RID è stato mantenuto ad una temperatura costante di 40°C.

5.6 ANALISI QUALITATIVA

Data la complessità delle miscele di reazione ottenute e la mancanza in letteratura di studi approfonditi sull'ossidazione del GLU, è stato necessario eseguire alcune analisi qualitative mediante spettroscopia di massa per identificare alcuni composti incogniti presenti fra i sottoprodotti.

5.6.1 ESI-MS (SPETTROSCOPIA DI MASSA A ELETTROSPRAY)

La spettrometria di massa è una tecnica analitica utilizzata generalmente per ottenere informazioni qualitative su un campione in seguito alla ionizzazione degli analiti. Il campione viene inserito all'interno della sorgente di ionizzazione dello strumento grazie alla quale le molecole presenti acquisiscono delle cariche positive o negative. Gli ioni vengono inviati all'analizzatore a quadrupolo, dentro il quale viene applicato un campo magnetico che costringe gli ioni a percorrere una traiettoria oscillante diversa per ogni rapporto m/z (massa/carica). A questo punto gli ioni giungono al rivelatore in un punto diverso a seconda del loro rapporto m/z . Quando gli ioni colpiscono il rivelatore viene generato un segnale elettrico che viene registrato da un computer. Lo spettro ottenuto mostra l'abbondanza relativa di ogni specie registrata al variare del rapporto m/z .

Negli ultimi decenni la spettrometria di massa con ionizzazione a elettrospray (ESI-MS) è emersa come una delle tecniche più versatili nella chimica analitica qualitativa grazie alla possibilità di determinare il peso degli ioni molecolari senza frammentare le molecole, fornendo quindi dei dati abbastanza facili da interpretare. La ionizzazione mediante elettrospray prevede il passaggio del campione in un capillare sottoposto ad un campo elettrico all'interno del quale il campione viene nebulizzato e ionizzato dando origine ad un cono di Taylor (mostrato in Figura 5.5). A questo punto si ha la formazione di un aerosol contenente ioni con cariche positive e negative. Man mano che il solvente evapora aumenta la densità di carica delle gocce contenenti gli ioni fino a quando, raggiunta una soglia critica, si verifica un'esplosione coulombiana e gli ioni vengono espulsi dalla goccia.

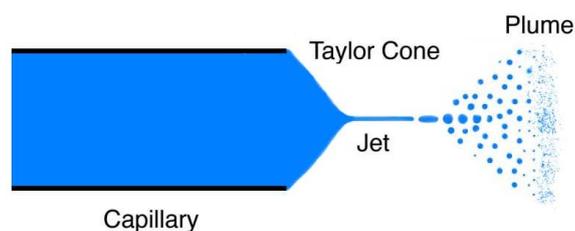


Figura 5.5 – Sorgente di ionizzazione con elettrospray

Le analisi vengono effettuate mediante scansione in ioni positivi e negativi. Nel primo caso si osservano dei segnali relativi agli ioni molecolari di tipo $M+1$ (dovuti all'aggiunta di un protone), $M+23$ (aggiunta di uno ione sodio) oppure $M+1+23$ (dovuti alla contemporanea aggiunta di un protone e di uno ione sodio). Nello spettro relativo agli ioni negativi si trovano generalmente gli ioni molecolari con massa $M-1$ o $M+35$ (dovuti all'espulsione di un protone dalla molecola iniziale o all'aggiunta di uno ione cloruro).

Le analisi ESI-MS sono state eseguite sui campioni tal quali previa aggiunta di metanolo (utilizzato come solvente per l'analisi) e di acido formico (utilizzato per regolare il pH e per evitare la precipitazione di alcuni esteri che si formerebbero con l'aggiunta del metanolo). Tutte le misure sono state effettuate con uno spettrometro Waters-Micromass ZQ 4000.

6. RISULTATI E ANALISI DEI DATI

L'obiettivo principale di questo lavoro di tesi è stato quello di effettuare uno screening su diversi catalizzatori al fine di individuare il più selettivo verso la sintesi di GA. Una volta testati tutti i sistemi catalitici si è passati all'ottimizzazione di alcuni dei parametri operativi, nello specifico è stato valutato l'effetto del pH, della temperatura e del tempo di reazione. Gran parte del lavoro è stato anche focalizzato sullo sviluppo di un metodo analitico in grado di soddisfare le esigenze analitiche alla base di questo studio. Di seguito viene riportato il procedimento con il quale è stata messa a punto una metodica analitica appositamente realizzata per questo lavoro di tesi.

6.1 SVILUPPO DEL METODO ANALITICO

Durante la prima fase del lavoro di tesi sono stati ricercati in letteratura i possibili composti che si producono dalla reazione di ossidazione del glucosio. Di questi sono stati preparati dei campioni standard al fine di eseguire una calibrazione per ognuno di loro. Alcuni prodotti di reazione sono stati calibrati in un secondo momento poiché è stato possibile identificarli solo mediante un confronto incrociato dei dati ottenuti analizzando le miscele di reazione all'HPLC e all'ESI-MS. L'identificazione dei prodotti e la loro separazione si è rivelata particolarmente complicata per via della complessa composizione delle miscele di reazione e per via delle similarità strutturali fra i composti da separare.

L'efficienza della separazione in un'analisi cromatografica è regolata dall'equazione di van Deemter:

$$H = A + \frac{B}{u} + C_S u + C_M u$$

H = altezza del piatto teorico

A = coefficiente relativo ai percorsi multipli

B = coefficiente di diffusione longitudinale

C_S = coefficiente di trasferimento di massa per la fase stazionaria

C_M = coefficiente di trasferimento di massa per la fase mobile

L'altezza del piatto teorico è la quantità di impaccamento minima necessaria affinché il soluto raggiunga un equilibrio fra la fase stazionaria e la fase mobile. Minore è l'altezza del piatto

teorico, maggiore sarà il numero di piatti teorici della colonna e quindi più efficiente sarà la separazione cromatografica.

Il coefficiente A tiene conto dell'allargamento della banda dovuto alla molteplicità dei percorsi che può effettuare il soluto che passa attraverso l'impaccamento. Questa variabilità fa sì che non tutte le molecole giungano al rivelatore nello stesso tempo creando di fatto un allargamento della banda visibile nel cromatogramma.

Il coefficiente B è una misura dei fenomeni diffusivi che avvengono dentro la colonna nel momento in cui un soluto si sposta da una zona a maggiore concentrazione ad una a minore concentrazione.

I termini C_S e C_M tengono conto del tempo impiegato dal soluto per raggiungere l'equilibrio di ripartizione fra la fase mobile e la fase stazionaria e risentono di una complessa dipendenza dalla velocità del solvente.

Tutti questi fattori vengono influenzati dalla velocità del solvente (indicata con u nell'equazione di van Deemter), dalla temperatura alla quale viene effettuata l'analisi, dalla dimensione particellare dell'impaccamento e dagli equilibri di ripartizione del soluto fra le due fasi.

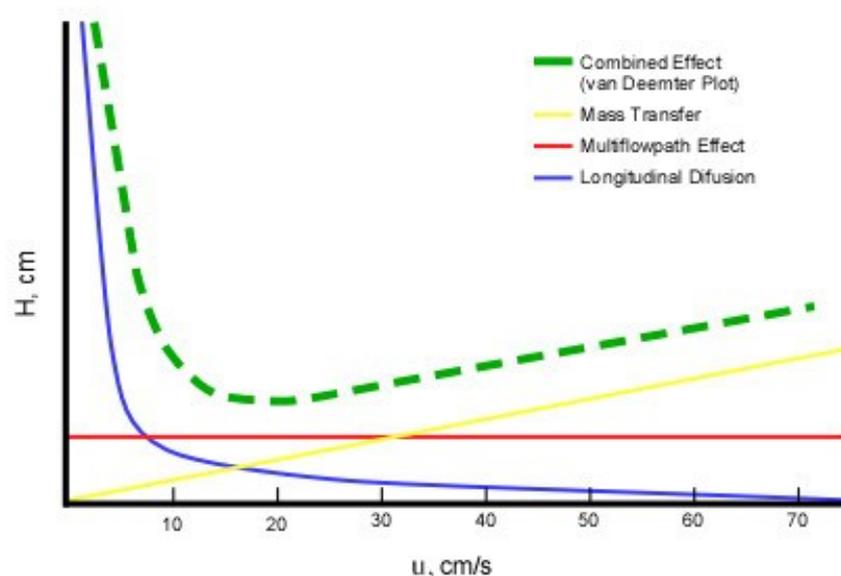


Figura 6.1 – Plot di van Deemter che mostra la dipendenza dei coefficienti A, B e C dalla velocità del solvente. Il punto di minimo della linea tratteggiata rappresenta la condizione ottimale dove H è minimo e il numero di piatti teorici è più alto.

Sono state dunque effettuate diverse analisi di prova, variando solo un parametro per ogni genere di prova, per ridurre al minimo H e in generale per identificare il metodo analitico migliore. In particolare è stato investigato l'effetto dei seguenti parametri partendo dalla

colonna in nostra dotazione (Rezex ROA H⁺): flusso, temperatura, pH del campione, tipo di colonna e infine numero di colonne. Le condizioni di partenza sono state decise arbitrariamente, prendendo come linee guida quelle indicate nel manuale operativo delle colonne.

- *Flusso*

I cromatogrammi seguenti sono stati ottenuti iniettando una miscela standard contenente i tre composti presenti in maggiore quantità nelle miscele di reazione: GLU, GLA e GA. I campioni sono stati acidificati fino a pH 2 con H₂SO₄ concentrato. Le analisi sono state effettuate variando il flusso dell'eluente (0.300-0.450-0.750 ml/min) e mantenendo costanti tutti gli altri parametri (temperatura, pH del campione, colonna). Il primo picco è relativo all'acido solforico mentre la banda che si nota qualche minuto dopo comprende tutti e tre gli analiti. Come si evince dai cromatogrammi, in tutti e tre i casi non vi è separazione fra i tre componenti iniettati.

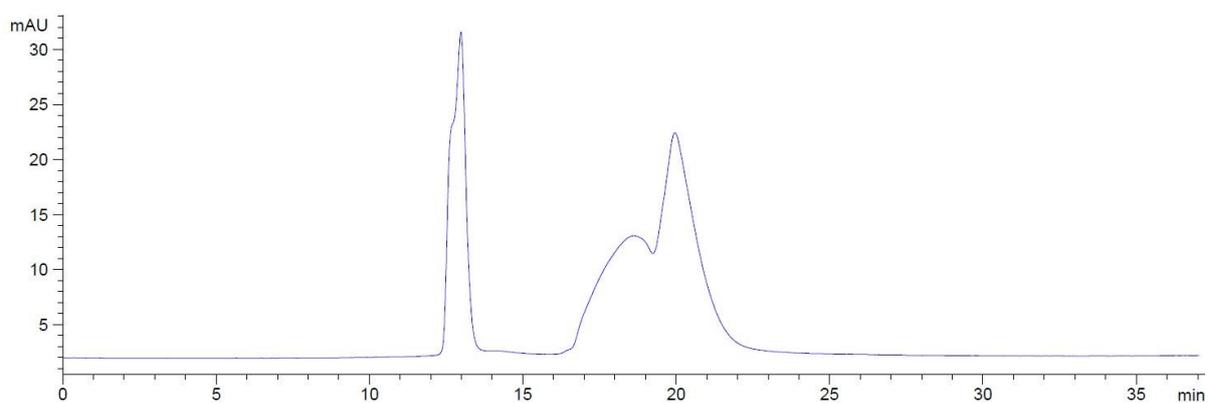


Figura 6.2 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Rezex ROA H⁺.
Temperatura 60°C – Flusso 0.300 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

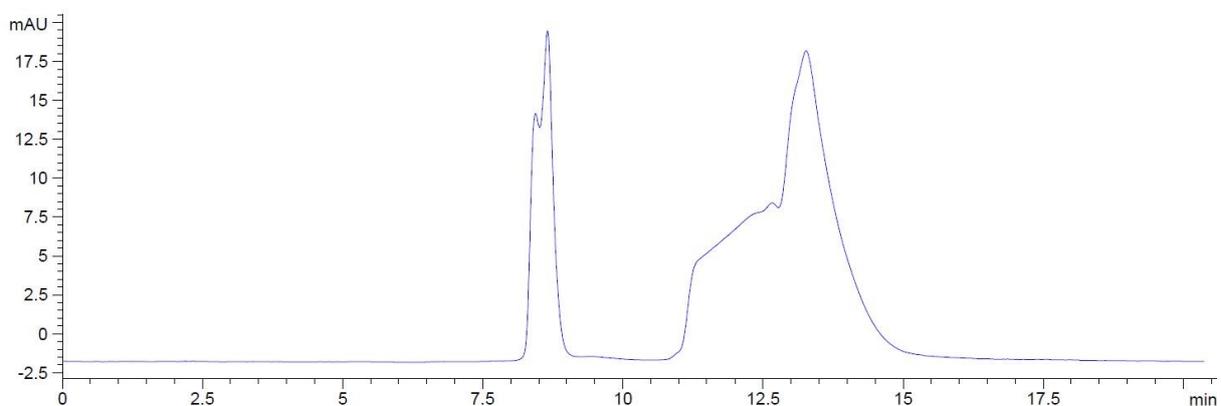


Figura 6.3 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Rezex ROA H⁺.
Temperatura 60°C – Flusso 0.450 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

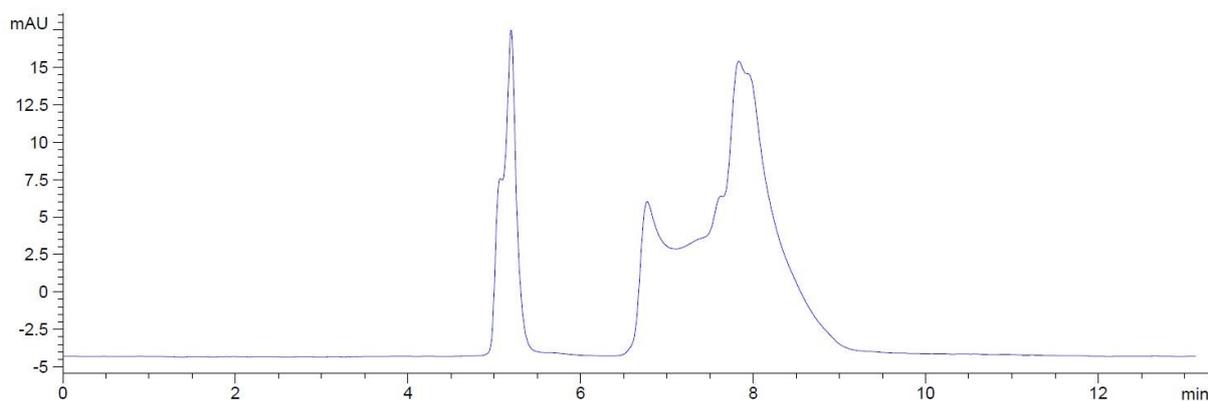


Figura 6.4 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela GLU, GLA, GA. Colonna Rezex ROA H⁺.
Temperatura 60°C – Flusso 0.750 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

- *Temperatura*

Come si può notare dai cromatogrammi riportati nelle Figure 6.5 e 6.6, le prove a 25°C e 30°C sono risultate essere nettamente migliori rispetto a quella a 60°. In questo caso sono rimasti invariati i seguenti parametri: flusso, temperatura e pH del campione. A bassa temperatura si può notare il primo picco relativo all'acido solforico, il secondo dovuto a GA mentre il terzo comprende sia GLU che GLA.

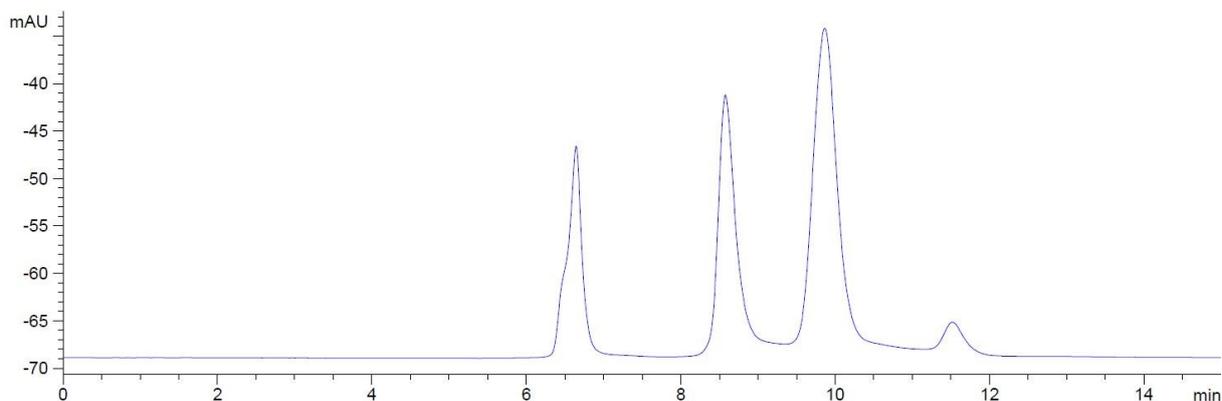


Figura 6.5 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Rezex ROA H⁺.
Temperatura 25°C – Flusso 0.600 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

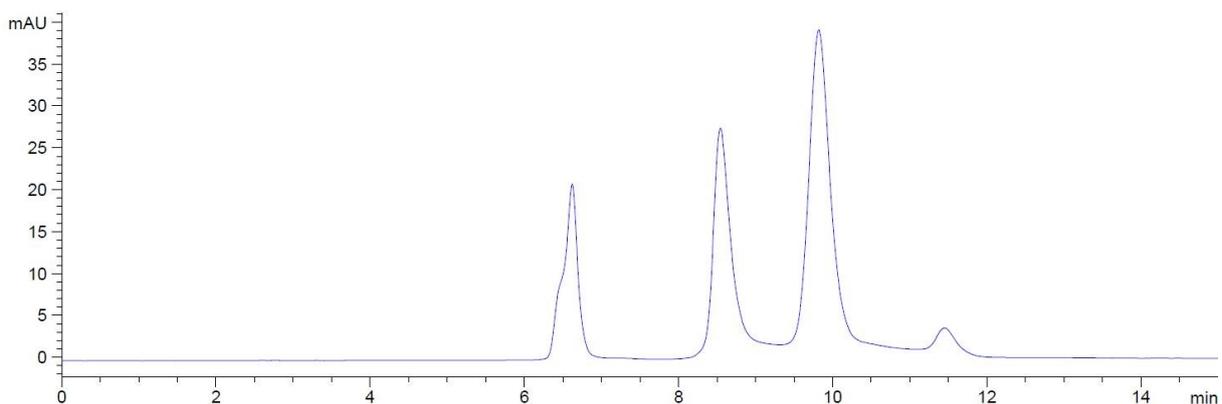


Figura 6.6 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Rezex ROA H⁺.
Temperatura 30°C – Flusso 0.600 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

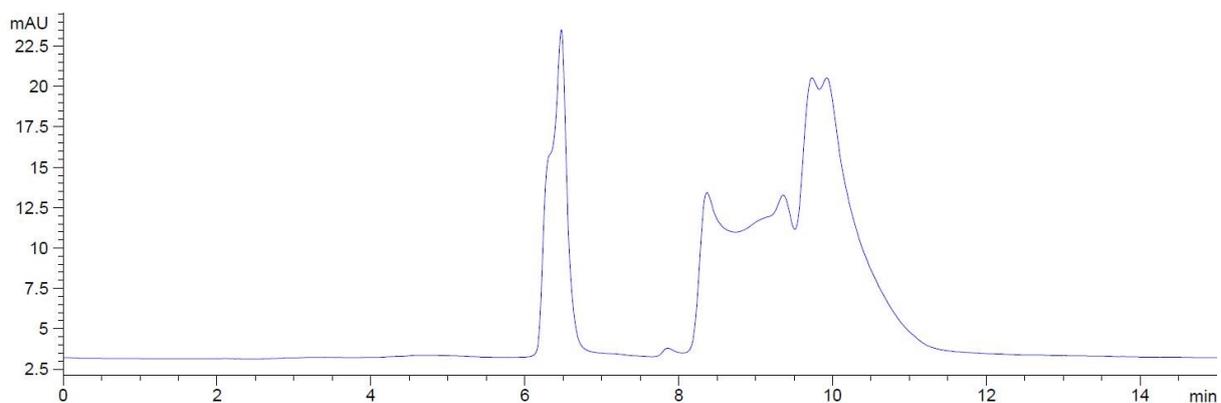


Figura 6.7 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Rezex ROA H⁺.
Temperatura 60°C – Flusso 0.600 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

- *pH del campione*

Essendo la miscela di reazione costituita prevalentemente da acidi organici, inizialmente si è pensato di acidificare i campioni in modo da ritrovarsi in un range di pH che sfavorisse la formazione di specie deprotonate o parzialmente deprotonate degli analiti. Tuttavia è stato verificato che il pH della miscela di reazione non ha nessuna influenza sulla separazione cromatografica per cui le prove successive sono state effettuate senza acidificare il campione prima dell'iniezione.

