

毕赤酵母还原制备 Ag/ZrO₂ 催化剂及其催化 1,2-丙二醇选择氧化反应研究

景孝廉¹, 王 慧¹, 陈慧梅¹, 黄加乐¹, 孙道华¹, 李清彪^{1,2*}

(1. 厦门大学 化学化工学院 化学工程与生物工程系, 福建 厦门 361005;

2. 泉州师范学院 化学与生命科学学院, 福建 泉州 362000)

摘 要: 将微生物还原法制备银纳米颗粒的技术引入到催化剂的制备当中, 以毕赤酵母菌体干粉作为还原剂制备纳米银粉, 采用溶胶负载法将银负载获得 Ag/ZrO₂ 催化剂, 利用 TEM、XRD、UV-Vis DRS 等方法对催化剂进行了表征, 并将所制备的催化剂用于 1,2-丙二醇选择氧化制备丙酮醛的反应中。研究表明, 在 1,2-丙二醇的空速为 5.2 h⁻¹, 反应温度 340℃ 时, 450℃ 下焙烧的银负载量为 8% 的 Ag/ZrO₂ 催化剂获得了最佳的催化反应性能, 1,2-丙二醇的转化率达到 96.8%, 丙酮醛的选择性达到 78.3%。

关键词: 催化化学; 微生物还原; 银催化剂; 1,2-丙二醇; 毕赤酵母

中图分类号: O643.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0676(2014)S1-0131-06

Preparation of Ag/ZrO₂ Catalyst with Microorganism-mediated Biosynthesis method by using *Pichia Pastoris* for selective oxidation of 1,2-propanediol

JING Xiaolian¹, WANG Hui¹, CHEN Huimei¹, HUANG Jiale¹, SUN Daohua¹, LI Qingbiao^{1,2*}

(1. Department of Chemical and Biochemical Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China;

2. College of Chemistry & Life Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, Fujian, China)

Abstract: Ag/ZrO₂ catalysts for the selective oxidation of 1,2-propanediol to methylglyoxal with molecular oxygen were prepared by an immobilization method based on the microorganism-mediated biosynthesis process with *Pichia pastoris*. The catalyst was characterized by XRD, TEM, UV-Vis DRS and TG techniques. The effects of reaction conditions (temperature and space velocity), Ag loading amount and calcination temperature of the as-produced Ag/ZrO₂ catalysts on the catalytic performance were investigated. And the results showed that the 8% Ag/ZrO₂ catalyst calcined at 450℃ exhibited the best catalytic activity with 96.8% 1,2-propanediol conversion and 78.3% methylglyoxal selectivity.

Key words: catalytic chemistry; microorganism-mediated biosynthesis; Ag catalysts; 1,2-propanediol; *Pichia pastoris*

丙酮醛(MGX)是一种重要的有机合成中间体, 主要用作药物中间体, 也广泛用于制备农药、食品添加剂等^[1-2]。丙酮醛制备方法中所采用的催化剂多为电解银催化剂, 反应温度低于 500℃ 时活性不够,

产物中有较多副产物羟基丙酮, 高于 500℃ 时, 银容易快速团聚导致催化活性下降^[2]。因此探索和深入研究在低温条件下具有高催化性能的催化剂, 是丙酮醛实现经济、“绿色”规模化生产的关键。

收稿日期: 2014-08-06

基金项目: 稀贵金属综合利用新技术国家重点实验室开放课题(SKL-SMP-201210)。

第一作者: 景孝廉, 女, 博士, 研究方向: 工业催化。E-mail: jxl@xmu.edu.cn

*通讯作者: 李清彪, 男, 博士, 教授, 研究方向: 纳米材料的生物合成与应用。E-mail: kelqb@xmu.edu.cn

近年来,催化材料制备过程绿色化的研究日趋活跃,微生物还原法受到了越来越多的重视。微生物还原制备贵金属纳米颗粒过程,不仅反应条件温和,不需要化学合成的模板、导引剂以及其它辅助手段,而且可以利用更具绿色特征的生物质资源,因此已成为贵金属纳米颗粒制备技术研究中的一个热点^[3]。利用菌体干粉制备贵金属纳米颗粒的非酶还原过程不依赖于微生物的代谢,可以不受生物生长条件的限制,课题组前期的研究发现,微生物细胞中含有丰富的羟基、醛基、羰基等官能团,能在温和条件下将银离子还原获得银纳米颗粒^[4-8]。

