

GÓP PHẦN NGHIÊN CỨU PHẢN ỨNG HOÀN NGUYÊN PHI ĐỐI XỨNG ACETOPHENON BẰNG NẤM MEN BÁNH MÌ

LÊ NGỌC THẠCH, ĐỖ QUANG HIỂN, TRẦN HỮU ANH,
CAO NHƯ ANH, ĐOÀN NGỌC NHUẬN

Bộ Môn Hóa Hữu Cơ, Đại Học Khoa Học Tự Nhiên,
Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh

ABSTRACT: Baker' yeast has been used as a catalyst in the acetophenone asymmetric reduction to prepare optically activity products. The research has obtained some initial results. Although the yield of reaction was not high, baker's yeast can reduce acetophenone asymmetrically. Conditions of reaction were investigated in details to find the best condition. In addition, we also compared this method with traditional ones.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việc sử dụng enzym làm xúc tác cho các phản ứng tổng hợp hữu cơ đã được nghiên cứu rất nhiều trên thế giới. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa thấy có công trình nào trong nước nghiên cứu về vấn đề này. Enzim là một xúc tác sinh học đã được nghiên cứu và sử dụng từ lâu nhưng chủ yếu trong lĩnh vực sinh học. Việc ứng dụng enzym làm xúc tác cho các phản ứng hóa học trong tổng hợp hữu cơ chỉ mới được nghiên cứu trong thời gian gần đây. Enzim đã thu hút sự quan tâm của các nhà hóa học nhờ vào hiệu lực xúc tác và tính đặc hiệu của nó. Do có tính đặc hiệu nên enzym là một xúc tác có tính lựa chọn lập thể (điều này rất khó thực hiện bằng các phương pháp hóa học thông thường). Ngoài ra, xúc tác enzym còn giúp các nhà hóa học giải quyết được vấn đề có tính toàn cầu hiện nay là sự ô nhiễm môi trường (enzim là một chất tự nhiên nên không gây ô nhiễm môi trường). Tuy nhiên, với điều kiện trong nước việc sử dụng trực tiếp enzym làm xúc tác còn một số khó khăn cho nên chúng tôi sử dụng hệ enzym có trong tế bào nấm men bánh mì (NMBM) làm xúc tác. NMBM là một vi sinh vật đơn bào có nhiều ứng dụng trong thực tế (sản xuất rượu, bia, bánh mì...) cho nên rất dễ tìm, rẻ tiền và điều kiện tiến hành thí nghiệm có thể thực hiện được trong nước. Acetophenon có trong một số loại tinh dầu và được dùng làm cấu tử chính trong một số hương liệu, nó là một alkyl aril ceton điển hình. Sản phẩm của sự hoàn nguyên là 1-pheniletanol có hai đối phân R và S trong đó đối phân S sẽ chiếm ưu thế, đối phân này được dùng trong tổng hợp dược phẩm, hóa chất nông nghiệp, polimer tinh thể lỏng hương nhiệt (dùng trong các ngành kỹ thuật cao)... Ngoài ra nó còn được dùng để tách các đối phân khác ra khỏi hỗn hợp tiêu triển.

2. NGHIÊN CỨU

2.1. HOÀN NGUYÊN BẰNG NaBH_4

Trước tiên chúng tôi thực hiện phản ứng hoàn nguyên theo phương pháp cổ điển dùng NaBH_4 để làm cơ sở so sánh. Phản ứng được tiến hành trong dung môi metanol, sử dụng các phương pháp khuấy từ ở nhiệt độ phòng, chiếu xạ vi sóng, siêu âm. Phản ứng xảy ra gần như hoàn toàn trong thời gian ngắn.

Bảng 2 : Giá trị α khi không khuấy trộn

Phương pháp	Sử dụng dịch lọc	Sử dụng dịch huyền phù
α	- 0,02°	- 0,1°

Khi sử dụng dịch huyền phù thì kết quả tốt hơn nhiều khi dùng dịch lọc chứng tỏ phần không tan của nấm men cũng đóng vai trò quan trọng trong phản ứng. Cho nên với các nghiên cứu tiếp theo chúng tôi sử dụng dịch huyền phù của nấm men để thực hiện phản ứng.