- *Colonna*

Come ulteriore criterio di valutazione sono state eseguite delle prove con altre due colonne differenti: una Aminex HPX 87H (300x7.8mm) avente la stessa fase stazionaria della Rezex

ROA H⁺ ma con una dimensione dell'impaccamento di 9 µm invece che 8 µm e una Rezex RCM Ca²⁺ (8%) con una dimensione dell'impaccamento di 8 µm ma utilizzata generalmente per la determinazione degli zuccheri (motivo per il quale si è deciso di eseguire un'analisi di prova anche con quest'ultima colonna). Utilizzando la Aminex HPX 87H si ha una sovrapposizione di GLU e GLA (RT=8.5 min) (Figura 6.8) mentre utilizzando la Rezex RCM si ha un notevole allargamento delle bande che rende impossibile l'analisi (Figura 6.9). Pertanto si è deciso di proseguire con l'ottimizzazione del metodo con la colonna Rezex ROA H⁺.

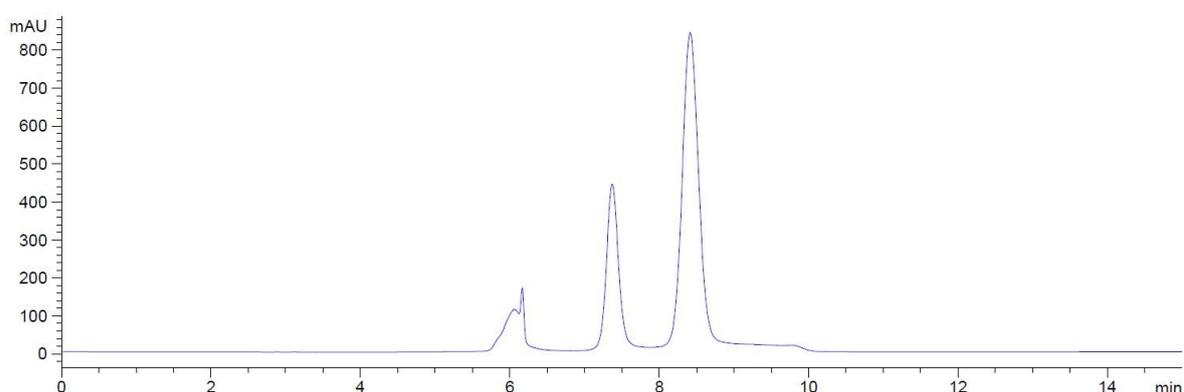


Figura 6.8 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Aminex HPX 87H.
Temperatura 60°C – Flusso 0.600 ml/min H₂SO₄ 0.0025M

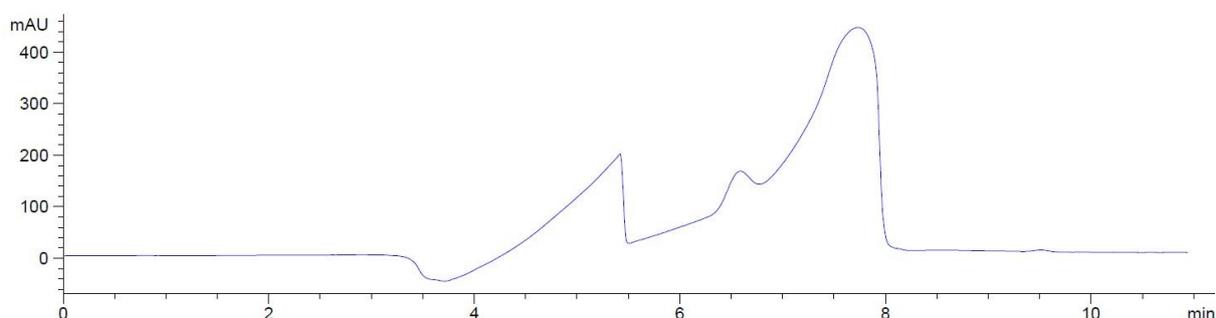


Figura 6.9 – Cromatogramma HPLC (DAD 192 nm) – Miscela di GLU, GLA, GA. Colonna Rezex RCM.
Temperatura 80°C – Flusso 1.000 ml/min H₂O UPP

- *Metodo con due colonne in serie*

Continuando la ricerca nello sviluppo del metodo analitico sono state fatte delle prove di analisi con delle miscele di reazione ed è stato riscontrato un ulteriore problema nella separazione fra acido tartronico e GA, che risultavano essere eluiti esattamente con lo stesso tempo di ritenzione. A fronte di ciò ci si è concentrati sulla ricerca di un metodo analitico in grado di separare GLU, GLA, GA e acido tartronico. Alla fine il risultato migliore è stato

ottenuto adoperando due colonne Rezex ROA collegate in serie, utilizzando il RID come rivelatore per i monosaccaridi e il DAD per gli acidi organici. Nello sviluppo di un metodo analitico con due colonne in serie è stato necessario porre molta attenzione alla pressione nelle colonne in quanto da manuale è indicata una pressione massima di esercizio di 69 bar. Dalle prove condotte alla temperatura di 30°C ci si è resi conto che il flusso limite affinché si rientri nei limiti di pressione è di 0.300 ml/min. Tuttavia un flusso così basso provoca oltre che un allargamento delle bande per via dei fenomeni diffusivi anche un considerevole allungamento dei tempi di analisi (>40 min). Sono state fatte quindi delle prove a temperatura più alta in modo da diminuire la viscosità dell'eluyente e quindi anche la pressione all'interno della colonna. Così facendo si è potuto operare anche a flussi più elevati in modo da avere una migliore separazione e un tempo di analisi contenuto. Fra le prove condotte ad alta temperatura la migliore separazione è stata ottenuta utilizzando un flusso di 0.500 ml/min ad una temperatura di 80°C, in questo modo è stato possibile mantenere la pressione ad un valore di circa 45 bar.

L'analisi qualitativa è stata possibile confrontando gli RT dei picchi presenti nei cromatogrammi con gli RT dei composti iniettati durante le calibrazioni. L'analisi quantitativa è stata effettuata tenendo conto dei fattori di risposta ottenuti dalle calibrazioni. Sebbene quest'ultimo metodo analitico risulta essere assolutamente soddisfacente per quanto riguarda l'identificazione e la separazione della gran parte dei composti presenti nella miscela, non è stato possibile ottenere la separazione dei picchi relativi a GLU e GLA, ma la loro analisi quantitativa è stata ottenuta mediante un procedimento matematico descritto nel paragrafo 6.1.1. Un procedimento particolare, riportato nel paragrafo 6.1.2, è stato adottato anche per l'analisi quantitativa di arabinosio e acido glicerico, aventi anch'essi RT uguali.

6.1.1 ANALISI QUANTITATIVA DI GLUCOSIO E ACIDO GLUCONICO

L'analisi quantitativa di GLU e GLA è stata resa possibile grazie al diverso fattore di risposta dei due composti al RID e al DAD-UV. Il GLU ha un fattore di risposta al DAD trascurabile rispetto a quello di GLA mentre i fattori di risposta di GLU e GLA al RID sono dello stesso ordine di grandezza. Si è assunto quindi che il segnale con RT=23.89 min visibile al DAD sia da attribuire esclusivamente alla presenza di GLA mentre il segnale al RID è dato dalla somma dei due composti.

Il numero di moli di GLA è stato ricavato calcolando l'area equivalente di GLA al RID (utilizzando il fattore di risposta e l'area del GLA stesso al DAD) e sottraendola all'area del GLU al RID, mediante la seguente formula:

$$n_{GLA} = \frac{A_{DAD}}{f_{GLA,DAD}} * \frac{v}{1000}$$

Il numero di moli di GLU è stato ricavato mediante la seguente formula:

$$n_{GLU} = \frac{A_{RID} - \left[\left(\frac{A_{DAD}}{f_{GLA,DAD}} \right) * f_{GLA,RID} \right]}{f_{GLU,RID}} * \frac{v}{1000}$$

A_{DAD} = area del picco con RT=23.61 (DAD 202 nm) relativo a GLA

A_{RID} = area del picco con RT=23.89 (RID) relativo a GLU + GLA

$f_{GLA,DAD}$ = fattore di risposta di GLA (DAD 202 nm)

$f_{GLA,RID}$ = fattore di risposta di GLA (RID)

$f_{GLU,RID}$ = fattore di risposta di GLU (RID)

v = volume della miscela di reazione

Questa procedura è stata validata iniettando diverse miscele standard di GLU e GLA a concentrazioni diverse e valutando di volta in volta lo scarto fra la somma teorica delle singole aree e l'area del picco registrato sul cromatogramma. In tutti i casi l'errore è stato minore del 10%.

6.1.2 ANALISI QUANTITATIVA DI ARABINOSIO E ACIDO GLICERICO

A seguito dell'iniezione dei campioni standard di arabinosio e acido glicerico, utilizzati per costruire le rette di calibrazione, ci si è resi conto che entrambi i composti hanno lo stesso RT. Tuttavia il segnale dell'arabinosio al DAD si può ritenere trascurabile rispetto a quello dell'acido glicerico, mentre al RID i segnali dei due composti hanno lo stesso ordine di grandezza. Al fine di effettuare un'analisi quantitativa su entrambi si è tentato di utilizzare lo stesso metodo utilizzato per la determinazione di GLU e GLA ma questa volta non è stata riscontrata alcuna linearità nel rapporto fra la somma teorica delle singole aree e l'area del picco registrato al cromatogramma.

Dato che i fattori di risposta dei due composti al RID sono paragonabili ($f_{\text{acido glicerico,RID}} = 61383229$; $f_{\text{arabinosio,RID}} = 55550283$) la concentrazione di arabinosio e acido glicerico è stata calcolata come la somma dei due ricavata dall'area del picco al RID:

$$C_{\text{arabinosio+acido glicerico}} = \frac{A_{\text{RID}}}{f_{\text{RID}}}$$

con:

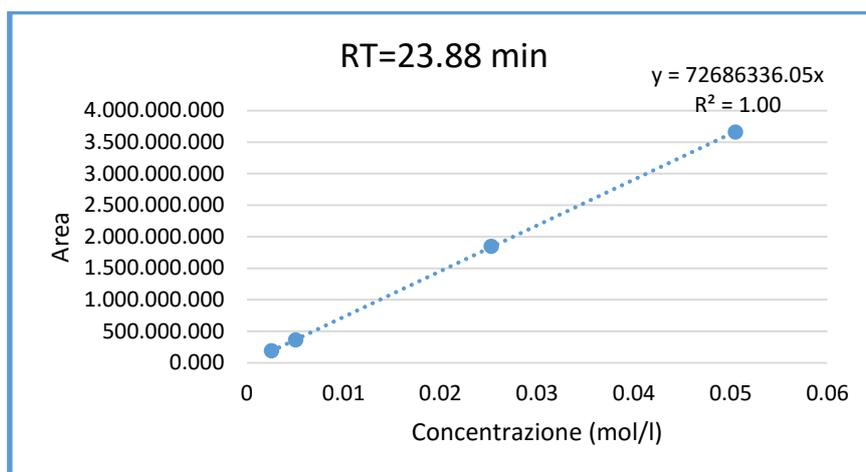
A_{RID} = area del picco con RT=27.45 (RID) relativo ad arabinosio e acido glicerico

$f_{\text{RID}} = [(f_{\text{arabinosio,RID}} + f_{\text{ac.glicerico,RID}})/2]$

6.1.3 CALIBRAZIONE

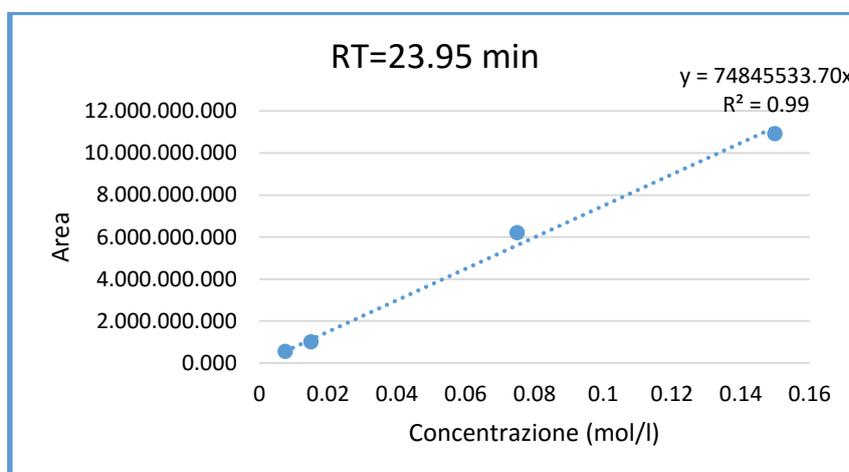
Sono state costruite delle rette di taratura per ciascuno dei composti identificati e presenti nella miscela di reazione. Così facendo è stato possibile in un secondo momento ricavare informazioni quantitative dai cromatogrammi ottenuti analizzando le miscele di reazione. Tutti i campioni sono stati preparati solubilizzando una quantità apposita di standard in un matraccio tarato portato a volume. In seguito sono state effettuate tre diluizioni successive al fine di avere quattro campioni standard per ogni composto. Le analisi HPLC sono state elaborate grazie al software Agilent ChemStation il quale ha permesso di integrare l'area sottesa ai picchi presenti nel cromatogramma. Le aree sono state inserite all'interno di un foglio di calcolo e il fattore di risposta per ogni composto è stato calcolato come la pendenza della retta ottenuta riportando su di un grafico le aree sulle ordinate e le concentrazioni sulle ascisse. Di seguito vengono riportate le rette di taratura ottenute:

- *Glucosio (RID)*



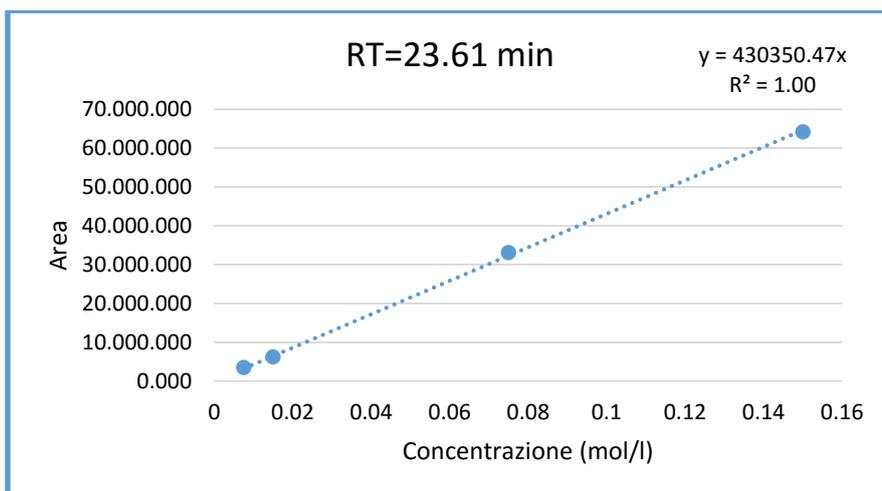
GLUCOSIO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.0025	193267
2	0.0050	364569
3	0.0252	1848423
4	0.0505	3662889

- *Acido gluconico (RID)*



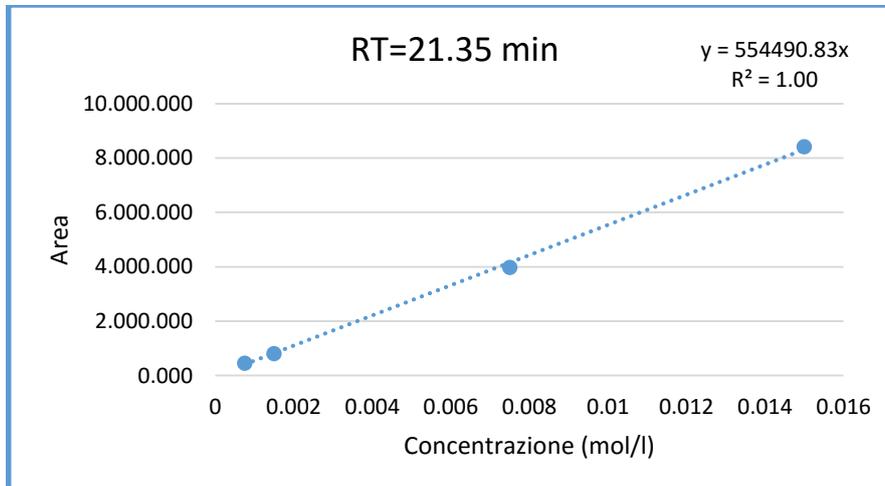
ACIDO GLUCONICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.0075	565732
2	0.0150	1020797
3	0.0750	6221184
4	0.1499	10923818

- *Acido gluconico (DAD 202nm)*



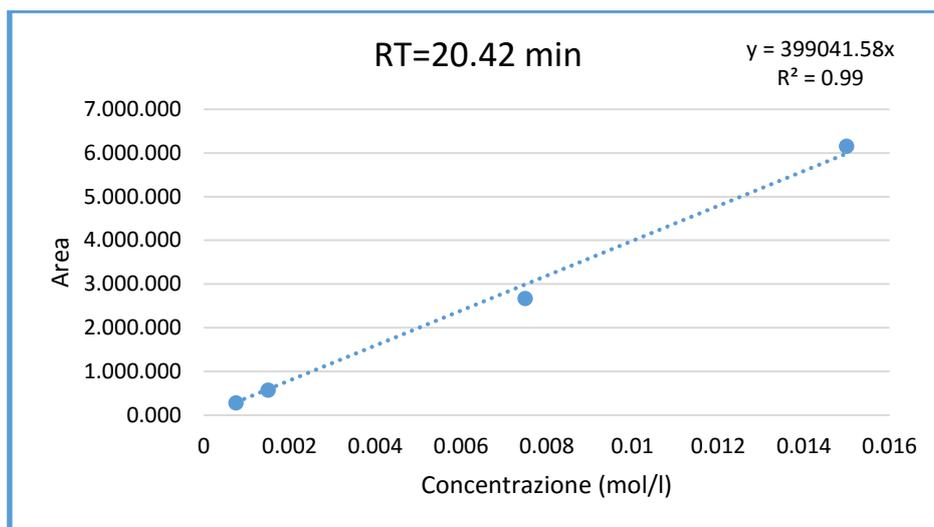
ACIDO GLUCONICO (sale di sodio 97%)		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.0075	3522
2	0.0150	6232.2
3	0.0750	33038.2
4	0.1499	64179.2