本文将微生物还原法制备银纳米颗粒的技术引入到催化剂的制备当中,以毕赤酵母菌体干粉作为还原剂制备纳米银粉,采用溶胶负载法将所获纳米银粉负载获得 Ag/ZrO₂ 催化剂,该过程的一大特色是无需分离纳米银粉中的生物质。将所制备的催化剂用于 1,2-丙二醇选择性氧化制备丙酮醛的反应,考察了催化反应条件和催化剂制备条件对反应性能的影响。

1 实验部分

1.1 银催化剂的制备

毕赤酵母(*Pichia pastoris*)菌粉的制备:液体培养基成分:酵母粉 10 g/L,大豆蛋白胨 20 g/L,葡萄糖 20 g/L。在 30℃,150 r/min 下振荡培养 48 h 后,离心分离除去上清液,菌体洗涤 3 次后于 60℃ 下烘干至恒重,冷却后研磨成微细粉末。

微生物还原制备银催化剂:采用微生物还原溶胶负载法制备 Ag/ZrO₂ 催化剂。首先采用毕赤酵母菌粉制备纳米银粉。称取 1 g 干菌粉于 100 mL 锥形瓶中,加入 10 mL 去离子水,振荡分散均匀后加入 10 mL 浓度为 2 mol/L 的 NaOH 溶液和 10 mL 去离子水,再次振荡分散均匀,最后加入 10 mL 浓度为 1 mol/L 的银氨溶液和 10 mL 去离子水,于 60℃ 恒温水浴振荡器中 130 r/min 下避光反应 10 h。离心分离产物,收集沉淀洗涤后在 30~45℃ 下真空干燥,研磨成粉状,经测试表明该粉末中 Ag 含量为 38.8% (质量分数,下同),即所获纳米银粉中有一定比例的生物质;称取适量上述银粉,将其分散于适量去离子水中配制成浸渍液,室温下等容浸渍 ZrO₂ 载体 10 h 后,110℃ 干燥 2 h,马弗炉中按所需温度焙烧 1 h 即得到 Ag/ZrO₂ 催化剂,最后对得到的催化剂进行压片,筛选 40~60 目的颗粒备用。

1.2 催化剂的表征

X 射线衍射(XRD)实验在 Panalytical X'pert PRO 多晶粉末 X-射线衍射仪上进行,以 Cu K_α 为辐射源,在电压 40 kV,电流 30 mA 条件下进行测试。透射电镜(TEM)表征在 Philips TECNAI F-30 型场发射透射电镜下进行,使用 SigmaScan Pro 软件(4.01 版,SPSS Inc.)分析统计纳米颗粒粒径。催化剂的紫外可见漫反射(UV-Vis)测试在 Varian CARY 5000 紫外-可见-近红外分光光度计上进行,以 BaSO₄ 为参比,扫描范围为 200~800 nm。

1.3 催化剂评价

银催化剂的活性评价在自制的常压固定床微型反应装置上进行,采用 Φ8×10 mm 的不锈钢直管反应器,管式电阻炉加热。催化剂用量为 1 g,利用计量泵将 1,2-丙二醇溶液(5 mL/h)输送到反应器中,以空气(150 mL/min)为氧化剂,醇氧比为 1:1.2。反应产物经冷凝后用气相色谱(GC-9650)进行分析,检测器为氢火焰检测器,SE-30 毛细管柱。采用外标法进行计算 1,2-丙二醇的转化率和丙酮醛的选择性。

