

バイオリクターを用いた ニトロベンゼンの還元反応

SATテクノロジー・ショーケース2016

■ はじめに

パン酵母を用いたアルコール発酵の実験を通して、微生物のはたらきに興味をもった。「身近にあるものを用いて、有用な物質をつくりたい」という考えから、文献調査を行ったところ、パン酵母にはニトロ化合物を還元できるはたらきがあることを知った。高校化学の教科書に掲載されているニトロベンゼンの還元反応には、環境面や安全面において以下の問題があると考えた。

- ① 濃塩酸の加熱など操作上の危険性
- ② 揮発した塩化水素による室内の環境汚染
- ③ 多量に生じる重金属を含む廃液

そこで、本研究では、「パン酵母を利用した簡易なバイオリクターを作製し、ニトロベンゼンを還元してアニリンを合成する」ことを目的とした。

■ 活動内容

1. 固定化パン酵母の作製と培養

パン酵母には耐糖性に優れたルサッフル社のドライイースト(金色)を用いた。パン酵母を直接加えた溶液は乳濁し、吸水による死滅が起こり、はたらきが悪くなる。そのため、海藻由来のアルギン酸ナトリウムに混合した粘性の大きな溶液をシリンジにて、塩化カルシウム水溶液中に滴下し、直径約5 mmの固定化パン酵母を作製した。

グルコース水溶液、他にペプトンや酵母エキスなどを含むYPD培地や窒素源・無機塩類・ビタミン類などからなるSD培地を滅菌し、それぞれに作製した固定化パン酵母を加え、24時間、35°Cで振盪培養した。

2. ニトロベンゼンの還元

培養に用いたものと同様の新たな液体培地に固定化パン酵母を移し、ニトロベンゼンを溶かしたエタノール溶液を加え、48時間、35°Cで反応を行った。反応後、炭酸ナトリウムを加えて遊離した油状物質をジエチルエーテルにより抽出した。

3. アニリンの同定

ジエチルエーテルを留去し、呈色皿に抽出物を少量とり、さらし粉飽和水溶液を一滴加えたところ、紫色に呈色した。また、抽出物に希塩酸と亜硝酸ナトリウムを加え、氷冷下でジアゾ化を行い、2-ナフトールを溶かした水酸化ナトリウム水溶液を加えて、カップリング反応させると、溶液が赤橙色に変化した(図1)。抽出物から合成した橙赤色の溶液と市販のアニリンから同様の方法で合成した1-フェニルアゾ-2-ナフトールの吸収スペクトルがほぼ一致した。

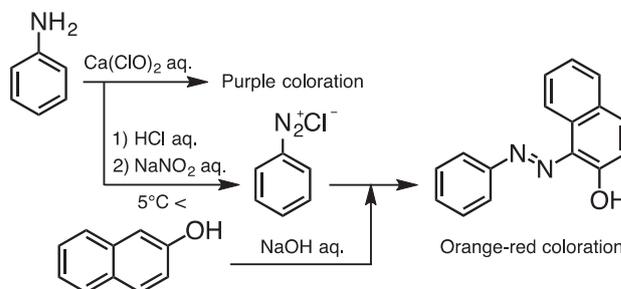


図1 アニリンの呈色反応

抽出物がアニリンであることが確認できたので、無水酢酸を加えてアセチル化を行い、蒸留水中に注ぎ入れ、得られた白色の粗結晶のNMRを測定したところ、シグナルの位置と積分値からアセトアニドであることが同定できた。

アニリンの収率はアセチル化が100%起こるものと仮定し、アセトアニドの収量から求めた(図2)。最も収率の良いSD培地を用いた場合でも、一般的な濃塩酸と金属スズを用いたものに比べ、収率は10分の1以下という結果となった。

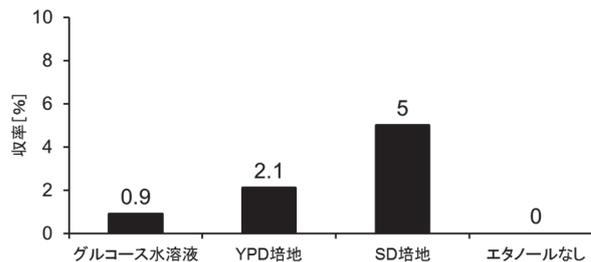


図2 アニリンの収率

■ まとめ

固定化パン酵母を用いた攪拌型のバイオリクターにて、ニトロベンゼンをアニリンに還元することに成功した。この反応は従来の問題点をすべて解決しているものであり、必要不可欠とされてきた金属(金属塩)を用いない、安全で環境にやさしい反応であるといえる。しかし、エタノールを添加しないとアニリンが得られないことから、ニトロベンゼンと固定化パン酵母を担う高分子との親和性も影響していると考えられる。今後は、パン酵母や担体高分子材料および培地の組成についても詳細に検討していきたい。

- キーワード: (1) 固定化パン酵母
(2) バイオリクター
(3) ニトロベンゼンの還元

代表発表者 山本 玲維 (やまもと れい)
所 属 茨城県立竜ヶ崎第一高等学校
問合せ先 〒301-0844 茨城県龍ヶ崎市平畑 248
TEL:0297-62-2146 FAX:0297-62-9830