

## BEITRAG ZUR KINETIK DER D-GLUCOSEOXYDATION MIT KALIUMHEXACYANOFERRAT(III)

AHMED M. EL WAKIL und D. M. WAGNEROVÁ

*Institut für anorganische Chemie,*

*Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, 160 00 Prag 6*

Eingegangen am 25. September 1974

Es wurde die D-Glucoseoxydation mit Kaliumhexacyanoferrat(III) im Natriumhydroxidmedium untersucht und die Geschwindigkeitskonstante des geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes gemessen. Der Einfluß der Spurenkatalyse äußert sich deutlich lediglich bei der wahrscheinlichen Teilreaktion, der D-Gluconsäureoxydation mit Hexacyanoferrat(III).

Die Oxidation der mehr-äquivalenten Substrate mit Kaliumhexacyanoferrat(III) wird in einer Reihe von Fällen durch Spuren von Kupfer(II)-ionen katalysiert<sup>1</sup>. Erwartungsgemäß könnte sich dieser Effekt auch bei der Glucoseoxydation, und zwar in irgendeiner Teilreaktion, geltend machen. Die Glucoseoxydation mit Hexacyanoferrat(III) im alkalischen Medium wird durch Seiten- und Folgereaktion kompliziert; dies ist offensichtlich der Grund der von verschiedenen Autoren<sup>2-5</sup> angeführten unterschiedlichen Ergebnisse.

Es war der Zweck dieser Arbeit, einen Beitrag zur Erklärung des bei der Glucoseoxydation herrschenden Mechanismus zu leisten und zu ermitteln, ob auch hier der katalytische Einfluß von Spurenionen zur Geltung kommt.

### EXPERIMENTELLER TEIL

Beim Natriumhydroxid (Merck) und den übrigen verwendeten Chemikalien (Lachema, Brno) handelte es sich um analysenreine Präparate. Die Gluconsäure wurde im Monosaccharidlaboratorium der Technischen Hochschule für Chemie, Prag, hergestellt und enthielt ungefähr 80%  $\gamma$ -Lacton.

Die Hexacyanoferrat(III)-konzentration wurde kontinuierlich bei konstantem Potential  $E_k = -0,4$  V/GKE mit Hilfe des Polarographs LP 55 mit dem Schreiber EZ 2 (Laboratorní přístroje, Prag) polarographisch beobachtet. Ein Teil der Versuche wurde mit dem Zeiss-Spektralkolorimeter „Spekol“ mit dem Schreiber EZ 2 bei der Wellenlänge  $\lambda = 418$  nm untersucht. Die 0,5 cm dicke Durchflußküvette wurde mit dem mit einer Pumpe versehenen Reaktionsgefäß verbunden.

Die Reaktion wurde durch Einspritzen einer frischen D-Glucose- bzw. D-Gluconsäurelösung in das vorbereitete Reaktionsgemisch initiiert. Die Bestimmung des stöchiometrischen Verhältnisses wurde in verschlossenen Kolben durchgeführt, aus denen die Analysenproben mittels Injektionsspritzen entnommen wurden. Das Reaktionsgemisch enthielt den zehnfachen Hexa-

cyanoferrat(III)-überschuß, so daß voraussetzungsgemäß sämtliche Glucose nach Ablauf der Reaktion umgesetzt war. Alle Versuche wurden in der Atmosphäre von reinem Stickstoff bei  $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  durchgeführt.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### *Kinetik der D-Glucoseoxydation*

Die Reaktion der Glucose mit Hexacyanoferrat(III) verlief lediglich bei hohem pH-Wert mit meßbarer Geschwindigkeit. In unserem Fall wurde die Reaktion in 0,05–0,5M-NaOH bei verschieden hohem Glucoseüberschuß untersucht. Die augenblickliche Reaktionsgeschwindigkeit ist in Grenzen der Ausgangskonzentration von  $2,0 \cdot 10^{-4}$  –  $1,9 \cdot 10^{-3}\text{M}$  von der Hexacyanoferrat(III)-konzentration unabhängig. Es handelt sich hier demnach mit Bezug auf das Hexacyanoferrat(III) um eine Reaktion nullter und mit Bezug auf Glucose(G) um eine Reaktion erster Ordnung. Die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten  $k$  von der Hydroxylionenkonzentration ist bis 0,2M linear, bei höheren Alkalitäten nähert sie sich dem Grenzwert (Abb. 1). Für den Bereich niedrigerer NaOH-Konzentrationen kann demnach

$$v = k[\text{G}][\text{OH}^-] \quad (1)$$

geschrieben werden.

Der Einfluß von Spurenverunreinigungen auf die Reaktionsgeschwindigkeit wurde einerseits durch  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionenzugaben in Konzentrationen von  $1 \cdot 10^{-6}$  –  $1 \cdot 10^{-5}\text{M}$ , andererseits durch ÄDTE-Zugabe ( $1 \cdot 10^{-3}\text{M}$ ) in das Reaktionsgemisch ermittelt. In Lösungen bis 0,2M-NaOH wurde nach der Kupfer(II)-ionenzugabe durchschnittlich eine 1,2-fache Geschwindigkeit beobachtet; in 0,5M-NaOH wurde weder ein  $\text{Cu}^{2+}$ -Effekt, noch eine verlangsamende ÄDTE-Wirkung wahrgenommen.