2 结果与讨论

2.1 催化剂表征

2.1.1 X 射线衍射(XRD)分析

图 1 为由毕赤酵母菌粉还原银氨溶液制得的银粉的 XRD 图。

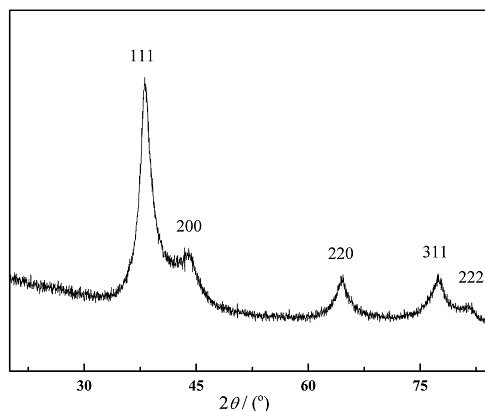


图 1 毕赤酵母还原银氨溶液制得的银粉的 XRD 图;

Fig.1 XRD patterns of Ag powder

从图 1 中可以看出,样品在 2θ 为 38.1°、44.3°、64.4°、77.4° 和 81.5° 的位置出现 5 个明显的衍射峰,与 PDF 卡 01-087-3722 匹配,表明产物是面心立方(fcc)的单质银结构,5 个峰分别对应银的(111)、

(200)、(220)、(311)和(222)晶面。将制得的纳米银粉分散于一定量去离子水中获得溶胶, 并等容浸渍载体 ZrO₂, 经干燥和 450℃ 焙烧后获得 Ag/ZrO₂ 催化剂。

图 2 给出了采用微生物还原法制备的 Ag/ZrO₂ 催化剂的 XRD 表征结果。从图 2 可以看出, 在负载后的催化剂上检测到了对应于单质银的一组衍射峰, 且随着银负载量的增加衍射峰强度明显增强, 表明本实验中银被成功地负载到 ZrO₂ 载体上。

2.1.2 TEM 表征

图 3 是经 450℃ 焙烧的银的理论负载量为 8% 的 Ag/ZrO₂ 催化剂的 TEM 表征结果。从图 3 中 A~C 可以看出, 银纳米颗粒成功地负载到了载体表面, 且分散较为均匀。用 SigmaScan Pro 软件对数张电镜照片进行分析, 统计结果表明银颗粒的粒径分布在 3~17 nm 范围内, 主要集中在 4~7 nm 之间 (图 3 D)。在负载到 ZrO₂ 载体上之后, 虽然经过焙烧(450℃), 银纳米颗粒还是保持了较小的尺寸且无明显的

团聚现象, 说明生物还原溶胶负载法是一种有效的制备负载型银催化剂的方法。

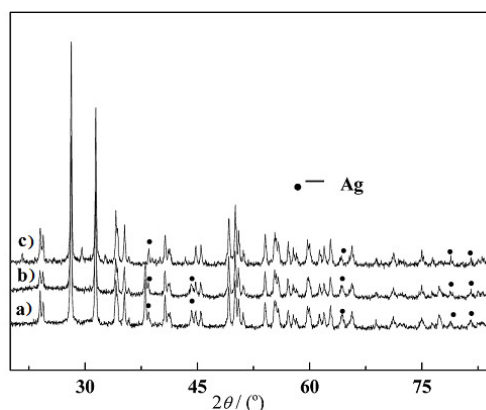


图 2 不同银负载量的 Ag/ZrO₂ 催化剂的 XRD 图
Fig.2 XRD patterns of Ag/ZrO₂ catalysts with different silver loadings

[(a). 5%; (b). 8%; (c). 10%]