- *Acido glucarico (DAD 202nm)*



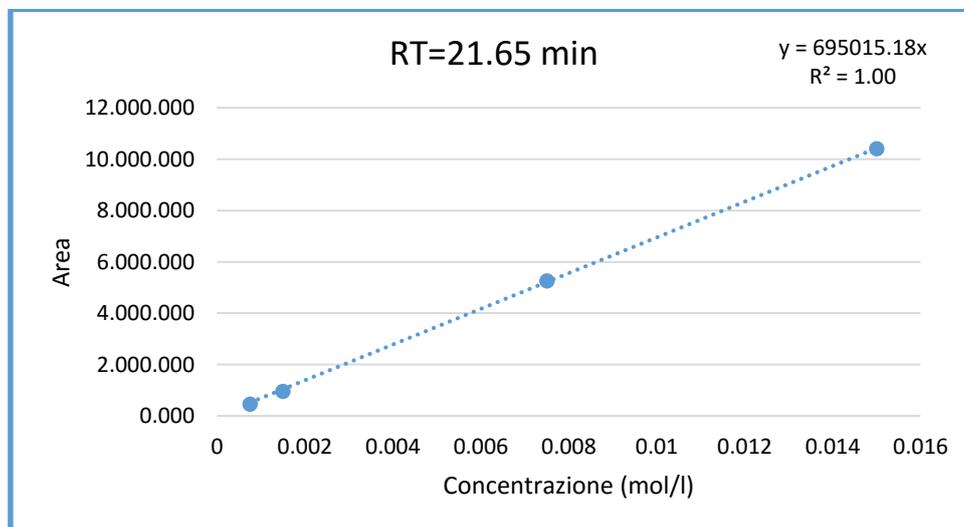
ACIDO GLUCARICO (sale di potassio 98%)		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	449.4
2	0.00150	808.5
3	0.00750	3979.5
4	0.01500	8407.6

- *Acido 2-cheto-D-gluconico (DAD 202 nm)*



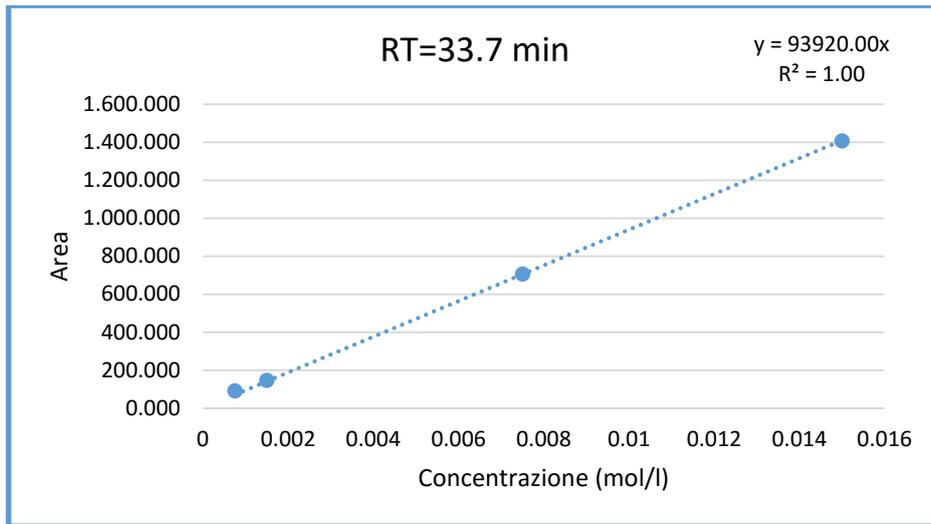
ACIDO 2-CHETO-D-GLUCONICO (sale monoidrato di calcio)		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	279
2	0.00150	569
3	0.00750	2670
4	0.01499	6151

- *Acido 5-cheto-D-gluconico (DAD 202nm)*



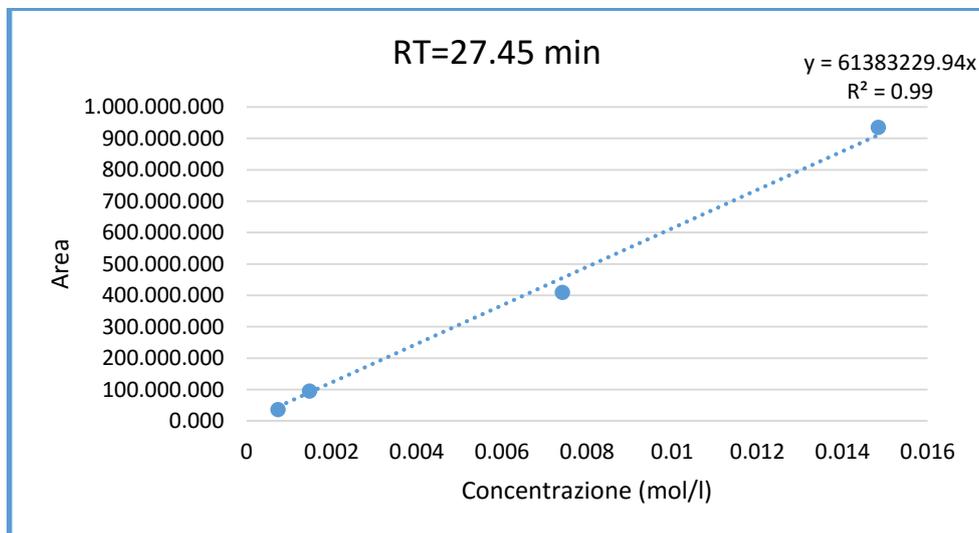
ACIDO 5-CHETO-D-GLUCONICO (sale di potassio)		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	461
2	0.00150	953
3	0.00750	5257
4	0.01500	10415

- *Acido formico (DAD 202nm)*



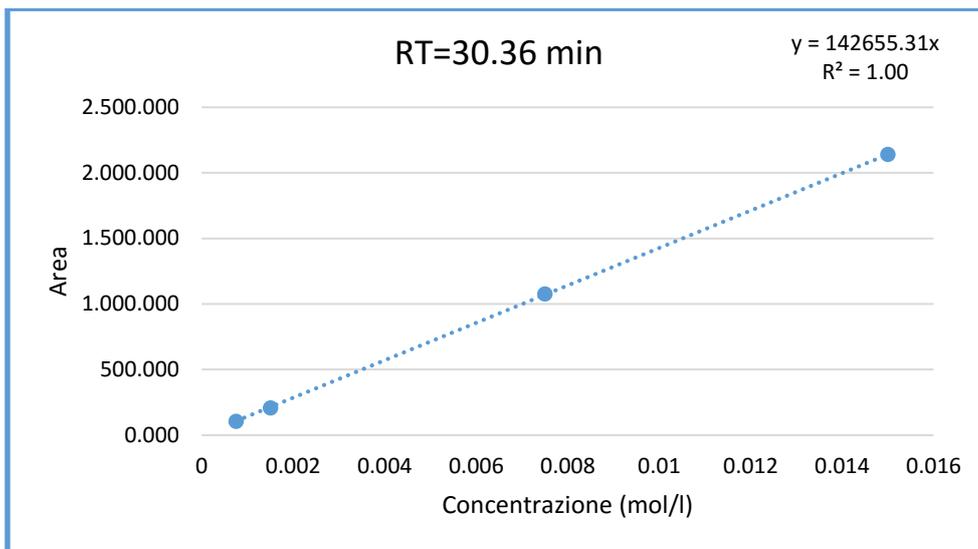
ACIDO FORMICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	91
2	0.00150	145.6
3	0.00750	705
4	0.01500	1407

- *Acido glicerico (RID)*



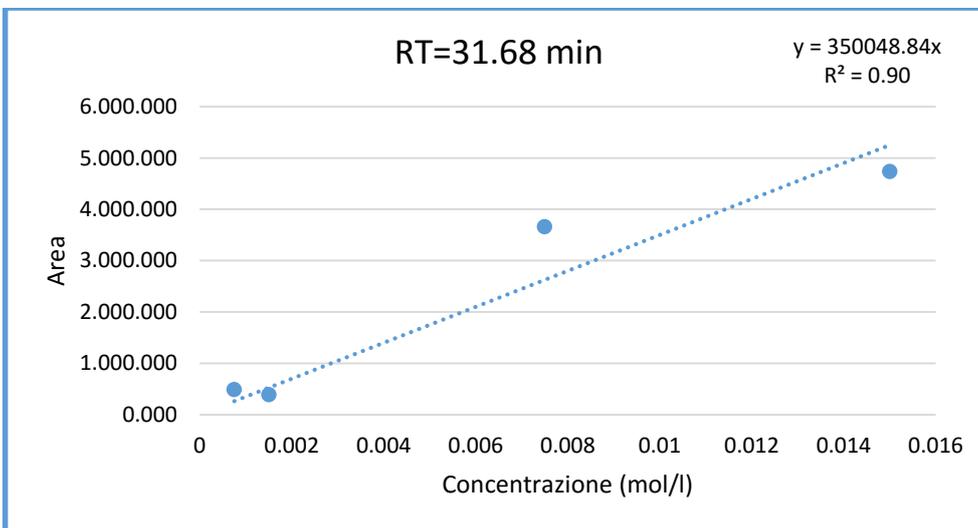
ACIDO GLICERICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.0007	35708
2	0.0015	95006
3	0.0074	408595
4	0.0148	935017

- *Acido glicolico (DAD 202nm)*



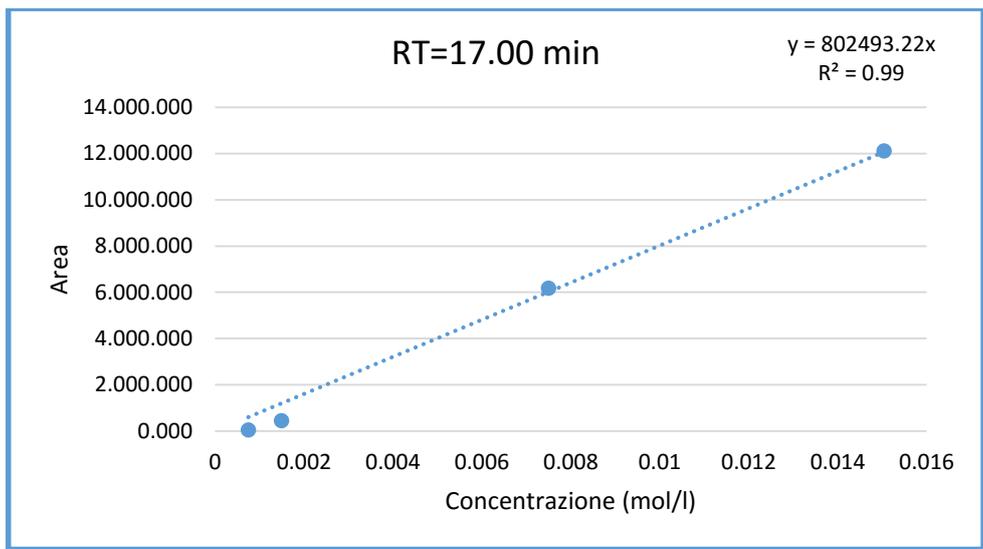
ACIDO GLICOLICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	103.9
2	0.00150	207.4
3	0.00750	1074.2
4	0.01499	2138.5

- *Acido lattico (DAD 202nm)*



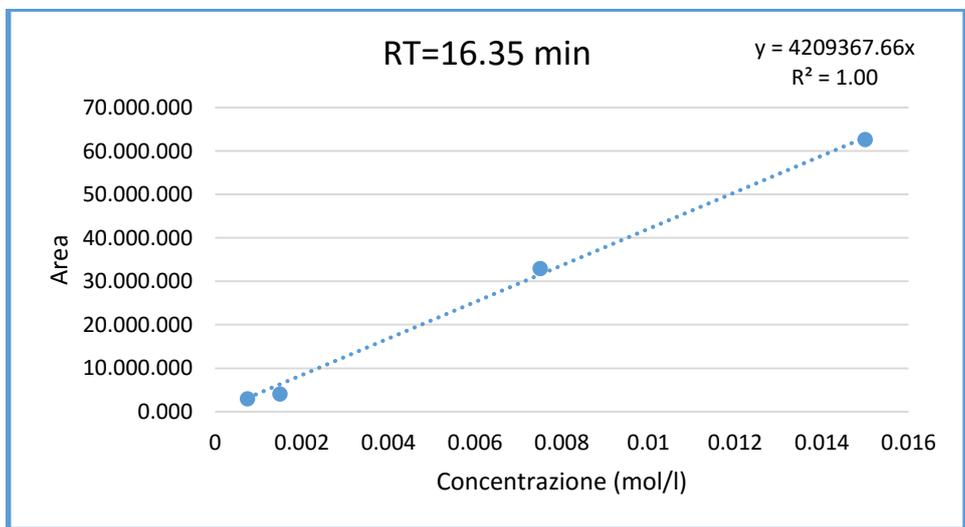
ACIDO LATTICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	489
2	0.00150	391
3	0.00750	3659
4	0.01500	4736

- *Acido mesossalico (DAD 202nm)*



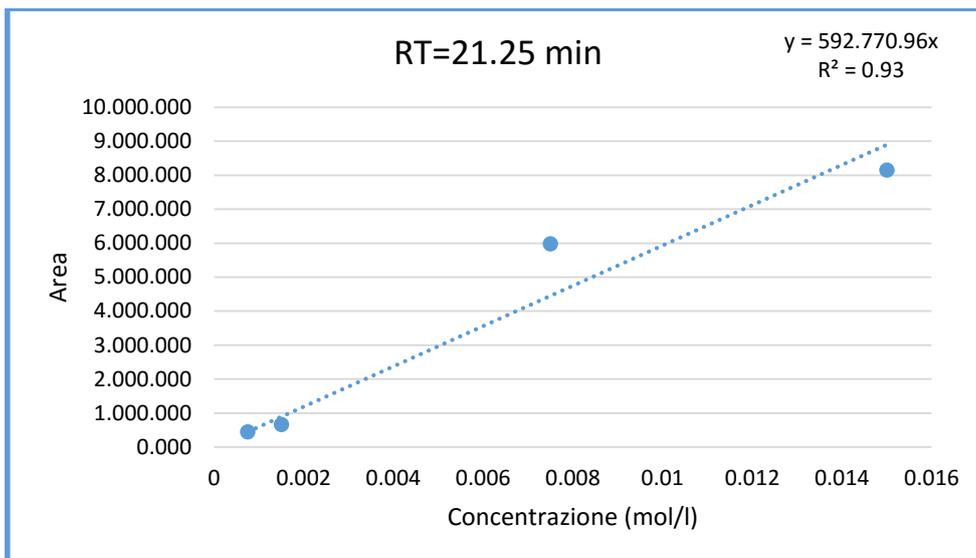
ACIDO MESOSSALICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	42
2	0.00150	447.9
3	0.00750	6165.7
4	0.01505	12107.5

- *Acido ossalico (DAD 202nm)*



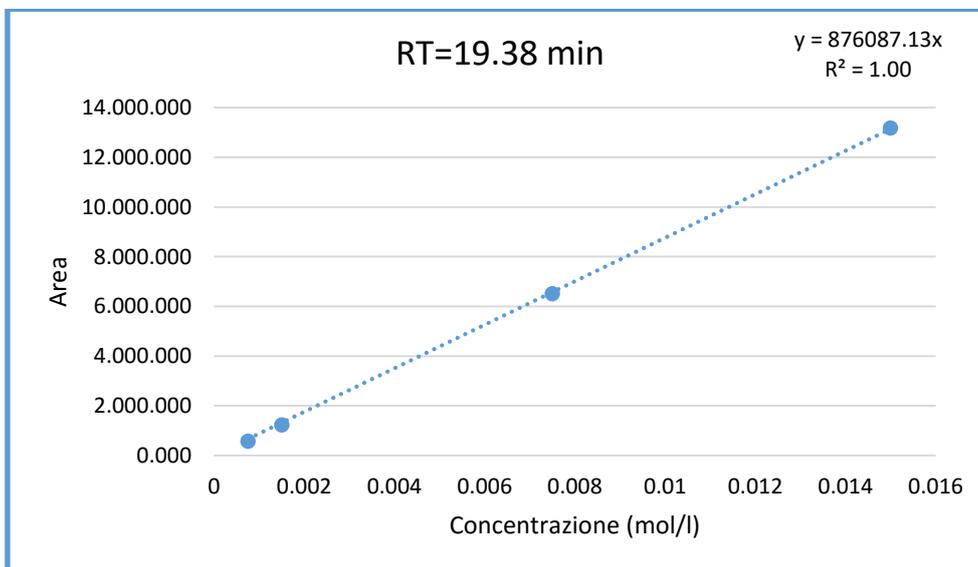
ACIDO OSSALICO (diidrato)		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	2990
2	0.00150	4054
3	0.00750	32964
4	0.01500	62678

- *Acido tartarico (DAD 202nm)*



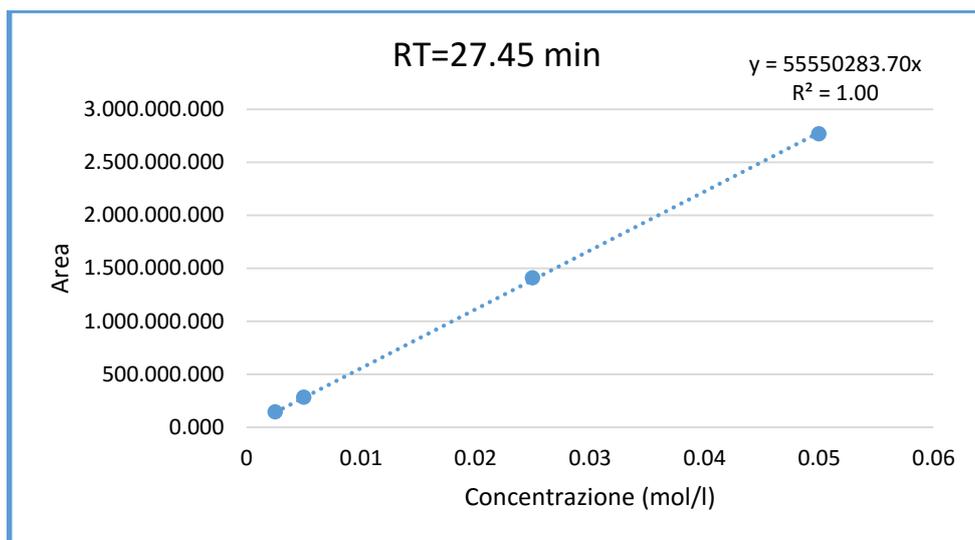
ACIDO TARTARICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	446
2	0.00150	658
3	0.00750	5977
4	0.01499	8149

- *Acido tartronico (DAD 202nm)*



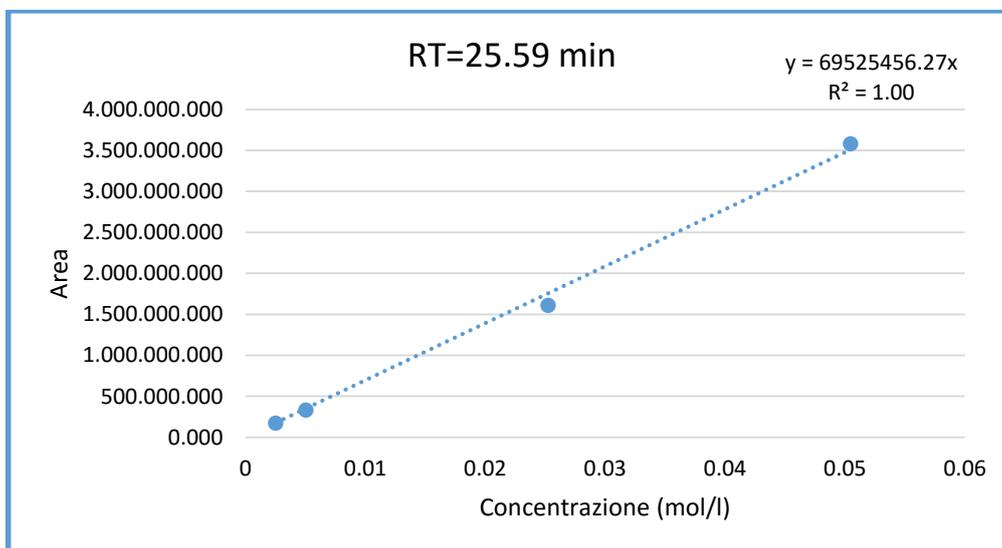
ACIDO TARTRONICO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.00075	574
2	0.00150	1232
3	0.00750	6514
4	0.01501	13182

- *Arabinosio (RID)*



ARABINOSIO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.0025	143636
2	0.0050	282780
3	0.0250	1408160
4	0.0500	2765904

- *Fruttosio (RID)*



FRUTTOSIO		
	Concentrazione (mol/l)	Area integrale
1	0.0025	173829
2	0.0050	334394
3	0.0252	1612314
4	0.0505	3583450

6.1.4 TRATTAMENTO DEI DATI ANALITICI

L'analisi HPLC è stata effettuata allo scopo di quantificare la presenza dei vari prodotti nella miscela di reazione e assegnare ad ognuno di essi un valore di resa e selettività. Inoltre misurando la quantità di glucosio non reagito è stato possibile valutare la conversione per ogni test catalitico effettuato.