Chúng tôi thử thực hiện phản ứng trong bình kín (không có trao đổi không khí với môi trường ngoài) thì kết quả không thay đổi so với khi để hở cho nên điều kiện kín hay hở ít ảnh hưởng đến phản ứng.

2.2.2. THỰC HIỆN PHẢN ỨNG CÓ KHUẤY TRỘN

Chúng tôi thực hiện khuấy trộn suốt thời gian phản ứng và chỉ thỉnh thoảng khuấy khi men bị lắng.

Bảng 3 : Giá trị α khi có khuấy trộn

Phương pháp khuấy	Liên tục	Gián đoạn
α	- 0,2°	- 0,25°

Vậy khi có khuấy trộn phản ứng tốt hơn hẳn so với khi không khuấy vì khi không khuấy phần men không tan sẽ bị lắng xuống hạn chế sự tiếp xúc giữa tế bào và tác chất và chỉ nên khuấy gián đoạn.

2.2.3. ẢNH HƯỞNG CỦA SIÊU ÂM

Tiến hành siêu âm 2 giờ một ngày trong suốt thời gian phản ứng. Thu được sản phẩm có $\alpha = 0,2^\circ$ nên ở đây siêu âm chỉ có tác dụng khuấy trộn thông thường, không có ảnh hưởng rõ rệt đến tiến trình phản ứng.

2.2.4. ẢNH HƯỞNG CỦA VI SÓNG

Chiếu xạ ở công suất 30W trong lò vi sóng gia dụng (thời gian phải ngắn và công suất nhỏ để tránh làm nóng dung dịch, men có thể bị chết).

Bảng 4 : Giá trị α khi có chiếu xạ vi sóng

Thời gian chiếu xạ (trong 1 ngày)	15 phút	60 phút
α	- 0,2°	- 0,25°

Khi sử dụng vi sóng hiệu quả cũng không tốt hơn so với phương pháp khuấy từ.

Như vậy các phương pháp tác động từ bên ngoài đều không thể làm tăng hiệu suất phản ứng chúng tôi chọn phương pháp khuấy từ để tiến hành khảo sát sự thay đổi các điều kiện bên trong.

2.2.5. PHẢN ỨNG TRONG ĐIỀU KIỆN CÓ MẶT MỘT SỐ MUỐI VÔ CỰC

Chúng tôi thay EtOH bằng dung dịch bão hòa $MgSO_4$ trong EtOH và $MgSO_4$ trong MeOH

Bảng 5 : Giá trị α khi có mặt $MgSO_4$

Dung dịch nhũ hóa	$MgSO_4/EtOH$	$MgSO_4/MeOH$
α	$-0,2^\circ$	$-0,25^\circ$

Việc thêm $MgSO_4$ không có ảnh hưởng rõ rệt đến phản ứng chúng tôi thử thay đổi tác nhân tạo phức bằng $AgNO_3$, kết quả cho $\alpha = + 0,1^\circ$ như vậy có sự thay đổi tính lựa chọn lập thể của phản ứng.

2.2.6. KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA LƯỢNG MEN VÀ TÁC CHẤT

Chúng tôi thay đổi lượng acetophenon để tăng nồng độ của nó trong môi trường phản ứng.

Bảng 6 : Ảnh hưởng của lượng acetophenon

Khối lượng acetophenon (g)	1,0	1,5
α	$- 0,2^\circ$	$- 0,1^\circ$

Khi tăng nhiều acetophenon sẽ làm giảm hiệu suất do nó là chất độc của tế bào nên chúng tôi vẫn giữ lượng acetophenon là 0,5g. chúng tôi thay đổi lượng glucoz, giữ nguyên các điều kiện khác;

Bảng 7 : Ảnh hưởng của lượng glucoz

Khối lượng glucoz (g)	5	7	10	20
α	$-0,22^\circ$	$-0,30^\circ$	$-0,25^\circ$	$-0,30^\circ$

Vậy hiệu suất cao nhất khi lượng glucoz từ 7g trở lên và sẽ không tăng nếu tiếp tục tăng lượng glucoz. Chúng tôi tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của lượng men sử dụng (đùng 7g glucoz, 500ml nước, 0,5g acetophenon, 2ml etanol).