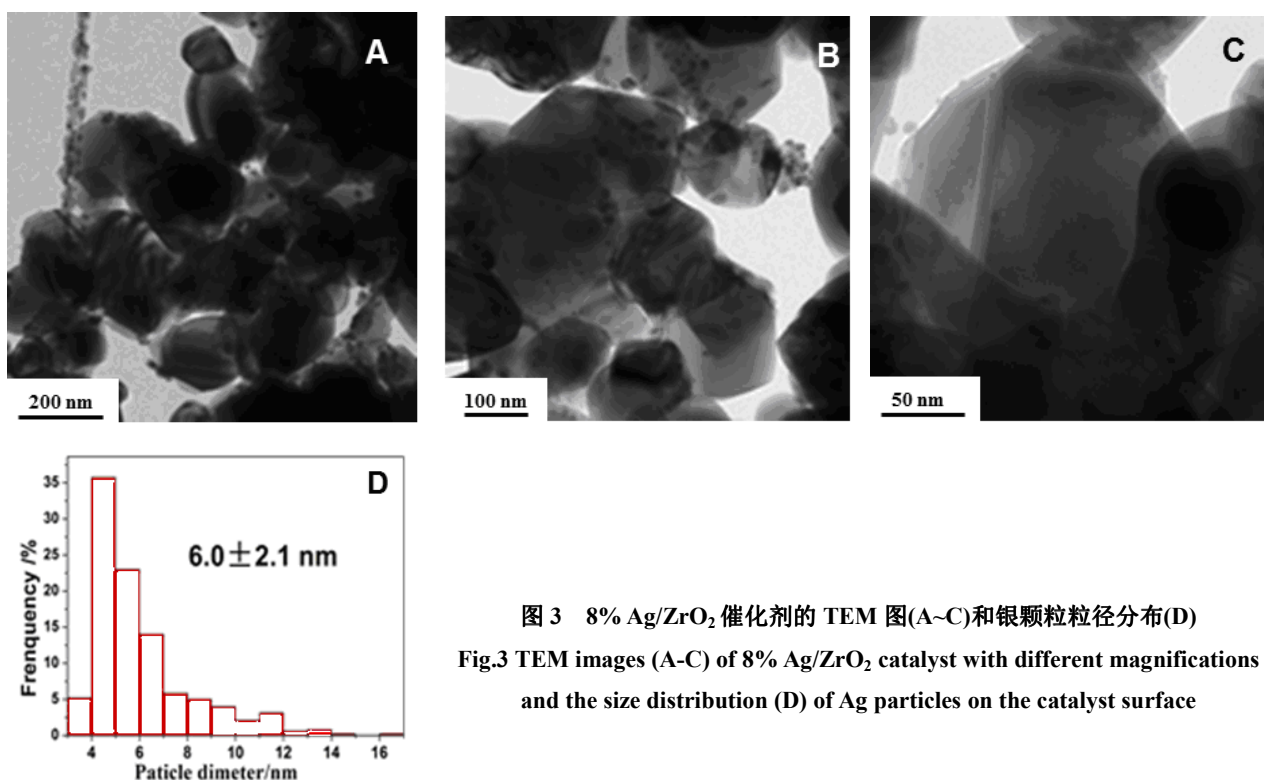


图 3 8% Ag/ZrO₂ 催化剂的 TEM 图(A~C)和银颗粒粒径分布(D)
Fig.3 TEM images (A-C) of 8% Ag/ZrO₂ catalyst with different magnifications and the size distribution (D) of Ag particles on the catalyst surface

2.1.3 紫外可见漫反射 (UV-Vis DRS) 和热重 (TG) 分析

紫外可见漫反射光谱(UV-Vis DRS)是研究银基催化剂的一种有效手段^[9]。一般认为, UV-Vis DRS 光谱中, 250 nm 处的吸收为单个的 Ag⁺离子的

s-p, d-p 电子跃迁引起, Ag_n 团簇被认为是多原子分子体系, 存在着 s-s* 和 n-s* 分子轨道间的电子跃迁, 可能引起 330~380 nm 及 440~540 nm 波段的吸收峰^[9-11]。对于负载型的银催化剂, 由于金属载体的相互作用往往使得载体表面的银颗粒带一定的正