Il numero di moli di ogni prodotto presente alla fine della reazione è stato così calcolato:

$$n_i = \frac{A_i}{f_i} * \frac{v}{1000}$$

A questo punto è stato possibile calcolare la conversione del glucosio e i parametri di resa e selettività per ognuno dei prodotti:

$$X = \frac{n_{GLU(t=0)} - n_{GLU}}{n_{GLU(t=0)}} * \frac{v}{1000} * 100$$

$$S_i = \frac{n_i * C}{n_{GLU(t=0)} - n_{GLU}} * \frac{v}{1000} * 100$$

$$Y_i = \frac{n_i * C}{n_{GLU(t=0)}} * \frac{v}{1000} * 100$$

n_i = numero di moli del composto (i)

A_i = area del picco HPLC relativo al composto (i)

f_i = fattore di risposta del composto (i)

X = conversione

S_i = selettività verso il composto (i)

Y_i = resa nel composto (i)

$n_{GLU(t=0)}$ = moli di glucosio iniziali

n_{GLU} = moli di glucosio nella miscela di reazione (per il calcolo si veda il paragrafo 6.1.1)

v = volume della miscela di reazione

C = fattore di normalizzazione per gli atomi di carbonio calcolato come:

$$C = \frac{\text{atomi di C del prodotto}}{\text{atomi di C nel reagente}}$$

6.2 CARATTERIZZAZIONE DEI CATALIZZATORI

Tutti i sistemi catalitici sintetizzati sono stati caratterizzati mediante XRD al fine di determinare la dimensione media dei cristalliti. Inoltre su alcuni catalizzatori sono state effettuate delle analisi TEM per avere una stima delle dimensioni delle NPs e per determinare la loro distribuzione e composizione.

6.2.1 ANALISI TEM

- Au/AC

L'analisi TEM del catalizzatore Au/AC ha permesso di stimare le dimensioni delle NPs su un valore medio di 10 nm come si evince dalla Figura 6.10 e dalla Tabella 6.1. Tuttavia sono presenti anche degli agglomerati di dimensioni maggiori dovuti probabilmente alla tendenza dell'oro stesso ad aggregarsi quando non viene opportunamente stabilizzato. Gli ingrandimenti inoltre mostrano una distribuzione poco omogenea delle NPs sul supporto.

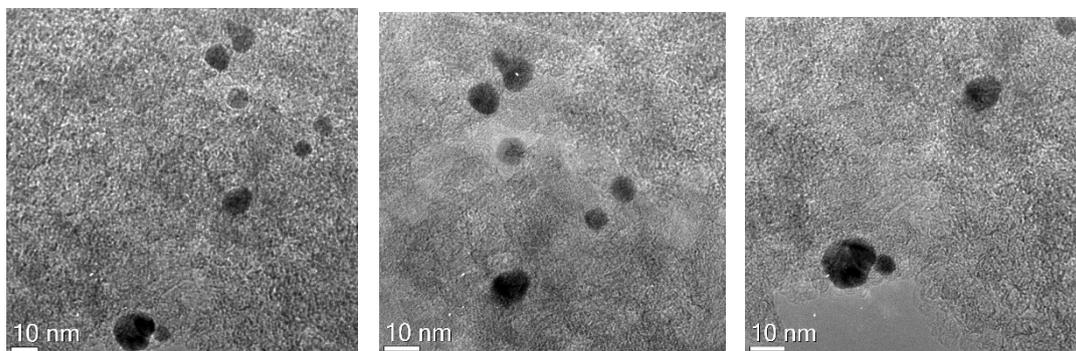


Figura 6.10 – Ingrandimento del catalizzatore Au/AC ottenuto con TEM

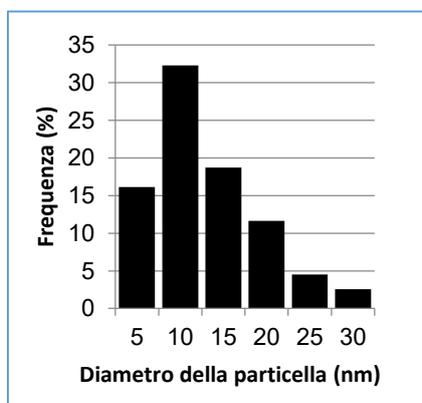


Tabella 6.1 – Distribuzione delle dimensioni delle NPs presenti su Au/AC. Dato ottenuto con analisi TEM

- *Au_{PVA}/AC*

L'analisi TEM del catalizzatore Au_{PVA}/AC non ha mostrato miglioramenti significativi nelle caratteristiche del catalizzatore rispetto a Au/AC, nonostante l'aggiunta dello stabilizzante durante il processo di sintesi. Le dimensioni medie misurate sono 12 nm.

- *AuBi/AC*

Il diametro medio delle NPs presenti sul catalizzatore AuBi/AC è stimato sui 12 nm come si evince dalla Figura 6.11 e dalla Tabella 6.2. Anche in questo caso sono presenti degli agglomerati di dimensioni maggiori e la dispersione sul supporto è piuttosto disomogenea.

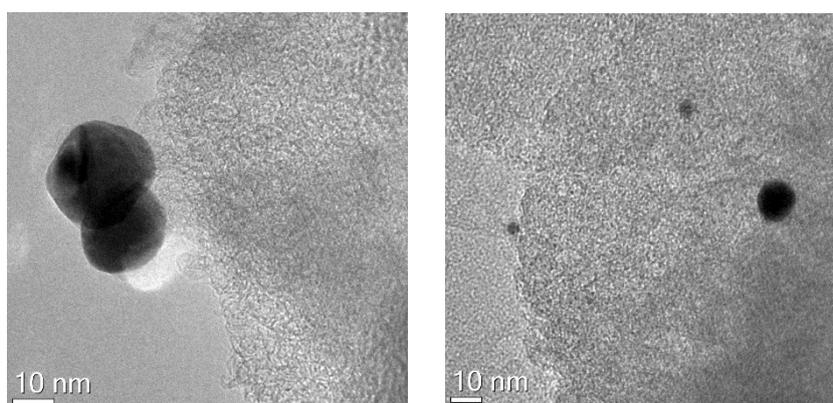


Figura 6.11 – Ingrandimento del catalizzatore AuBi/AC ottenuto con TEM

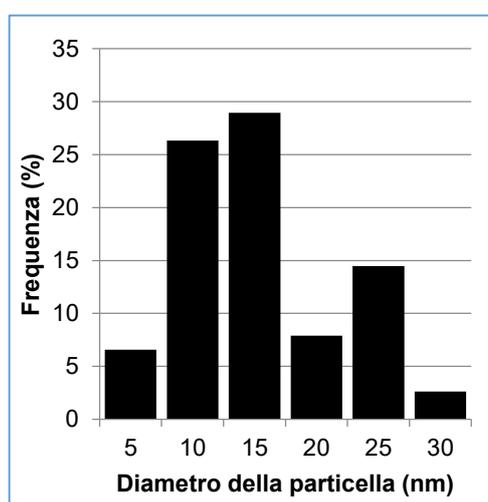


Tabella 6.2 – Distribuzione delle dimensioni delle NPs presenti su AuBi/AC. Dato ottenuto da analisi TEM

In seguito all'acquisizione degli ingrandimenti è stata effettuata anche un'analisi EDX per rivelare la percentuale dei due metalli presenti nelle NPs. È stato registrato uno spettro di area (mostrato in Figura 6.12) e degli spettri di profilo (mostrati in Figura 6.13).

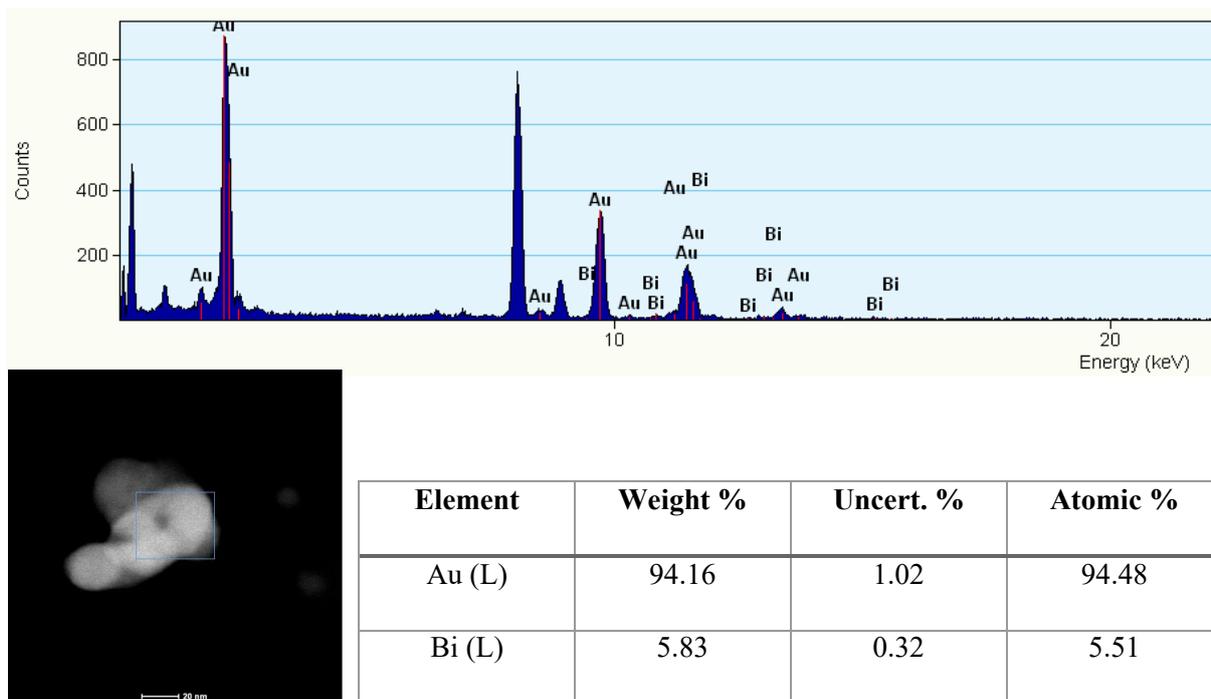


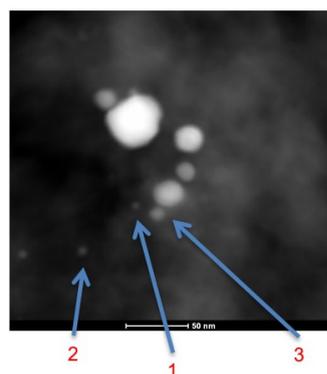
Figura 6.12 – Spettro d’area EDX del catalizzatore AuBi/AC ottenuto con TEM

Spettro 1

Element	Weight %	Uncert. %	Atomic %
Au (L)	87.12	2.94	87.77
Bi (L)	12.87	1.40	12.22

Spettro 2

Element	Weight %	Uncert. %	Atomic %
Au (L)	86.16	1.94	86.85
Bi (L)	13.83	0.95	13.14



Spettro 3

Element	Weight %	Uncert. %	Atomic %
Au (L)	94.32	1.75	94.63
Bi (L)	5.67	0.59	5.36

Figura 6.13 – Spettri di profilo EDX del catalizzatore AuBi/AC ottenuti con TEM

Il rapporto molare Au:Bi ottenuto con lo spettro d'area registrato su di un agglomerato di nanoparticelle è di circa 18:1, molto lontano dal rapporto teorico, ovvero 3:1. Invece, come si può vedere dagli spettri di profilo, le NPs più piccole presentano una maggiore quantità di Bi, infatti il rapporto molare Au:Bi riscontrato che più si avvicina al valore teorico è 6:1. Questi dati si possono spiegare con la tendenza delle NPs di Au ad aggregarsi, specialmente se non vengono stabilizzate.

Mediante analisi STEM è stato possibile ottenere una mappatura della distribuzione dei due metalli sulla superficie del catalizzatore. Come si può vedere dalla Figura 6.14 i due metalli sono miscelati omogeneamente sotto forma di lega in corrispondenza delle NPs.

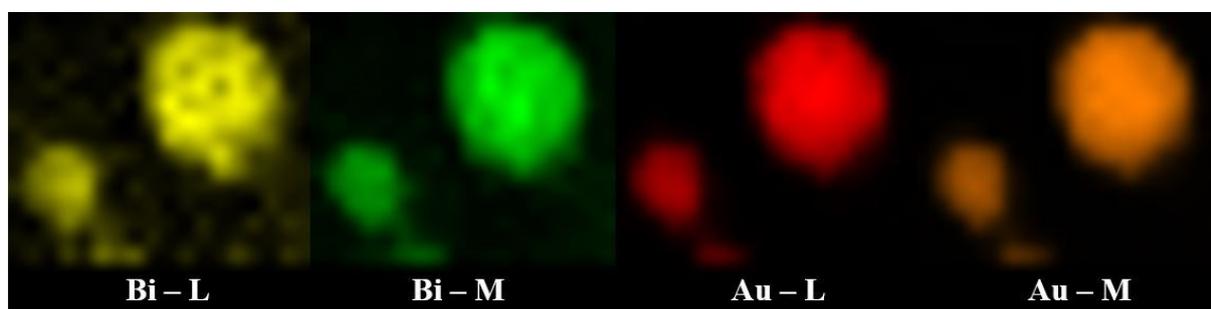


Figura 6.14 – Immagine STEM del catalizzatore AuBi/AC

- *AuPt/AC*

Le NPs in questo caso risultano essere disperse molto più omogeneamente sul supporto, come si può vedere in Figura 6.15. L'immagine in contrasto composizionale (Figura 6.16) mostra l'aspetto generale del campione. Si possono notare degli agglomerati di dimensioni maggiori ma in generale una buona dispersione dei metalli su AC.

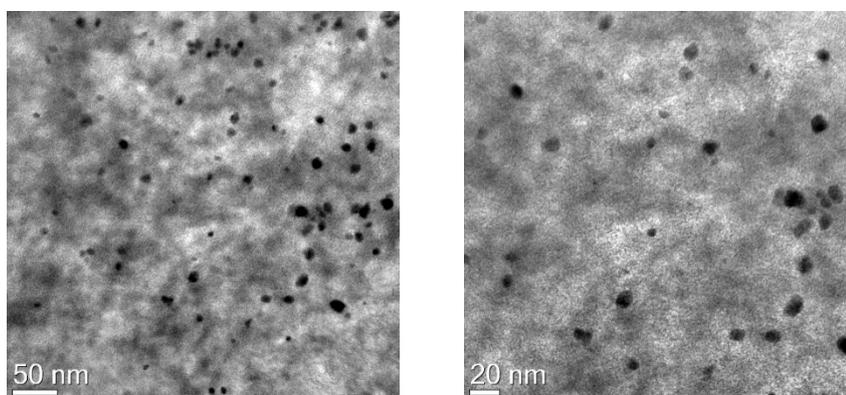


Figura 6.15 – Ingrandimento del catalizzatore AuPt/AC ottenuto con TEM

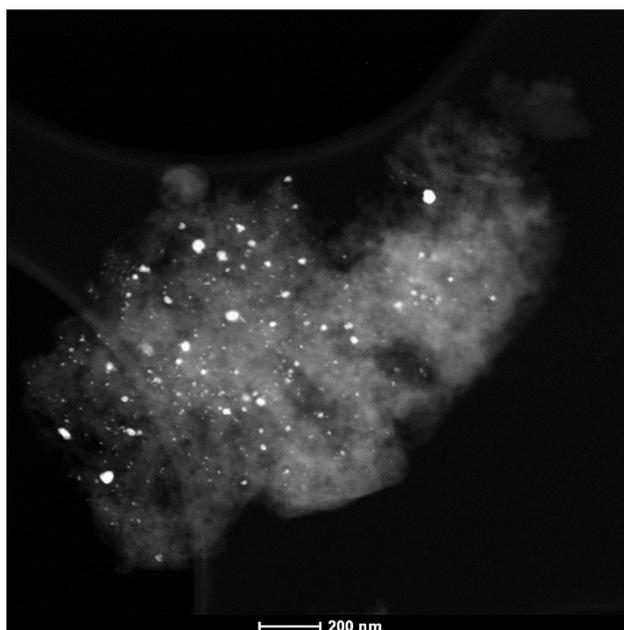


Figura 6.16 – Immagine in contrasto composizionale del catalizzatore AuPt/AC ottenuta con TEM

Tramite l'analisi statistica dei diametri è stato possibile stimare una dimensione media delle NPs di 6.5 nm, mostrata nella Tabella 6.3