Die Stöchiometrie der Glucoseoxydation mit Hexacyanoferrat(III) entspricht in 0,1M-NaOH dem Verhältnis Glucose :  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} = 1 : 6,7$ ; in 0,5M-NaOH beträgt das Verhältnis 1 : 9,2. Das Ergebnis zeugt davon, daß sich hier neben der Oxydation der D-Glucose auch die der Degradationsprodukte geltend macht. Die D-Glucoseoxydation kann auf zweierlei Weise verlaufen: Durch Oxydation der Aldehydgruppe entsteht D-Gluconmonocarboxylsäure Stöchiometrie 1 : 2. Bei energischerer Oxydation wird auch die primäre alkoholische Gruppe zu  $\text{C}_{(6)}$  unter Ent stehen von Glucardicarboxylsäure oxydiert, wobei das stöchiometrische Verhältnis in diesem Fall 1 : 6 beträgt<sup>6</sup>. Um entscheiden zu können, ob es sich bei der Gluconsäure möglicherweise um ein Reaktionszwischenprodukt handelt, wurde im weiteren die isolierte Reaktion der D-Gluconsäure mit Hexacyanoferrat(III) ebenso wie die der D-Glucose in 0,1–0,5M-NaOH und bei Substratüberschuß untersucht. Unter diesen Bedingungen verläuft eine Reaktion erster Ordnung mit Bezug auf Hexacyanoferrat(III). Die Geschwindigkeitskonstanten wurden aus der Abhängigkeit

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  von der Zeit bei der Gluconsäurekonzentration von 0,4–1,6 .  $10^{-4}\text{M}$  graphisch bestimmt. Bei 0,1M-NaOH wurde  $k' = 7,5 \cdot 10^{-2} \text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ , bei 0,5M-NaOH  $k' = 0,61 \text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$  gefunden. Unter der Voraussetzung, daß es sich mit Bezug auf das Substrat gleichfalls um eine Reaktion erster Ordnung handelt, wurde die experimentelle Geschwindigkeitskonstante durch die Gluconsäurekonzentration dividiert. Wie sich aus dem Wert der Geschwindigkeitskonstanten ergibt, ist die Oxydation der D-Gluconsäure um drei Grade schneller als die der D-Glucose; sie kann sich demnach als Folgereaktion geltend machen, ohne daß der Verlauf der vorangehenden Glucoseoxydation irgendwie beeinflußt wird. Die Stöchiometrie der Reaktion entspricht dem Verhältnis Gluconsäure :  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} = 1 : 8$ , sie ist also wesentlich höher als das theoretische Verhältnis 1 : 4, das der Oxydation der D-Gluconsäure zu D-Gluconsäure entspräche. Wahrscheinlich wird auch hier der höhere Verbrauch an Hexacyanoferrat(III) durch die Oxydation von Nebenprodukten bewirkt.

Die Reproduzierbarkeit der kinetischen Versuche mit der D-Gluconsäureoxydation ist verhältnismäßig schlecht, eine Tatsache, die gewöhnlich vom katalytischen Einfluß von Spurenverunreinigungen zeugt. Aus diesem Grund wurde der Einfluß eines komplexbildenden Reagens auf die Reaktionsgeschwindigkeit geprüft, wobei festgestellt wurde, daß durch ÄDTE in der Konzentration von  $1,57 \cdot 10^{-5}\text{M}$  die Reaktion annähernd um das Dreifache verlangsamt wird; die Konzentration von  $1 \cdot 10^{-4}\text{M}$  ÄDTE genügt zur völligen Reaktionseinstellung (Abb. 2). Offensichtlich ist demnach die Oxydation der D-Gluconsäure, zum Unterschied von der D-Glucose, von der katalytischen Einwirkung der Metallionenspuren stark abhängig.

Die Feststellung, um welches stöchiometrische Verhältnis es sich bei der D-Glucoseoxydation in Gegenwart von ÄDTE handelt, wenn die Folgereaktion blockiert

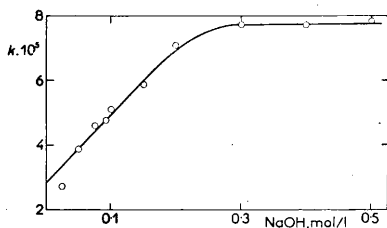


ABB. 1

Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstante  $k$  ( $\text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) von der Hydroxylionenkonzentration

$2,5 \cdot 10^{-3}\text{M-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ;  $5,0 \cdot 10^{-2}\text{M}$  D-Glucose.