电荷形成带电荷的银团簇($\text{Ag}_n^{\delta+}$), 出现 280~290 nm 以及 370~390 nm 处的峰。对于较大的银团簇及银结晶颗粒, 在 400~500 nm 波段会产生等离子体共振特征吸收峰^[12-13]; 也有研究表明金属银膜会在 310~315 nm 处存在特有的光电效应^[14]。此外, 许多学者在银的紫外漫反射光谱研究过程中发现, 含银体系特别是负载型含银体系会存在着银与载体之间的相互作用, 可能引起电荷的转移并直接影响到银的吸收峰位置及强度, 而带电荷的银团簇($\text{Ag}_n^{\delta+}$)的形成对于提高氧化反应的活性具有重要的作用^[14]。

图 4 给出了采用 GS115 还原银氨溶液得到不同银负载量的 Ag/ZrO_2 催化剂的紫外-可见漫反射 (UV-Vis DRS) 表征结果。

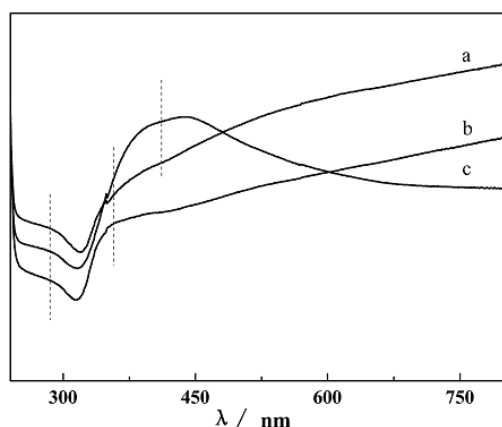


图 4 不同银负载量的 Ag/ZrO_2 催化剂的 UV-Vis 表征

Fig.4 UV-vis DR spectra of Ag/ZrO_2 catalysts with different silver loadings

[(a). 5%; (b). 8%; (c). 10%]

从图 4 中可以看出, 在 280~390 nm 处 3 个样品都出现了可归属为 $\text{Ag}_n^{\delta+}$ 的特征吸收峰, 且银负载量越大吸收峰越明显; 银负载量为 5% 和 8% 的催化剂均在 370~390 nm 处出现了可归属为 $\text{Ag}_n^{\delta+}$ 团簇的吸收峰, 且后者比前者的吸收峰更为明显, 相比之下, 银负载量为 10% 的催化剂没有在此附近出现吸收峰。在 420 nm 附近, 只有 10% 的催化剂出现了吸收峰, 此处是银纳米颗粒的等离子共振吸收峰, 是由载体表面较大的银团簇或者团聚的银纳米颗粒所引起。

为了确定 Ag/ZrO_2 催化剂中生物质的残余量, 对采用毕赤酵母还原银氨溶液制得的 8% Ag/ZrO_2 催化剂(经 450℃ 焙烧 1 h)进行热重分析(见图 5)。从图 5 中的 TG 曲线可以看出, 在 50℃ 左右出现了一个失重峰, 这是由催化剂中含有的少量物理吸附的

水受热脱附引起的, 质量损失约为 0.2%。随后的质量损失则说明催化剂中残留的生物质逐渐被燃烧分解, 在 450℃ 和 550℃ 附近又出现了明显的失重峰, 质量损失都小于 0.1%, 700℃ 以后, 催化剂的质量趋于稳定。