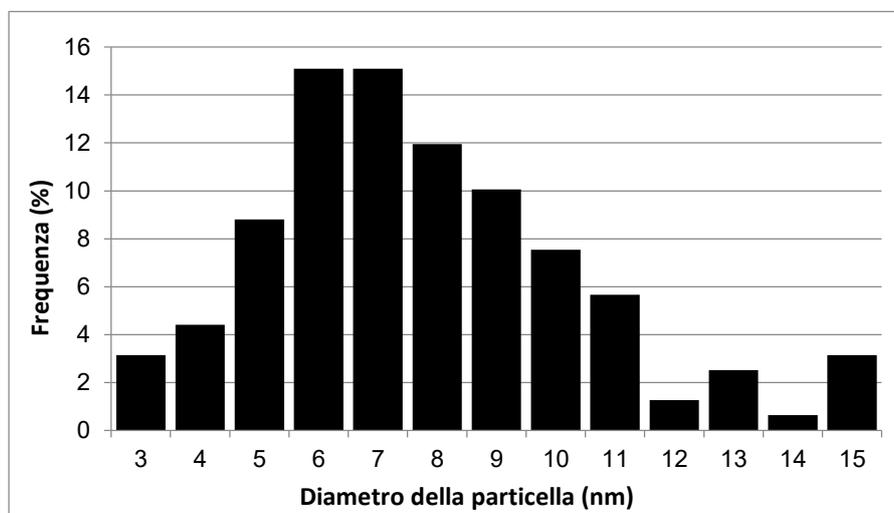
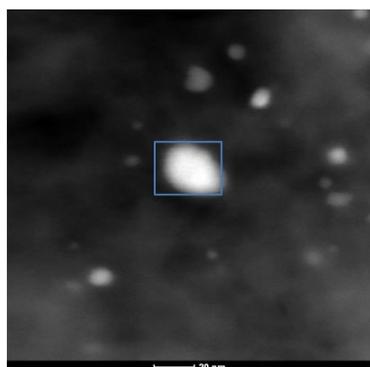
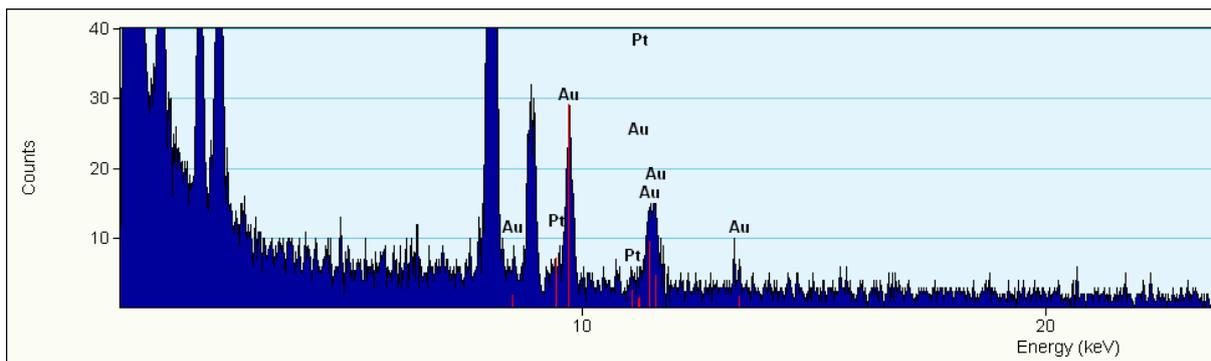


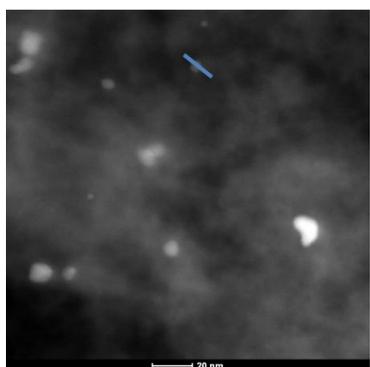
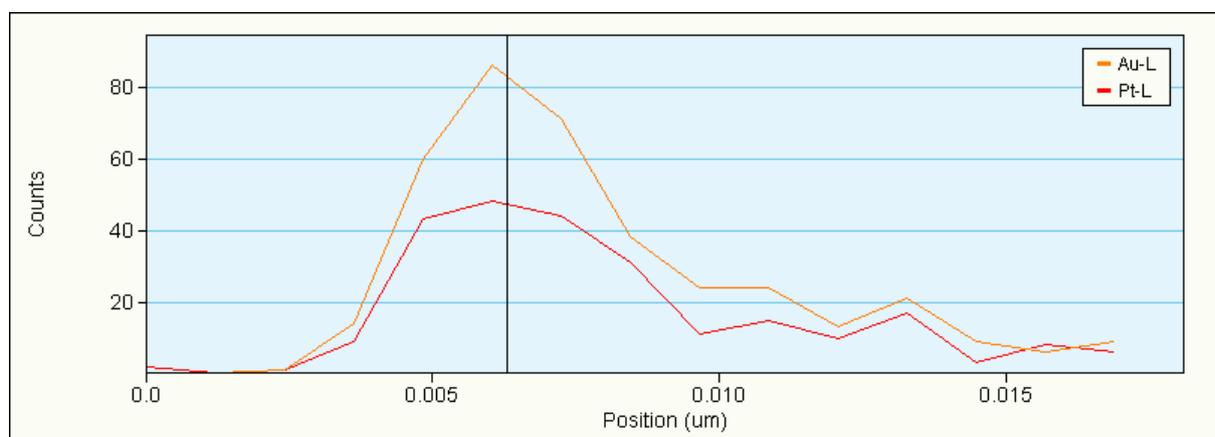
Tabella 6.3 - Diametro medio delle NPs presenti su AuPt/AC. Dato ottenuto da analisi TEM

Dagli spettri ottenuto mediante EDX sul campione AuPt/AC, mostrati in Figura 6.17 e 6.18, è stato calcolato un rapporto Au:Pt di 4:1 (per lo spettro d'area) e 5:1 (per lo spettro di profilo). In questo caso il discostamento dal valore teorico di 3:1 può essere dovuto ad un errore dovuto dalla vicinanza dei segnali dei due metalli e dalla tendenza dell'oro ad aggregarsi.



Element	Weight %	Uncert. %	Atomic %
Pt (L)	15.90	2.01	16.03
Au (L)	84.09	4.04	83.96

Figura 6.17 – Spettro d'area EDX del catalizzatore AuPt/AC ottenuto con TEM



Element	Weight %	Uncert. %	Atomic %
Pt (L)	15.83	9.52	15.96
Au(L)	84.16	12.64	84.03

Figura 6.18 – Spettro di profilo EDX del catalizzatore AuPt/AC ottenuto con TEM

6.2.2 ANALISI XRD

Tutti i catalizzatori sintetizzati sono stati analizzati mediante XRD al fine di determinare la dimensione media dei cristalliti. I riflessi principali dell'oro sono mostrati nella Tabella 6.4. Essendo uno dei riflessi principali dell'oro centrato su $44^\circ 2\theta$ sono state eseguite delle scansioni nell'intervallo compreso fra 41 e $47^\circ 2\theta$.

Riflesso	h	k	l	2θ	I (%)
1	1	1	1	38.101	100
2	2	0	0	44.370	90
3	2	2	0	64.678	70
4	3	1	1	77.549	80

Tabella 6.4 – Elenco dei riflessi dell'oro visibili in un diffrattogramma XRD

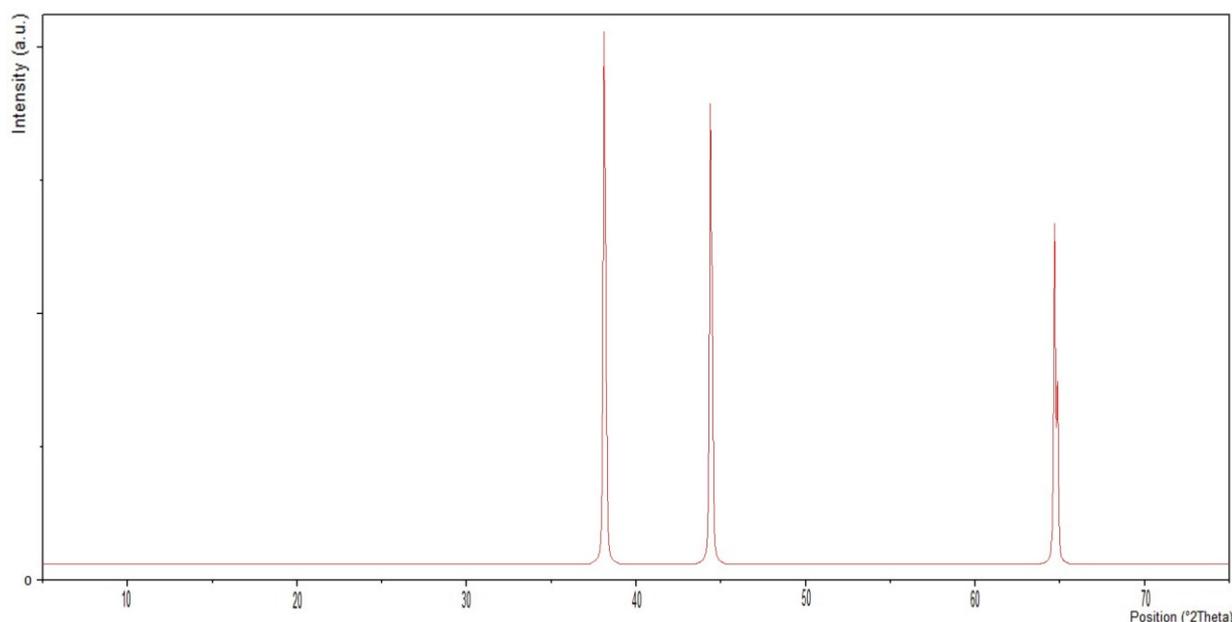


Figura 6.19 – Diffrattogramma simulato dell'oro con i primi tre riflessi visibili a 38.101 , 44.370 e $64.678^\circ 2\theta$

Data la quantità molto bassa di metallo depositato sul supporto, l'intensità del riflesso risulta essere anch'essa molto debole. Per questo motivo è stata effettuata una determinazione cumulativa ottenuta ripetendo più volte la stessa misura sullo stesso campione nello stesso intervallo di angoli 2θ . Inoltre è stata effettuata un'analisi del supporto privo di metallo, mostrata in Figura 6.20, per ottenere un bianco del diffrattogramma e tenere conto degli eventuali riflessi del carbone tal quale. Grazie all'elaborazione dei diffrattogrammi dei campioni, effettuata mediante il software PANalytical X'Pert Highscore Plus, è possibile

isolare il singolo riflesso dell'oro a $44^\circ 2\theta$, ricavarne l'intensità non tenendo conto del riflesso del carbone attivo (anch'esso presente a $44^\circ 2\theta$) e infine ottenere la dimensione dei cristalliti mediante l'equazione di Scherrer.

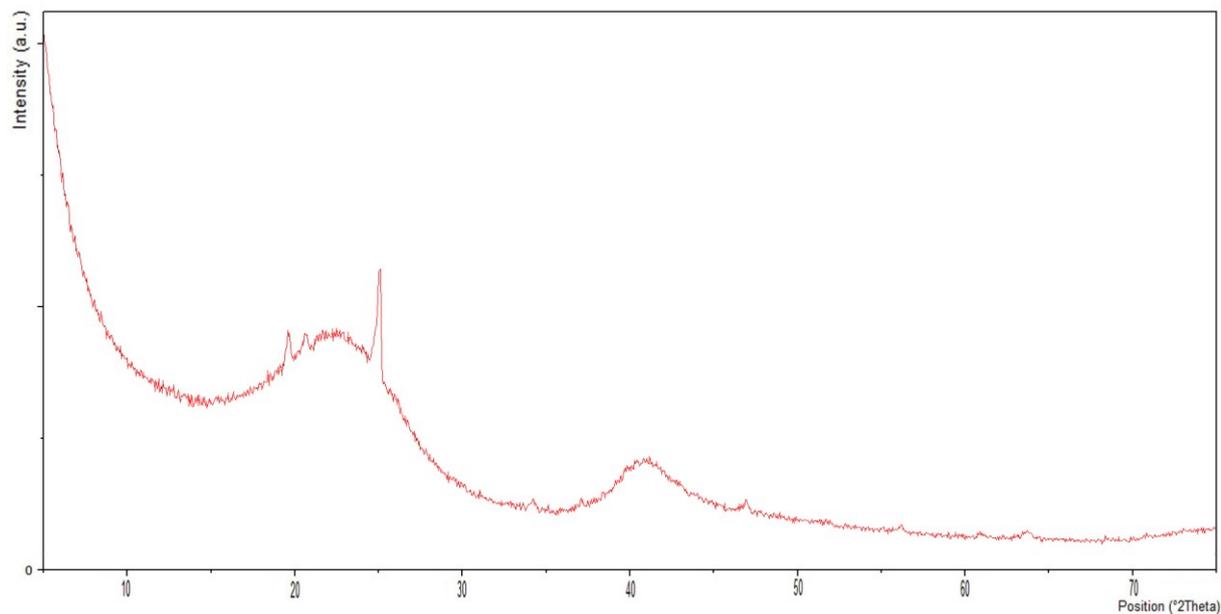


Figura 6.20 – Diffratogramma del carbone attivo privo di metallo

I risultati ottenuti sono mostrati nella Tabella 6.5.

Catalizzatore	Dimensione dei cristalliti (nm)
Au/AC	9.1
Au _{PVA} /AC	12.4
AuBi	9.2
AuRu	10.4
AuFe	12.8
AuAg	10.5
AuPd	9.2
AuPt	7.6
AuCu	13.6
AuPtBi	7.3

Tabella 6.5 – Dimensione media dei cristalliti ottenuta con analisi XRD

6.3 TEST CATALITICI

Tutti i catalizzatori sintetizzati sono stati testati per la reazione di ossidazione del GLU in soluzione acquosa condotta in presenza di base in un reattore di tipo batch. Nelle fasi preliminari degli studi catalitici sono state effettuate delle prove di bianco ossidando con ossigeno puro una miscela di reazione costituita da GLU in soluzione acquosa e idrossido di sodio in quantità equimolare. In assenza di catalizzatore si è potuto notare come la reazione proceda mediante un'ossidazione non selettiva del glucosio che dà come sottoprodotti principalmente isomeri del glucosio con una netta prevalenza in fruttosio, come in accordo con la reazione di Lobry de Bruyn-van Ekenstein ^[52]. È stata ottenuta una conversione del 62%, una resa in fruttosio del 35% e in mannosio del 12%.

I test catalitici effettuati in seguito sono stati mirati ad investigare alcuni parametri che influenzano la selettività dell'ossidazione. È stato eseguito uno screening iniziale con tutti i catalizzatori sintetizzati, utilizzando condizioni simili a quelle riportate nello studio di R. Chaudhari et al. per la sintesi di acido glucarico in catalisi eterogenea ^[26]. In seguito sono stati individuati quelli più interessanti e su di loro sono stati effettuati degli studi per ottimizzare le condizioni di reazione al fine di aumentare il più possibile la resa in GA. Nello specifico sono stati valutati i seguenti aspetti:

- Temperatura

Sono stati analizzati i prodotti di reazione ottenuti nelle ossidazioni condotte a 60°C e in quelle a 90°C ed è stato valutato l'effetto della temperatura sulla selettività.

- Effetto del bismuto sulla selettività

È stato valutato l'eventuale effetto promotore del bismuto confrontando i risultati ottenuti con i seguenti catalizzatori: Au/AC, AuBi/AC, AuPt/AC e AuPtBi/AC

- pH

L'effetto del pH è stato valutato utilizzando diversi rapporti molari GLU: NaOH e analizzando le miscele di reazione ottenute.

- Tempo di reazione

Sono stati effettuati dei test catalitici volti ad individuare la variazione nella selettività verso i vari prodotti al variare del tempo di conduzione della reazione. In questo modo è stato

possibile ottenere delle informazioni riguardo l'andamento della selettività in funzione del tempo.

6.3.1 SCREENING INIZIALE

Data la mancanza in letteratura di studi catalitici esaustivi sulla reazione studiata in questo lavoro di tesi, si è deciso inizialmente di effettuare uno screening su diversi metalli e di valutare uno per uno il loro comportamento catalitico. Le reazioni sono state condotte ad una temperatura di 60°C, pressione 10 bar di O₂, con un rapporto NaOH/glucosio pari a 3 e per un tempo di reazione di 3h, condizioni simili a quelle riportate dallo studio di R. Chaudhari et al. [26].

Come si evince dal Grafico 6.1, i catalizzatori più selettivi verso la formazione di GA sono risultati essere Au/AC e soprattutto AuBi/AC. Non è stata notata nessuna variazione significativa nella selettività verso GA fra i catalizzatori Au/AC e Au_{PVA}/AC, indice del fatto che l'agente stabilizzante non influenza in modo significativo le prestazioni delle nanoparticelle. In tutti i casi si è raggiunta la conversione completa del glucosio.

I prodotti ottenuti sono: GLA, GA, acido 2-keto-D-gluconico, acido 5-keto-D-gluconico e acidi mono e dicarbossilici con meno di 6 atomi di carbonio quali acido tartronico, acido mesossalico, acido glicerico, acido lattico, acido glicolico, acido ossalico e acido formico.

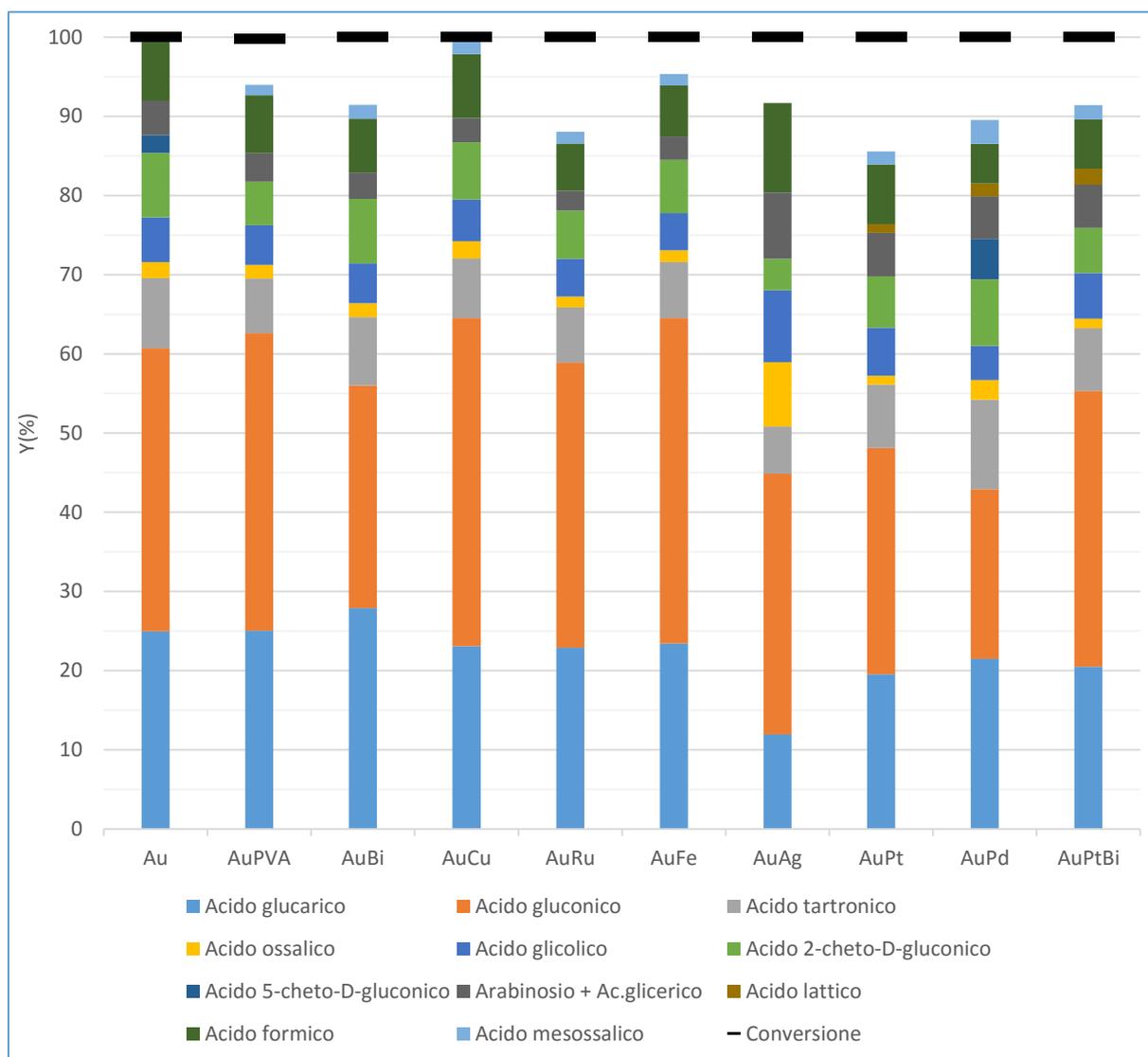


Grafico 6.1 – Rese (%) per la reazione di ossidazione del GLU. Temperatura: 60°C, tempo di reazione: 3h, rapporto GLU: cat: NaOH = 500: 1: 1500, pressione: 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O

6.3.2 BILANCIO DI MASSA

Nonostante la conversione del GLU sia totale con tutti i sistemi catalitici testati, è stato riscontrato uno scarto fra la conversione e la somma delle rese che si attesta generalmente su valori che vanno dal 5 al 15% fatta eccezione per tre test successivi nei quali è stato calcolato un ammanco al bilancio del 25% circa. A fronte di questo dato sono state fatte alcune considerazioni sull'analisi delle miscele di reazione e su un probabile meccanismo di reazione. Nei cromatogrammi HPLC si riscontrano frequentemente almeno due picchi non identificati, indicati dalle linee in blu nella Figura 6.21, i cui RT risultano essere diversi da tutti i composti standard utilizzati per la calibrazione.