Bảng 8 : Ảnh hưởng của khối lượng men

Khối lượng men (g)	30	40	50
α	$-0,25^\circ$	$-0,25^\circ$	$-0,30^\circ$

Khi tăng lượng men sử dụng thì hiệu quả cũng không tăng. Tóm lại, điều kiện thích hợp nhất cho phản ứng là : 0,5g acetophenon + 2ml etanol, 7g glucoz, 16g men, 300ml nước cất.

Với loại nấm men sử dụng các yếu tố đã khảo sát hầu như không có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất mà chủ yếu do bản chất của men quyết định. Để có loại nấm men thuần khiết hơn chúng tôi tiến hành phân lập lấy chủng thuần khiết sau đó nuôi cấy cho tăng sinh

khởi để dùng cho phản ứng. Thí nghiệm cho thấy quá trình lên men xảy ra rất mạnh (bọt khí CO₂ thoát ra liên tục) nhưng phản ứng không xảy ra ($\alpha = 0^\circ$), có thể do lượng acetaldehyd tạo thành nhiều nên cạnh tranh phản ứng với acetophenon. Vì thế trong quá trình phản ứng chúng tôi cho thêm NaHSO₃ vào để loại acetaldehyd khỏi môi trường phản ứng. Kết quả là quá trình lên men bị ức chế (bọt khí thoát ra rất ít). Tuy nhiên, phản ứng vẫn không xảy ra. Như vậy, loại nấm men này có khả năng lên men mạnh nhưng không thích hợp cho phản ứng này. Qua các khảo sát trên chúng tôi thu được kết quả ban đầu là $\alpha = 0,30^\circ$. Từ kết quả này chúng tôi tiến hành phân tích hàm lượng các chất bằng sắc kí khí để xác định hiệu suất và ee. Kết quả xác định được cho trong bảng dưới.

Bảng 9 : Bảng kết quả ee

Giá trị α	Hiệu suất (%)	ee (%)
-0,3°	36	57,5

3. KẾT LUẬN

Từ các kết quả thực nghiệm thu được chúng tôi nhận thấy rằng nấm men bánh mì có khả năng hoàn nguyên phi đối xứng acetophenon dù hiệu suất và ee còn tương đối thấp. Thực nghiệm cũng cho thấy các yếu tố tác động từ bên ngoài ít ảnh hưởng đến hiệu quả phản ứng mà chủ yếu do bản chất của nấm men quyết định. Trong thời gian tới chúng tôi sẽ tiếp tục khảo sát phản ứng trên một số loại NMBM khác có độ thuần khiết cao hơn loại đã dùng và mở rộng phản ứng cho các loại chất nền khác nhau cũng như tìm hiểu thêm các phản ứng khác mà NMBM có thể thực hiện được nhằm nâng cao khả năng ứng dụng của loại nấm men này và góp phần phát triển một hướng mới trong tổng hợp hữu cơ ở nước ta.

4. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Chấn, *Enzym Và Xúc Tác Sinh Học*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội (1983).
2. Kurt Faber, *Biotransformation in Organic Chemistry*, Mercedesdruck, Berlin (1996).
3. Jeannine Gillois, Didier Buisson, Robert Azerad, Gérard Jaouen, *J. Chem. Soc., Chem. Commu.*, 1224,1225 (1988).
4. Moses Lee, Martha Huntington, A More Affordable Undergraduate Experiment On The Reduction Of Acetophenone By Yeast, *Journal of Chemical Education*, A62 (1994).