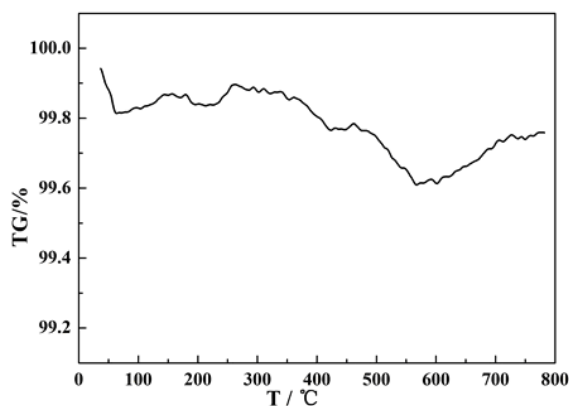


图 5 8% Ag/ZrO_2 催化剂的热重分析图

Fig.5 TG curves of 8 wt% Ag/ZrO_2 catalyst

2.2 性能评价

2.2.1 反应温度的影响

图 6 给出了温度对采用由毕赤酵母还原银氨溶液制得银的理论负载量为 8%、450℃ 焙烧 1 h 制得的 Ag/ZrO_2 催化剂的反应性能的影响。

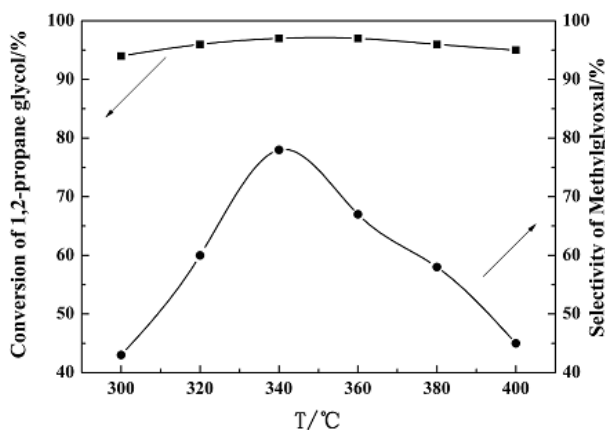


图 6 温度对催化剂反应性能的影响

Fig.6 Effect of reaction temperature on the performance of catalyst

由图 6 可见, 在 300~400℃ 的反应温度范围内, 1,2-丙二醇的转化率随着温度的升高变化不大, 保持在 95% 以上; 但对于目标产物丙酮醛的选择性, 当温度低于 340℃ 时, 呈上升趋势, 高于 340℃ 以后, 选择性下降较快。色谱检测结果表明, 当反应温度太低时, 催化剂的活性较低, 由于不完全氧化, 而

生成副产物 α -羟基丙酮；由于 1,2-丙二醇氧化是一个强放热的自由基反应，目标产物丙酮醛具有两个相邻的羰基，化学性质比较活泼，当反应温度太高时，丙酮醛和中间产物深度氧化加剧，生成了丙酮酸、甲醛、乙醛等深度氧化产物，从而导致丙酮醛的选择性降低。

2.2.2 空速的影响

图 7 给出了 1,2-丙二醇空速对银的理论负载量为 8%、450℃焙烧 1 h 制得的 Ag/ZrO₂ 催化剂的反应性能的影响。

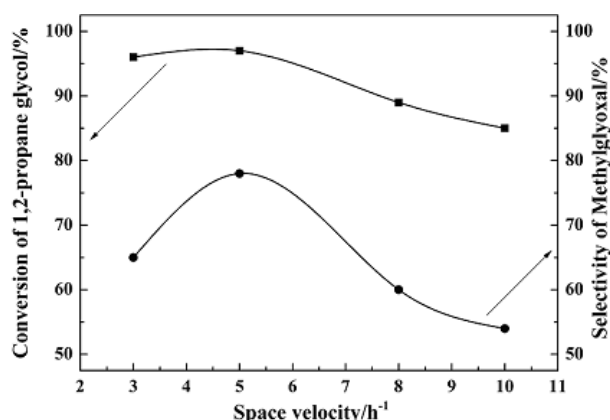


图7 空速对催化剂反应性能的影响

Fig.7 Effect of space velocity on the performance of catalyst

由图 7 可见，随着 1,2-丙二醇空速的增大，1,2-丙二醇的转化率逐渐下降；而丙酮醛的选择性先升高后降低，当丙二醇空速为 5.2 h⁻¹ 时，丙酮醛的选择性达到最大值。当反应空速比较低时，1,2-丙二醇与催化剂的接触时间长，导致 1,2-丙二醇氧化程度比较深，副反应加剧，反应放热比较多，导致催化剂床层温度段时间会急剧升高，从而进一步导致 1,2-丙二醇的深度氧化以及丙酮醛的过度氧化，从而使丙酮醛的选择性比较低，这就导致当原料空速低时 1,2-丙二醇的转化率高，而丙酮醛选择性低。适当提高空速缩短了反应原料与催化剂的接触时间，1,2-丙二醇发生过度氧化的几率降低，而且催化剂床层的反应热能够被及时带走，可以防止催化剂床层局部过热，抑制副反应的发生，延缓催化剂表面活性组分的烧结，延长催化剂的寿命，提高催化剂的性能。因此，选择合适的空速可以得到比较好的丙酮醛收率，本文选择丙二醇空速为 5.2 h⁻¹。