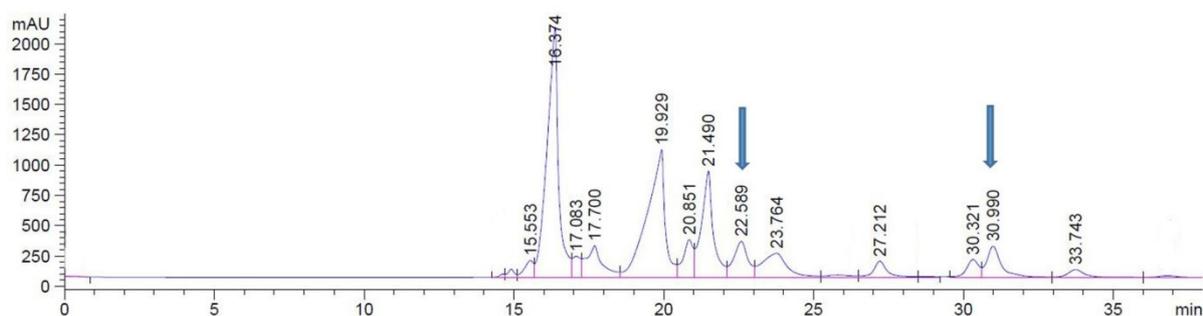


Figura 6.21 – Cromatogramma HPLC (DAD 202 nm) – Miscela di reazione ottenuta con AuBi/AC, temperatura 90°C, tempo di reazione 3h, rapporto GLU: cat: NaOH = 500: 1: 1500, pressione 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O, condizioni di analisi riportate nel paragrafo 5.5.1

Sono state eseguite delle analisi ESI-MS di alcune miscele di reazione i cui cromatogrammi presentano tali picchi non identificati e di altre miscele che non presentano tali picchi. In questo modo è stato possibile ottenere i pesi molecolari dei due composti che appaiono frequentemente nei cromatogrammi e che sono presumibilmente responsabili dell'ammanco al bilancio totale. Lo spettro di massa mostrato in Figura 6.23 è stato acquisito mediante elettrospray in ioni negativi e mostra i segnali relativi agli ioni molecolari di tipo M-1, ottenuti dalla deprotonazione della molecola iniziale. È possibile notare due segnali abbastanza intensi a 163 e 165 m/z che non corrispondono a nessuno dei composti già noti presenti nelle miscele di reazione. Tali segnali potrebbero essere verosimilmente attribuibili all'acido arabinonico (M.W 166.129) e all'acido xylulonico (M.W 164.113), acidi organici derivati dall'ossidazione dell'arabinosio (struttura in Figura 6.22). Peraltro la formazione dell'acido arabinonico per ossidazione dell'arabinosio in presenza di catalizzatori a base di oro è già nota in letteratura ^[53], motivo in più che avvalora l'ipotesi di questi acidi C₅.

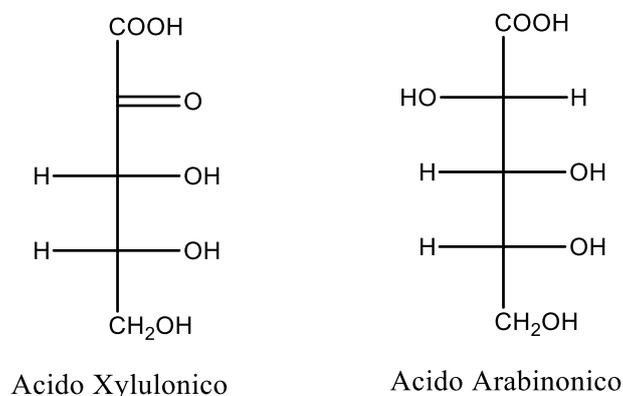


Figura 6.22 – Struttura dell'acido xylulonico e dell'acido arabinonico

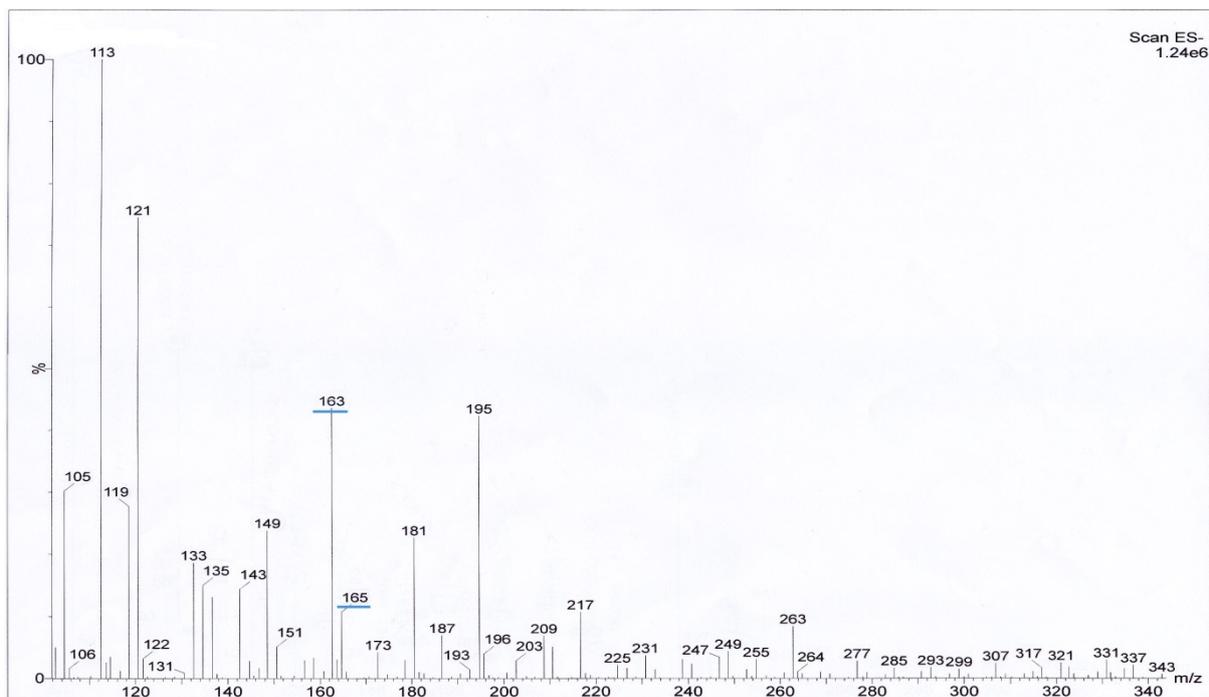
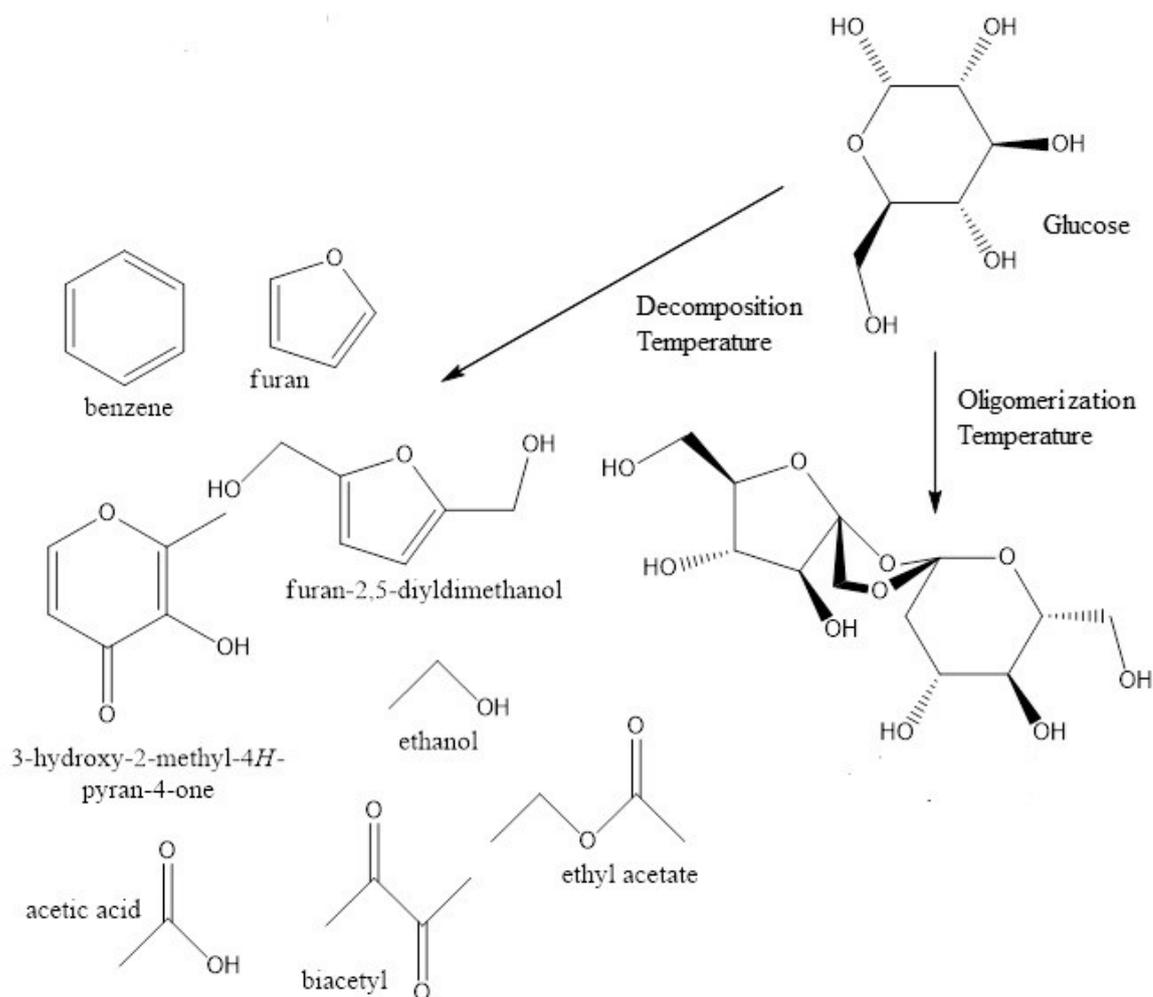


Figura 6.23 – Spettro di massa in elettrospray negativo – Miscela di reazione ottenuta con Au/AC, temperatura 60°C, tempo di reazione 3h, rapporto GLU: cat: NaOH = 500: 1: 1500, pressione 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O

Un'altra parte dell'ammancio al bilancio è da attribuirsi molto probabilmente alla CO₂ proveniente dalle reazioni di decarbossilazione e che si perde nell'atmosfera una volta scaricato il contenuto del reattore. Sebbene lo scarto fra la conversione e la somma delle rese sia stato in parte investigato da un punto di vista qualitativo mediante l'ESI-MS, non è stato possibile avere un riscontro quantitativo sulle analisi in quanto sia l'acido arabinonico che l'acido xylulonico sono difficilmente reperibili in commercio. Ciò ha reso di fatto impossibile la loro calibrazione. D'altro canto la difficoltà nel determinare la quantità di CO₂ prodotta in un sistema batch in fase liquida senza un adeguato sistema di campionamento, non ha reso possibile la quantificazione di quest'ultima.

6.3.3 TEMPERATURA

La temperatura gioca un ruolo fondamentale nell'ossidazione del GLU e la selettività è altamente dipendente da questo parametro. Inoltre, essendo il GLU una molecola termolabile, ad alte temperature si degrada dando origine ad una serie di prodotti di caramellizzazione ^[54], mostrati nello Schema 6.1. La temperatura di caramellizzazione del GLU è di 160°C ma tale valore è fortemente influenzato dal pH e nello specifico si abbassa all'aumentare del pH. Per tale motivo si è preferito eseguire i test catalitici a temperature inferiori ai 100°C.



Schema 6.1 – Reazione di caramellizzazione del glucosio ^[55]

Precedenti studi ^[56] sull'ossidazione del GLU hanno messo in evidenza un aumento della selettività verso GLA, intermedio chiave per la sintesi di GA, operando in un intervallo di temperatura compreso fra i 40 e i 60°C. Sono stati condotti dunque dei test catalitici a 60°C e a 90°C in modo da trovarsi al di sotto della temperatura di caramellizzazione e in un range di temperatura accettabile per apprezzare l'attività catalitica.

Il Grafico 6.2 mostra le rese percentuali in GA, GLA e negli altri prodotti (raggruppati nel termine "altri") ottenute nelle reazioni condotte a diversa temperatura. In tutti i casi la temperatura ha influenzato la selettività verso GA e GLA ad eccezione dei test condotti con il catalizzatore AuAg/AC dove lo scarto fra le rese è risultato essere di pochi punti percentuali. In generale si può affermare che temperature più basse consentono di effettuare un'ossidazione più selettiva, ottenendo alte concentrazioni di C6 fra i prodotti di reazione e riducendo le quantità dei loro prodotti di degradazione. Al contrario aumentando la temperatura si è

registrato un aumento nella concentrazione dei prodotti di degradazione del GLU e dei sottoprodotti derivanti dall'ulteriore ossidazione di GA.

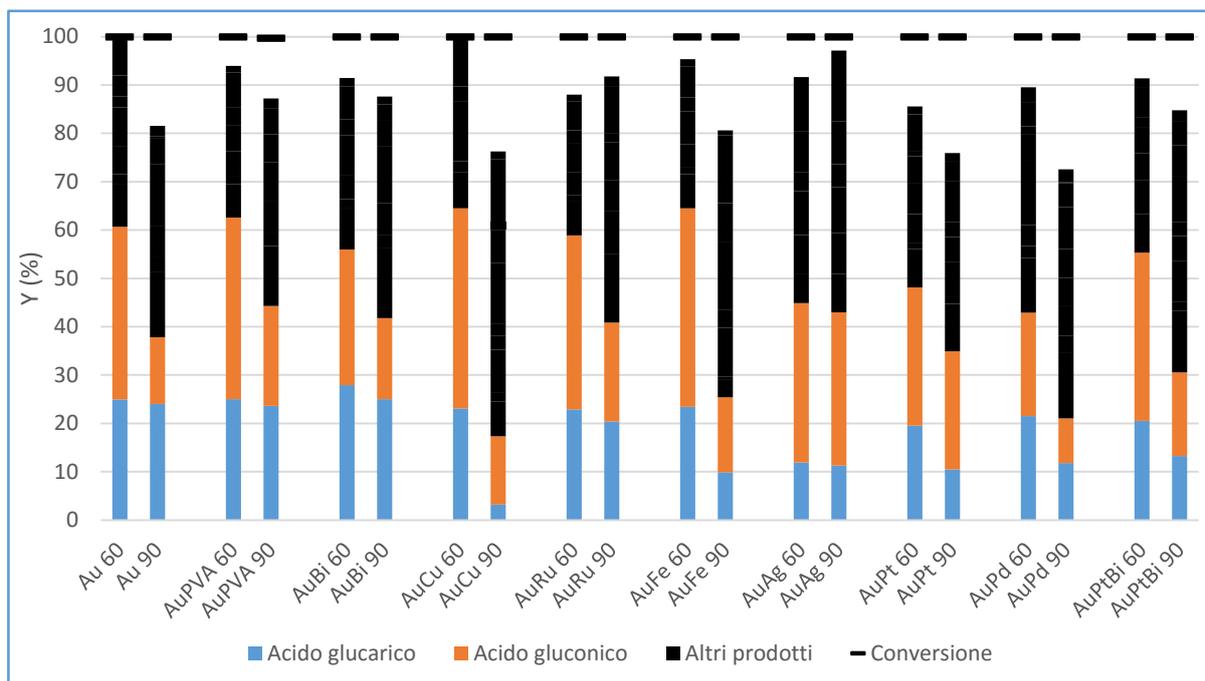


Grafico 6.2 – Rese (%) per la reazione di ossidazione del GLU. Temperatura: 60°C/90°C, tempo di reazione: 3h, rapporto GLU: cat: NaOH = 500: 1: 1500, pressione: 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O. Altri prodotti indicati in Tabella 6.1

Per quanto riguarda l'ammancio al bilancio della reazione, si può notare che le reazioni condotte a 90°C, dove le condizioni di temperatura più spinte favoriscono la formazione dei prodotti di decarbossilazione e quindi di CO₂, sono quelle che nella maggior parte dei casi presentano uno scarto più alto fra la conversione e la somma delle rese. Tale andamento è visibile chiaramente nel Grafico 6.3.