2.2.3 焙烧温度的影响

采用毕赤酵母还原所制备的纳米银粉中含有一定量的生物质，TG 实验(图 5)表明经不同焙烧温度可以除去一定比例的生物质。将毕赤酵母还原银氨

溶液所得的银负载量为 8% 的催化剂，分别在 300、450 和 600℃焙烧，所得催化性能列于表 1。

表 1 焙烧温度对催化剂反应性能的影响

Tab.1 Effect of calcination temperature on the catalytic activity

焙烧温度/℃	反应温度/℃	丙二醇转化率/%	丙酮醛选择性/%	收率/%
300	340	92.4	63.8	56.0
450	340	96.8	78.3	75.8
600	340	90.3	57.9	52.3

从表 1 可以看出，在相同反应温度下，焙烧温度为 450℃的催化剂，1,2-丙二醇的转化率和丙酮醛的选择性都较 300℃和 600℃的高。这是因为当温度太低时，催化剂中仍然存在较多生物质，银颗粒被生物质所包裹或覆盖，催化剂表面的活性中心较少，导致 1,2-丙二醇的转化率和丙酮醛的选择性都比较低；温度太高时，过高的焙烧温度会造成 ZrO₂ 载体表面银的烧结，从而导致 1,2-丙二醇的转化率和丙酮醛的选择性也比较低。因此催化剂制备过程中焙烧温度选择 450℃。

2.2.4 银负载量的影响

表 2 给出了 450℃焙烧 1 h、银的理论负载量为 2%~10%的 Ag/ZrO₂ 催化剂的反应性能。

表 2 银负载量对催化剂反应性能的影响

Tab.2 Effect of silver loading amount on the catalytic activity

银负载量/%	反应温度/℃	丙二醇转化率/%	丙酮醛选择性/%	收率/%
2	360	83.5	34.2	28.6
5	340	87.6	46.7	40.9
8	340	96.8	78.3	75.8
10	340	90.2	60.4	54.5

从表 2 可以看出，随着银负载量的增大，1,2-丙二醇的转化率和丙酮醛的选择性都先升高后降低，在银负载量为 8% 时催化剂的活性最高。这是因为，作为催化剂的活性组分，银的负载量与催化剂表面的活性中心的数目有关，过低的负载量会直接影响到催化剂的活性。而当银的负载量增大到一定值后，催化剂上的银颗粒更易发生团聚而增大或分散不均匀，所以当银负载量为 10% 时，1,2-丙二

醇的转化率和丙酮醛的选择性都发生降低现象。图 3 中紫外可见漫反射的结果也显示银负载量为 10% 的 Ag/ZrO_2 催化剂表面有较大的银纳米颗粒, 而银负载量为 8% 的 Ag/ZrO_2 催化剂表面带电荷的银团簇($\text{Ag}_n^{\delta+}$)最多, 有助于提高氧化反应的活性^[2, 14]。

3 结论

本文采用生物还原溶胶负载法来制备 Ag/ZrO_2 催化剂, 用于 1,2-丙二醇选择性氧化制备丙酮醛的反应中, 考察了催化反应条件和催化剂制备条件对其反应性能的影响。采用 XRD、TEM、UV-Vis DRS 和 TG 等实验技术对所制备的催化剂进行了表征, 并考察了催化反应条件和催化剂制备条件对其催化反应性能影响。研究结果表明: 随着反应温度的升高, 1,2-丙二醇的转化率变化较小, 但目标产物丙酮醛的选择性先升高后降低, 340℃ 为最佳反应温度; 随着 1,2-丙二醇空速的增大, 1,2-丙二醇的转化率和丙酮醛的选择性都先升高后降低, 空速为 5.2 h^{-1} 较为适宜。在上述反应条件下, 经 450℃ 下焙烧, 银的负载量为 8% 的 Ag/ZrO_2 催化剂可以获得最佳的催化反应性能, 1,2-丙二醇的转化率达到 96.8%, 丙酮醛的选择性达到 78.3%。