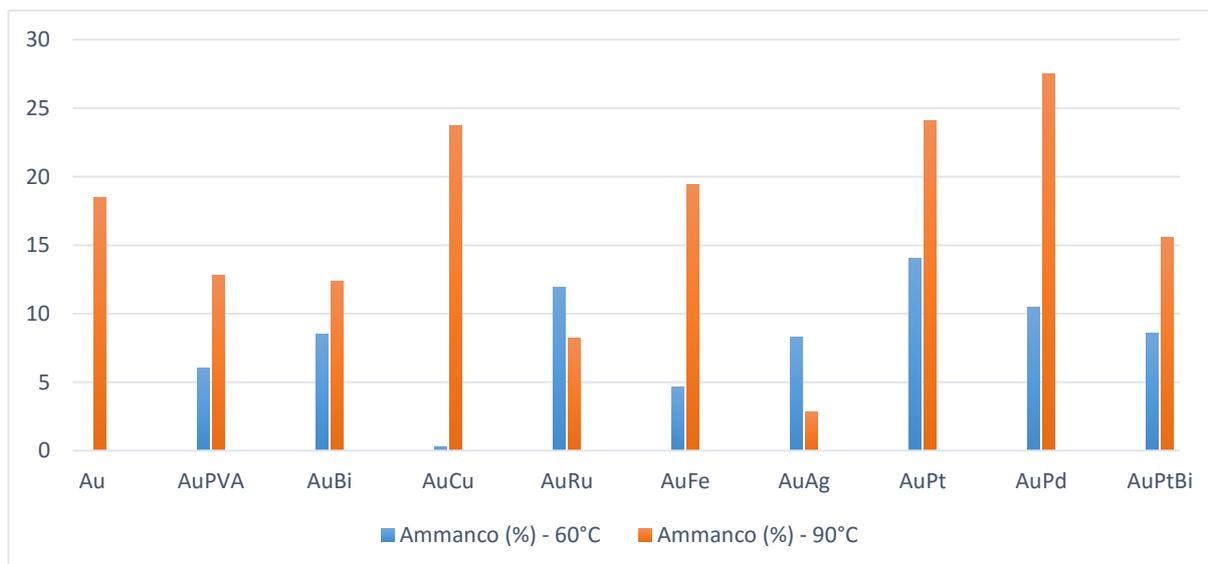


Grafico 6.3 – Scarto (%) fra la conversione e la somma delle rese per le reazioni condotte a 90°C e a 60°C (3h)

6.3.4 EFFETTO DEL BISMUTO SULLA SELETTIVITA'

Osservando nel dettaglio i risultati dei test catalitici effettuati coi catalizzatori Au/AC, AuBi/AC, AuPt/AC e AuPtBi/AC, si è riscontrato un effetto promotore del bismuto sulla selettività verso GA. Tale effetto è ben evidente se si considera che a parità di metal loading il catalizzatore AuBi/AC risulta essere più selettivo di Au/AC, come il catalizzatore AuPtBi/AC è più selettivo di AuPt/AC. L'efficacia del bismuto nell'aumentare la selettività è inoltre confermata anche da alcuni studi condotti da I. Witonska et al. [57].

6.3.5 pH

Dalle analisi delle miscele di reazione ottenute durante la prima fase dei test catalitici, ovvero a seguito dello screening iniziale e delle prove a diversa temperatura, è emerso che le performance migliori sono state ottenute col catalizzatore AuBi/AC. Per questo motivo si è deciso di approfondire ulteriormente gli studi catalitici su questo catalizzatore mediante ulteriori prove allo scopo di investigare l'effetto di altri parametri operativi sulla reazione.

In seguito a dei test preliminari è stato verificato che il catalizzatore a base di oro riesce ad attivare la reazione di ossidazione del GLU solamente a pH basici. Di fatti alcune prove eseguite in ambiente acido o neutro hanno riportato conversioni molto basse e la formazione di prodotti di degradazione del GLU.

Si è scelto dunque di investigare l'andamento della selettività al variare della quantità di base utilizzata, perciò stati condotti dei test variando il rapporto molare NaOH/GLU della miscela

di reazione e mantenendo fissi tutti gli altri parametri operativi (temperatura, tempo di reazione, pressione). Sono stati eseguiti dei test utilizzando i seguenti rapporti molari NaOH/GLU: 1/1, 1/2 e 1/3.

Le prove condotte con un rapporto equimolare di GLU e NaOH ad una temperatura di 60°C per 3h hanno riportato in tutti i casi un'elevata selettività verso la formazione di GLA con rese comprese fra il 70% (con il catalizzatore AuPt/AC) e il 100% (con il catalizzatore AuRu/AC). La resa in GA più alta ($Y_{GA}=1\%$) è stata ottenuta con il catalizzatore AuPt/AC che è risultato essere l'unico in grado di formare prodotti diversi da GLA. A fronte di ciò si è deciso di condurre anche un secondo test catalitico con AuPt/AC nelle medesime condizioni operative ma ad una temperatura di 90°C ma anche in questo caso la resa in GA è risultata essere molto scarsa ($Y_{GA}=2\%$). Infine si è deciso di investigare il comportamento al variare del pH sia di AuBi/AC, che come già detto risulta essere il più selettivo verso la formazione di GA, sia di AuPt/AC, ovvero l'unico sistema catalitico che porta alla formazione di prodotti diversi da GLA anche a bassi rapporti NaOH/GLU.

Nel Grafico 6.4 viene riportato l'andamento delle rese al variare del pH utilizzando AuPt/AC ad una temperatura di 60°C per 3h. Dai risultati ottenuti si evince che la resa in GA risulta essere scarsa ($Y_{GA}=3\%$) anche con un rapporto molare NaOH/GLU pari a 2 motivo per il quale lo studio del catalizzatore AuPt/AC è stato definitivamente abbandonato.

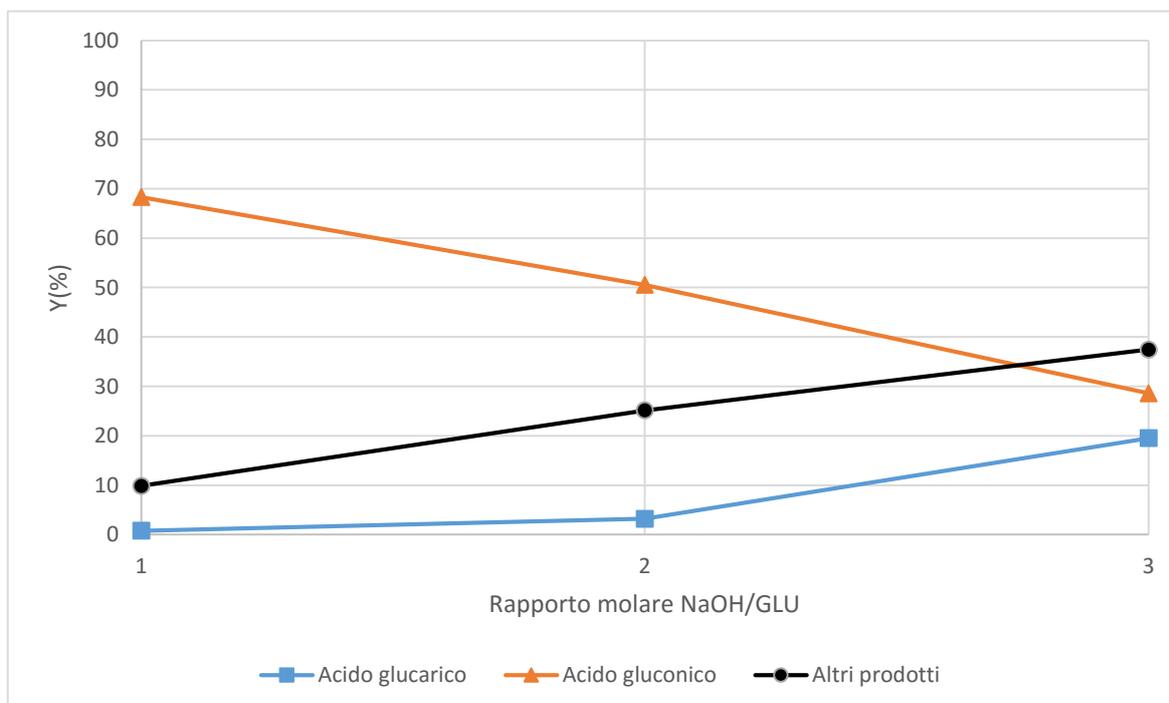


Grafico 6.4 – Rese (%) per la reazione di ossidazione del GLU con AuPt/AC. Temperatura: 60°C, tempo di reazione: 3h, pressione: 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O. Altri prodotti indicati nel grafico 6.1

Nel Grafico 6.5 è riportato l'andamento delle rese al variare del pH utilizzando AuBi/AC ad una temperatura di 60°C per 3h. In questo caso si può notare come, a differenza del catalizzatore AuPt/AC, con un rapporto molare NaOH/GLU pari a 2 si riesca ad ottenere GA con una resa del 21%.

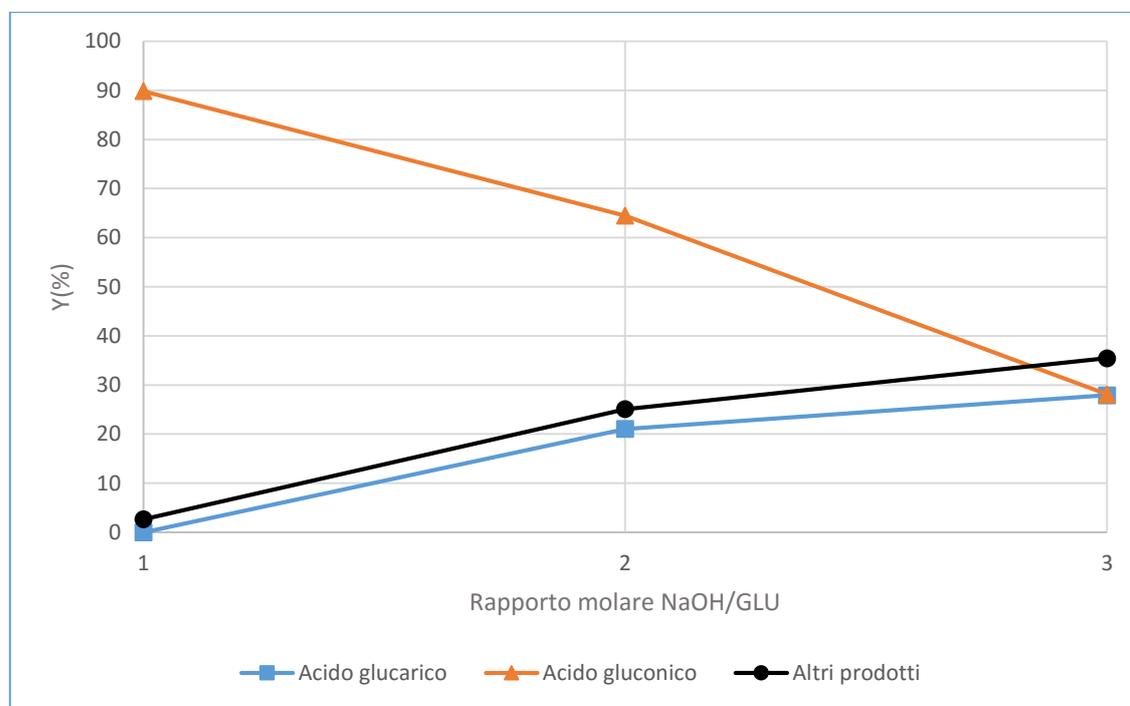


Grafico 6.5 – Rese (%) per la reazione di ossidazione del GLU con AuBi/AC. Temperatura: 60°C, tempo di reazione: 3h, pressione: 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O. Altri prodotti indicati nel grafico 6.1

Un aumento del pH favorisce la formazione dell'acido glucarico, ma anche la formazione dei prodotti di degradazione. Si è comunque deciso di proseguire gli studi utilizzando un rapporto molare glucosio : NaOH pari a 1 : 3.

6.3.6 TEMPO DI REAZIONE

Studi sull'ossidazione di GLA riportati in letteratura hanno mostrato un aumento della selettività verso GA all'aumentare del tempo di reazione ^[26] con una resa massima in GA del 32% utilizzando catalizzatori di tipo PtCu/TiO₂ in condizioni operative molto simili a quelle utilizzate in questo lavoro di tesi. Si è ritenuto opportuno quindi eseguire delle prove catalitiche variando il tempo di reazione per valutare un'eventuale effetto sulle selettività.

Sono state effettuate due serie di misure, entrambe utilizzando AuBi/AC con un rapporto NaOH/GLU pari a 3, una volta alla temperatura di 90°C e un'altra a 60°C per testare la reazione nelle migliori condizioni operative fino ad ora trovate.

Nel Grafico 6.6 sono mostrate le rese nei prodotti ottenuti a 60°C all'aumentare del tempo di reazione. Si può notare come all'aumentare del tempo la resa in GA aumenti, arrivando ad un valore massimo del 35%, così come quella dei prodotti di degradazione (fra cui quello prevalente è l'acido tartronico), mentre la resa in GLA va gradualmente abbassandosi. Ciò suggerisce che GLA, essendo la forma parzialmente ossidata del GLU, sia l'intermedio chiave nella sintesi di GA.

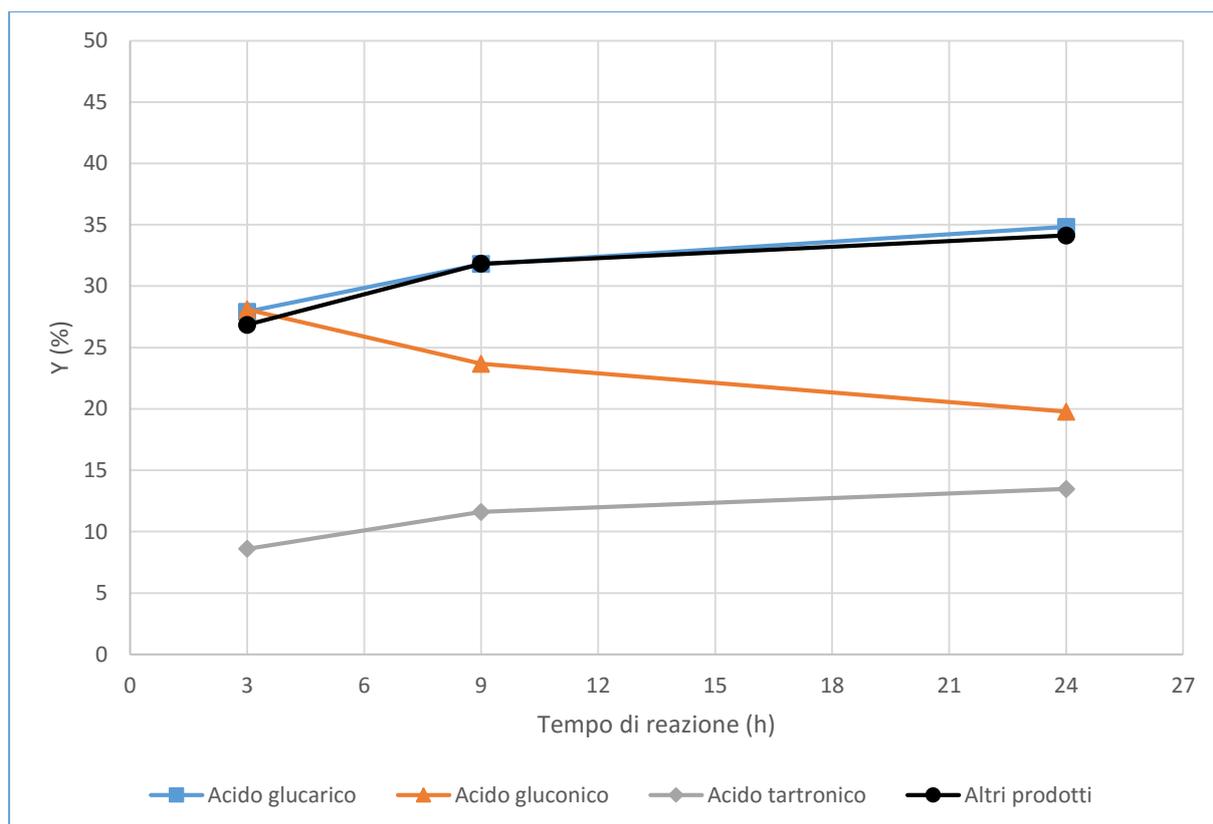


Grafico 6.6 – Rese (%) per la reazione di ossidazione del GLU con AuBi/AC. Temperatura: 60°C, rapporto GLU: cat: NaOH = 500: 1: 1500, pressione: 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O. Altri prodotti indicati nel grafico 6.1

Nel Grafico 6.7 vengono riportate le rese nei prodotti ottenuti a 90°C all'aumentare del tempo di reazione. In questo caso all'aumentare del tempo di reazione la resa in GLA e GA diminuisce mentre tende ad aumentare la resa in acido tartronico, sottoprodotto che si ottiene dall'ossidazione spinta di GA.