参考文献:

- [1] 韩守刚, 朱明乔, 张颖心, 等. 丙二醇氧化制备丙酮醛的研究[J]. 浙江大学学报: 工学版, 2008, 42(4): 697-701.
Han S, Zhu M, Zhang Y, et al. Studies on 1,2-propylene glycol oxidation to prepare methylglyoxal[J]. Journal of Zhejiang University: Engineering Science, 2008, 42(4): 697-701.
- [2] 沈江, 杜俊明, 黄静静, 等. Ag/ZrO_2 催化剂上的 1,2-丙二醇选择性气相氧化反应[J]. 化学学报, 2007, 65(5): 403-408.
Shen J, Du J, Huang J, et al. Gas-phase selective oxidation of 1,2-Propylene glycol over Ag/ZrO_2 catalyst [J]. Acta Chimica Sinica, 2007, 65(5): 403-408.
- [3] Crookes-Goodson W J, Slocik J M, Naik R R. Bio-directed synthesis and assembly of nanomaterials[J]. Chemical Society Reviews, 2008, 37(11): 2403-2412.
- [4] Zhang H, Li Q, Lu Y, et al. Biosorption and bioreduction of diamine silver complex by *Corynebacterium*[J]. J Chem Tech Biotech, 2005, 80(3): 285-290.
- [5] Fu M, Li Q, Sun D, et al. Rapid preparation process of silver nanoparticles by bioreduction and their characterizations[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2006, 14(1): 114-117.
- [6] Zhang H, Li Q, Wang H, et al. Accumulation of silver(I) ion and diamine silver complex by *Aeromonas* SH10 biomass[J]. Appl Biochem Biotech, 2007, 143(1): 54-62.
- [7] Wang H, Chen H, Wang Y, et al. Stable silver nanoparticles with narrow size distribution nonenzymatically synthesized by *Aeromonas* sp. SH10 cells in the presence of hydroxyl ions[J]. Current Nanoscience, 2012, 8(6): 838-846.
- [8] Chen H, Zhang L, Tareque O W, et al. Microorganism-mediated fabrication and antibacterial performance of $\text{Ag}/\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ composites[J]. Current Nanoscience, 2014, 10(2): 271-276.
- [9] Lu J, Bravo-Suárez J J, Takahashi A, et al. In situ UV-vis studies of the effect of particle size on the epoxidation of ethylene and propylene on supported silver catalysts with molecular oxygen[J]. Journal of Catalysis, 2005, 232(1): 85-95.
- [10] Ozin G A, Huber H. Cryophotoclustering techniques for synthesizing very small, naked silver clusters Ag_n of known size (where $n = 2-5$). The molecular metal cluster-bulk metal particle interface[J]. Inorganic Chemistry, 1978, 17(1): 155-163.
- [11] Mitchell S A, Kenney-Wallace G A, Ozin G A. Disilver: spectroscopy and photoprocesses in rare-gas matrixes[J]. Journal of the American Chemical Society, 1981, 103(20): 6030-6035.
- [12] Kreibitz U, Lattice defects in small metallic particles and their influence on size effects[J]. Zeitschrift für Physik B: Condensed Matter, 1978, 31(1): 39-47.
- [13] Fornasiero D, Grieser F. A linear dichroism study of colloidal silver in stretched polymer films[J]. Chemical Physics Letters, 1987, 139(1): 103-108.
- [14] Pestryakov A N, Davydov A A. Study of supported silver states by the method of electron spectroscopy of diffuse reflectance[J]. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 1995, 74(3): 195-199.