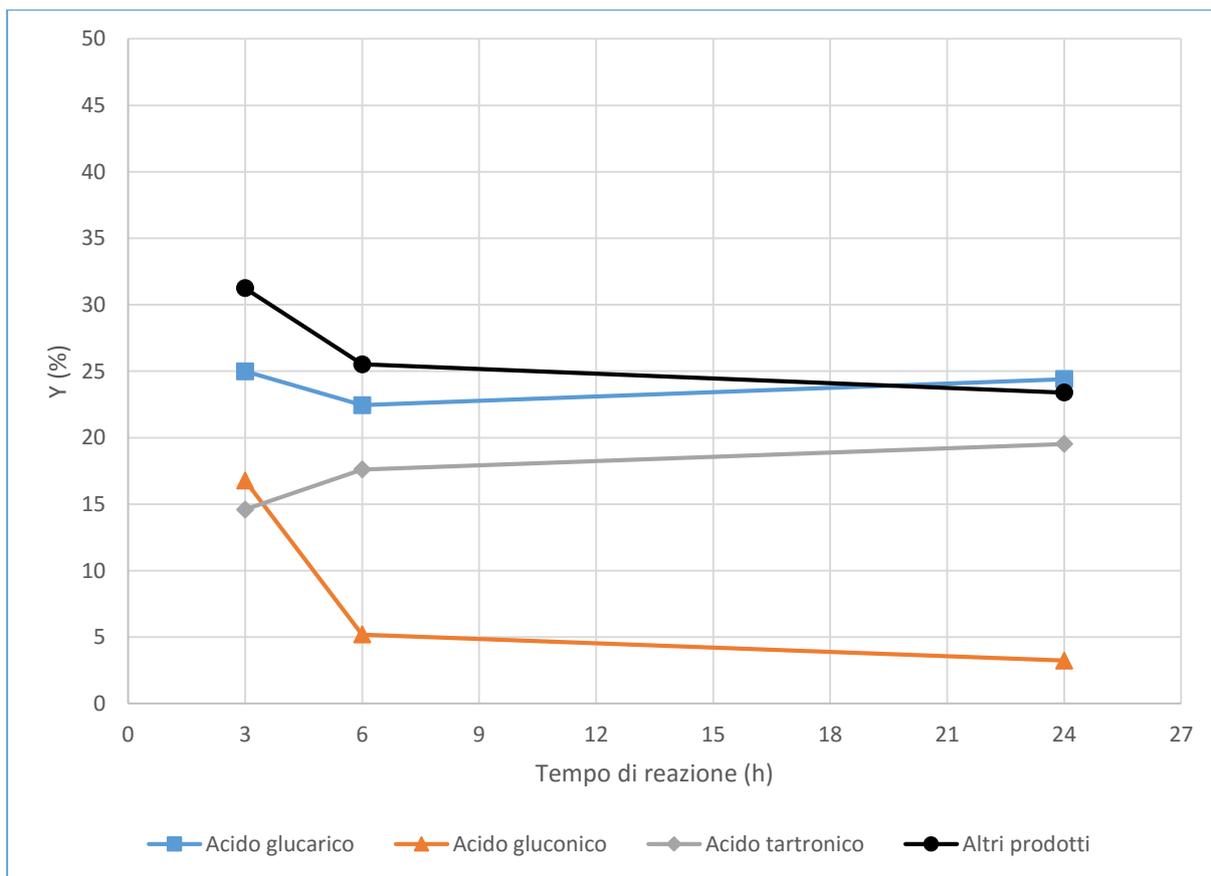


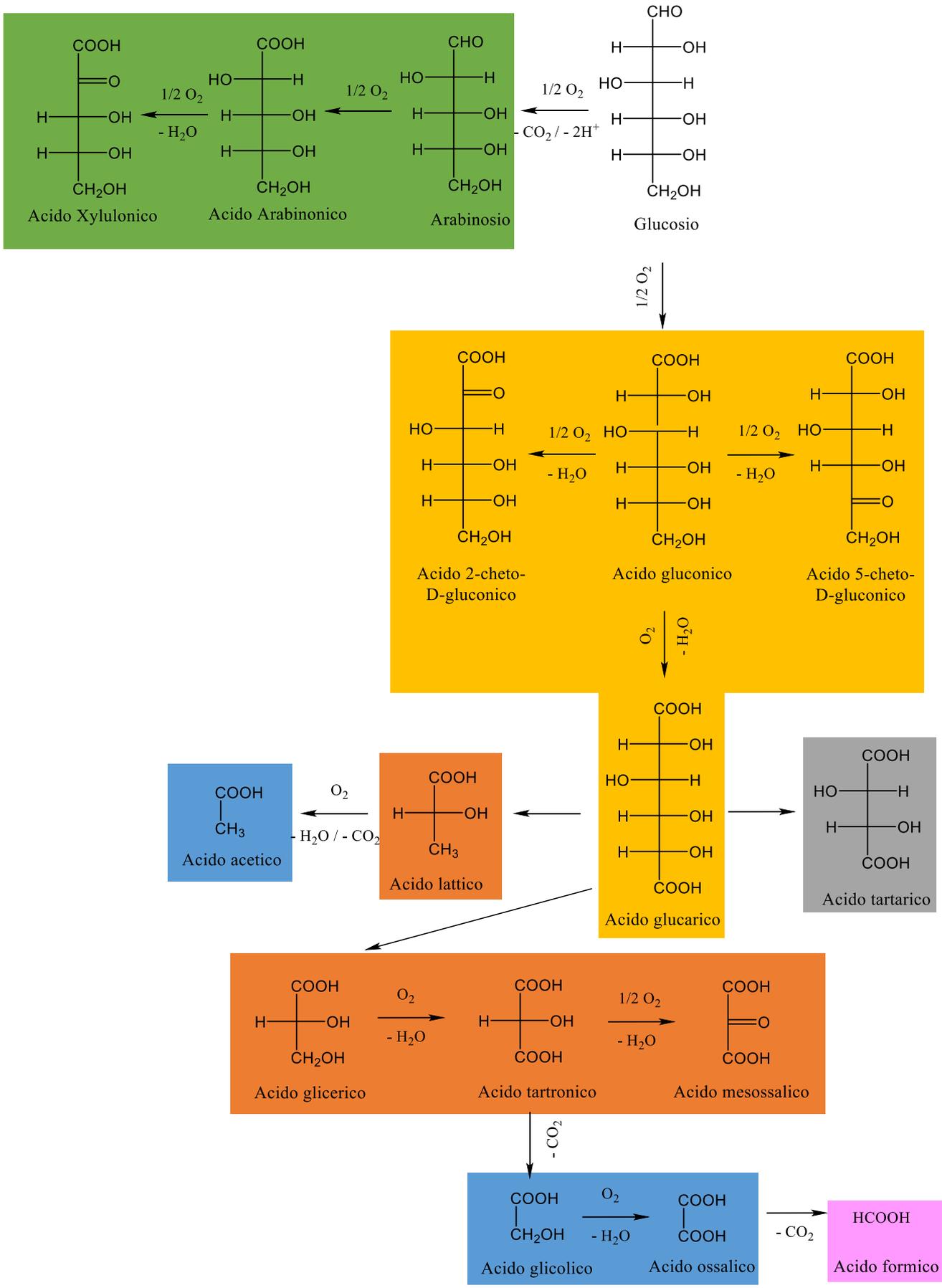
Grafico 6.7 – Rese (%) per la reazione di ossidazione del GLU con AuBi/AC. Temperatura: 90°C, rapporto GLU: cat: NaOH = 500: 1: 1500, pressione: 10 bar O₂, GLU 5%wt in H₂O. Altri prodotti indicati nel grafico 6.1

6.4 SCHEMA DI REAZIONE

Dai risultati ottenuti tramite l'analisi delle miscele di reazione è stato possibile costruire uno schema di reazione, mostrato nello Schema 6.2, secondo il quale procede l'ossidazione del GLU in ambiente basico in presenza di catalizzatori a base di oro.

L'acido tartarico e l'acido acetico, anche se previsti come intermedi nello schema, sono stati trovati in tracce solo in alcune miscele di reazione.

Schema 6.2 (pagina seguente) – Schema di reazione per l'ossidazione catalitica del GLU in ambiente basico. Sono riportati in giallo i composti C₆, in verde i C₅, in grigio i C₄, in arancione i C₃, in azzurro i C₂ e in rosa i C₁.



7. LAVORI FUTURI

Alla luce dei risultati ottenuti con questo studio sulla sintesi dell'acido glucarico è emerso che l'utilizzo di catalizzatori eterogenei per l'ossidazione del glucosio risulta essere sicuramente una via percorribile che potrebbe portare in futuro allo sviluppo di un vero e proprio processo produttivo. Tuttavia rimangono ancora diversi parametri da investigare e alcuni punti chiave nel meccanismo di reazione non del tutto chiari.

Studi futuri potrebbero concentrarsi ad esempio sull'influenza del tempo di reazione negli intervalli di tempo non considerati in questo lavoro di tesi, ovvero per tempi minori di 3 h o maggiori di 24 h. L'andamento delle selettività ottenuto in questo lavoro suggerisce la probabile esistenza di un punto corrispondente ad un tempo di reazione minore di 3 h dove la resa nei prodotti secondari potrebbe essere minore, consentendo quindi di ottenere probabilmente una maggiore selettività in acido glucarico.

In questo lavoro di tesi non è stata presa in considerazione l'influenza sulla reazione dei fenomeni di trasporto di materia. Nello specifico potrebbe essere interessante studiare tali effetti variando la concentrazione del reagente nella miscela di reazione e la pressione di ossigeno utilizzata.

Avendo verificato l'effetto promotore del bismuto sarebbe di certo interessante studiare le proprietà catalitiche di nuovi catalizzatori sintetizzati con un rapporto molare Bi/Au maggiore ed eventualmente utilizzando altri metodi di sintesi che permettano di ottenere un controllo migliore sulla distribuzione dei due metalli sul supporto.

Infine rimarrebbero da investigare gli effetti catalitici derivanti dal supporto. Si potrebbe dunque pensare di sintetizzare nuovi catalizzatori con supporti diversi dal carbone attivo e nello specifico tentare di utilizzare supporti che abbiano una basicità intrinseca in modo da diminuire la quantità di base necessaria per la sintesi dell'acido glucarico.

8. CONCLUSIONI

Gli studi sulla sintesi dell'acido glucarico condotti in questo lavoro di tesi hanno portato alla conclusione che è possibile ottenere acido glucarico a partire da D-glucosio con rese fino al 35% utilizzando come catalizzatore AuBi/AC, acqua come solvente e in presenza di ossigeno come ossidante. È stato dimostrato che la reazione procede prevalentemente verso la formazione di acido glucarico solo in presenza di NaOH in concentrazioni elevate. Inoltre si ha un miglioramento della selettività all'aumentare del tempo di reazione e ad una temperatura di 60°C.

Attualmente l'acido glucarico viene prodotto solo su piccola scala ma ulteriori sviluppi in questa direzione potrebbero aprire la strada allo sviluppo di un nuovo processo industriale per la sintesi di acido glucarico che possa essere sostenibile sia da un punto di vista economico che ambientale. I principali limiti riscontrati fino ad ora sono la necessità di condurre le reazioni in presenza di grandi quantità di base e la limitata selettività della reazione verso la formazione dell'acido glucarico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Frieder W. Lichtenthaler: *Carbohydrates as Organic Raw Materials*; Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry vol.6 – pag. 584
- [2] B. Kamm, P.R. Gruber, M. Kamm: *Biorefineries – Industrial Processes and Products*; Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry vol.5 – pag 666
- [3] Frieder W. Lichtenthaler, Siegfried Peters: *Carbohydrates as green raw materials for the chemical industry*; C. R. Chimie 7 (2004) 65–90
- [4] United States Department of Agriculture: *Sugar: World Markets and Trade* (2015)
- [5] F.O. Licht: *2015 World Fuel Ethanol Production*; Renewable Fuels Association
- [6] R. Ulber, D. Sell: *White Biotechnology*; Springer, 2007
- [7] H. Kobayashi, A. Fukuoka: *Synthesis and utilisation of sugar compounds derived from lignocellulosic biomass*; Green Chem., 2013, 15, 1740-1763
- [8] T. Werpy, G. Petersen: *Top Value Added Chemicals from Biomass*; US Department of Energy, Washington DC, 2004
- [9] Robert Żółtaszek, Margaret Hanausek, Zofi M. Kiliańska, Zbigniew Walaszek: *The biological role of D-glucaric acid and its derivatives*; Postepy Hig Med Dosw (online), issue 62, 451-462, 2008
- [10] Z. Walaszek: *Potential use of D-glucaric acid derivatives in cancer prevention*; Cancer Lett. 1990, 54, 1–8.
- [11] Walaszek, Z., Szemraj, J., Hanausek, M., Adams, A. K., Sherman: *D-Glucaric acid content of various fruits and vegetables and cholesterol-lowering effects of dietary D-glucarate in the rat*; U. Nutr. Res. 1996, 16, 673–681.
- [12] Narula, J.; Petrov, A.; Pak, K.-Y.; Lister, B.C.; Khaw, B.-A: *Very early non-invasive detection of acute nonperfused myocardial infarction with ^{99m}Tc glucarate*; Circulation 1997, 95 (6), 1577–1584.
- [13] Korzh, E. N.; Sukhotin, A. M: Zh. Prikl. Khim. 1981, 54, 2404–2407

- [14] Abbadi, A.; Gotlieb, K. F.; Meiberg, J. B. M.; Peters, J. A.; van Bekkum, H: *New Ca-sequestering materials. based on the oxidation of the hydrolysis products of lactose*; Green Chem. 1999, 1, 231–235.
- [15] Devin G. Barrett and Muhammad N. Yousaf: *Poly(triol α -ketoglutarate) as Biodegradable, Chemoselective, and Mechanically Tunable Elastomers*; Macromolecules, 2008, 41 (17), pp 6347–6352
- [16] University of York: *Polyamides*; The Essential Chemical Industry Online (2013)
- [17] H. Roper: *Selective Oxidation of Glucose*; Starch/Starke, 42, p. 346 (1990)
- [18] O. Sohst, B. Tollens: *Über krystallisirte Zuckersäure (Zuckerlactonsäure)*; Liebigs Ann. Chem. 1888, 245, 1–27
- [19] Tyler N. Smith, Kirk Hash, Cara-Lee Davey, Heidi Mills, Holly Williams, Donald E. Kiely: *Modifications in the nitric acid oxidation of D-glucose*; Carbohydrate Research 350 (2012) 6–13
- [20] Mustakas, G. C.; Slotter, R. L.; Zipf, R. L. *Potassium Acid Saccharate by Nitric Acid Oxidation of Dextrose*. Ind. Eng. Chem. 1954, 46, 427-434
- [21] N. Merbouh, Jean Francois Thaburet, Mathias Ibert, Francis Marsais, James M. Bobbitt: *Facile nitroxide-mediated oxidations of D-glucose to D-glucaric acid*; Carbohydrate Research 336 (2001) 75–78
- [22] Tae Seok Moon, Sang-Hwal Yoon, Amanda M. Lanza, Joseph D. Roy-Mayhew, Kristala L. Jones Prather: *Production of Glucaric Acid from a Synthetic Pathway in Recombinant Escherichia coli*; Appl. Environ. Microbiol. 2009, 75, 589–595
- [23] V. Pamuk, M. Yilmaz, A. Alicilar: *The preparation of D-glucaric acid by oxidation of molasses in packed beds*; J. Chem. Technol. Biotechnol. 2001, 76, 186-190
- [24] D. Bin, H. Wang, J. Li, Z. Yin, J. Kang, B. He, Z. Li: *Controllable oxidation of glucose to gluconic acid and glucaric acid using an electrocatalytic reactor*; Electrochimica Acta 130 (2014) 170–178
- [25] Rennovia Inc.: US patent 2011/306790A1

- [26] X. Jin, M. Zhao, J. Shen, W. Yan, L. He, P. S. Thapa, S. Ren, B. Subramaniam, R. V. Chaudhari: *Exceptional performance of bimetallic Pt₁Cu₃/TiO₂ nanocatalysts for oxidation of gluconic acid and glucose with O₂ to glucaric acid*; Journal of Catalysis 330 (2015) 323–329
- [27] National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): *Approaches to Safe Nanotechnology: Managing the Health and Safety Concerns Associated with Engineered Nanomaterials* (March 2009)
- [28] Karmani L, Labar D, Valembois V, Bouchat V, Nagaswaran PG: *Antibody-functionalized nanoparticles for imaging cancer: influence of conjugation to gold nanoparticles on the biodistribution of ⁸⁹Zr-labeled cetuximab in mice*; Contrast Media Mol Imaging. 2013, 8, 402-408
- [29] S. Horikoshi, N. Serpone: *Microwaves in Nanoparticle Synthesis*; 2013, Wiley-VCH, 22-23
- [30] Kawazome , M., Kim K., Hatamura , M., Suganuma , K.: *Funsai* , 2007, 50 , 27 – 31
- [31] W.D. Zhang, L. Shen, I.Y. Phang, T. Liu: *Carbon Nanotubes Reinforced Nylon-6 Composite Prepared by Simple Melt-Compounding*; Macromolecules 2004, 37, 256-259
- [32] T. Takei, T. Akita, I. Nakamura, T. Fujitani, M. Okumura, K. Okazaki, J. Huang, T. Ishida, M. Haruta: *Heterogeneous catalysis by gold*; Advances in Catalysis, 55, B.C. Gates, F.C. Jentoft ed., Elsevier, Chapter 1, pag. 5 (2012)
- [33] W. Eberhardt: *Clusters as new materials*; Surface Science 2002, vol 500, pp. 242-270
- [34] M. Haruta, T. Kobayashi, H. Sano, N. Yamada: *Novel Gold Catalysts for the Oxidation of Carbon Monoxide at a Temperature far Below 0 °C*; Chem. Lett., 1987, 405
- [35] G. J. Hutchings: *Vapor phase hydrochlorination of acetylene: Correlation of catalytic activity of supported metal chloride catalysts*; J. Catal., 1985, 96, 292
- [36] M. Haruta: *When Gold Is Not Noble: Catalysis by Nanoparticles*; The Chemical Record vol 3, issue 2, 75–87, 2003
- [37] D. Thompson: *Gold Bulletin*; 1998, vol 31, 111-118
- [38] S. Taylor, R. Meyer, I. Klingbiel, L. Glaner, A. Bollmann, E. van der Lingen: *New Industrial Uses for Gold 2001: Catalytic Gold*; 2001, p.41

- [39] B. Grigorova, J. Mellor, A. Palazov, F. Greyling: *Selective catalytic oxidation of CO in presence of hydrogen*, Patent PCT/IB00/00390, 2000
- [40] N. Lopez, T.V.W. Janssens, B.S. Clausen, Y. Xu, M. Mavrikakis, T. Bligaard and J.K. Nørskov: *On the origin of the catalytic activity of gold nanoparticles for low-temperature CO oxidation*; *J. Catal.* 2004, 223, 232.
- [41] D. Andreeva: *Low temperature water gas shift over gold catalysts*; *Gold Bulletin*, 2002, 35, 82-88
- [42] D. Fischer, W. Andreoni, A. Curioni, H. Gronbeck, S. Burkart, G. Gantefor: *Chemical Physics Letters*, 2002, 361, 389-396
- [43] T. Hayasaki, K. Tanaka, M. Haruta: *Selective vapor-phase epoxidation of propylene over Au/TiO₂ catalysts in the presence of oxygen and hydrogen*; *J. Catalysis*, 1998, 178, 566-575
- [44] A. Ueda, M. Haruta: *Nitric Oxide Reduction with Hydrogen, Carbon Monoxide, and Hydrocarbons over Gold Catalysts*; *Gold Bulletin*, 1999, vol 32, 3-11
- [45] S. Carrettin, P. McMorn, P. Johnston, K. Griffinb, G.J. Hutchings; *Selective oxidation of glycerol to glyceric acid using a gold catalyst in aqueous sodium hydroxide*; *Chem. Commun.*, 2002, 696–69
- [46] A. Villa, D. Wang, D. Sheng Su, L. Prati: *Gold Sols as Catalysts for Glycerol Oxidation: The Role of Stabilizer*; *ChemCatChem* 2009, 1, 510 – 514
- [47] D. Wang, A. Villa, F. Porta, D. Sua, L. Prati: *Single-phase bimetallic system for the selective oxidation of glycerol to glycerate*; *Chem. Commun.*, 2006, 1956–1958
- [48] C. Della Pina, E. Falletta, L. Prati and M. Rossi: *Selective oxidation using gold*; *Chem. Soc. Rev.*, 2008, 37, 2077–2095
- [49] S. Biella, L. Prati and M. Rossi: *Selective Oxidation of D-Glucose on Gold Catalyst*; *J. Catal.*, 2002, 206, 242
- [50] M. Comotti, C. Della Pina, R. Matarrese, M. Rossi: *The catalytic activity of naked gold particles*; *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2004, 43, 5812.
- [51] A. Villa, D. Wang, G. M. Veith, L. Prati: *Bismuth as a modifier of Au–Pd catalyst: Enhancing selectivity in alcohol oxidation by suppressing parallel reaction*; *J. Catal.*, 2012, 292, 73-80

- [52] C.A. Lobry de Bruyn, W.A. van Ekenstein; *Rec. trav. Chim. Pays-Bas*, 14, 203, 1895
- [53] S. Karski, I. Witonska: *Bismuth as an additive modifying the selectivity of palladium catalysts*; *J of Mol. Catal. A*, 2003, 191, 87-92
- [54] J. O'Brien: *The Maillard Reaction in Foods and Medicine*; Woodhead Publishing, 1998, 174
- [55] C. L. de Aguiar, A. L. Bodoni Rocha, J. Rodrigues Jambassi, A. S. Baptista, R. Bergamin Lima: *Factors Affecting Color Formation During Storage of White Crystal Sugar*; *Focusing on Modern Food Industry*, 4, 2015
- [56] A. Mirescu, H. Berndt, A. Martin, U. Prusse: *Long-term stability of a 0.45% Au/TiO₂ catalyst in the selective oxidation of glucose at optimised reaction conditions*; *Appl. Catal. A. Gen* (2007), 204-209
- [57] E. Smolentseva, B.T. Kusema, S. Beloshapkin et al.: *Selective oxidation of arabinose to arabinonic acid over Pd-Au catalysts supported on alumina and ceria*; *Appl. Catal. A. Gen* 392, 69-79