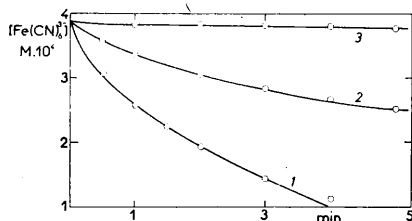


ABB. 2

Einfluß von ÄDTE auf die Geschwindigkeit der Gluconsäureoxydation mit Hexacyanoferrat(III)

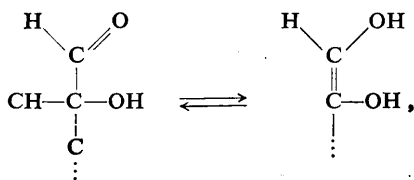
0,5M-NaOH;  $3,95 \cdot 10^{-3}\text{M}$  Gluconsäure; Konzentration von ÄDTE: 1 0, 2  $1,57 \cdot 10^{-5}$ , 3  $1,0 \cdot 10^{-4}$ .

wird, ist praktisch undurchführbar. Mit Rücksicht auf den sehr langsamen Verlauf (das Substrat ist nicht im Überschuß) werden die Ergebnisse durch die langsame ÄDTE-Oxydation durch Hexacyanoferrat(III) beeinflusst<sup>7</sup>.

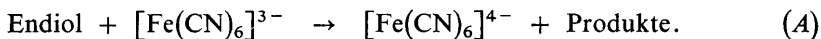
### Mechanismus

Wie klargestellt wurde, ist die Glucoseoxydation im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich von der Hexacyanoferrat(III)-Konzentration unabhängig. Zur gleichen Feststellung gelangten auch Nath und Singh<sup>5</sup>, während Kasper<sup>2</sup> fand, daß es sich mit Bezug auf Hexacyanoferrat(III) um eine Reaktion erster Ordnung handelt. Unter den von Kasper verwendeten Bedingungen (1M-NaOH, 0,1M Glucose) kann jedoch der Reaktionsverlauf durch Degradation der Glucose verzeichnet sein. Wie die Unabhängigkeit von der Hexacyanoferrat(III)-konzentration aufzeigt, handelt es sich wahrscheinlich bei dem geschwindigkeitbestimmenden Schritt um eine der Oxydation vorangehende Reaktion.

Auf Grund der Voraussetzung von Nath und Singh<sup>5</sup> ist die Leitreaktion als Bildung der Endiolform aufzufassen, die als Zwischenprodukt der Umlagerung der D-Glucose zu Fructose und Mannose zu betrachten ist. Diese Umlagerung



ähnlich wie die Glucoseoxydation mit Hexacyanoferrat(III) verläuft ausschließlich im stark alkalischen Medium<sup>6</sup>. Wenn es sich also bei der reaktiven Form um die Endiolform handelt, geht der eigentliche Oxydationsverlauf (A) schnell vor sich und es gilt die stationäre Bedingung für das Zwischenprodukt.



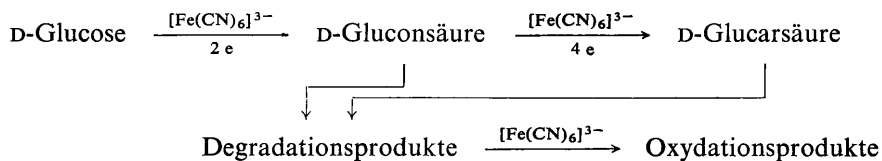
Im System, in dem die Mannose- und Fructoseanfängskonzentration den Nullwert aufweist gilt dann

$$-d[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/dt = v_0 = k_1 [\text{Glucose}] - (k_{-1} + k_{-2} + k_{-3}) [\text{Endiol}], \quad (2)$$

wo  $k_1$  die Geschwindigkeitskonstante des Entstehens der Endiolform und  $k_{-1}$ ,  $k_{-2}$ ,  $k_{-3}$  die Geschwindigkeitskonstanten der umgekehrten Reaktionen des Endiols zu Glucose, Mannose und Fructose bedeuten. Da die Reaktion (A) schneller vor sich geht als das Entstehen von Mannose und Fructose, gilt die Gleichung (2) ungefähr im gesamten Reaktionsverlauf. Mit Rücksicht auf die niedrige Endiol-Gleichgewichts-

konzentration ist das zweite Glied der Gleichung (2) gegenüber dem ersten vernachlässigbar, so daß es sich in Übereinstimmung mit unseren experimentell gefundenen Ergebnissen bei der Reaktion der Glucose mit Hexacyanoferrat(III), bezogen auf D-Glucose, um eine Reaktion erster Ordnung und mit Bezug auf Hexacyanoferrat(III) um eine Reaktion nullter Ordnung handeln kann. Die experimentell bestimmte Geschwindigkeitskonstante  $k$  sollte mit der Konstante  $k_1$  identisch sein. Auf Grund der Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der Hydroxyionenkonzentration, die bis zur Konzentration von  $0,2\text{M-OH}^-$  linear ist, kann angenommen werden, daß die Leitreaktion allgemein basisch katalysiert wird. Die Abweichung von der Linearität bei höheren Hydroxidkonzentrationen wird offensichtlich durch das Sichgeltendmachen der konkurrierenden Degradation der D-Glucose verursacht.

Da die Oxydation der Gluconsäure mit Hexacyanoferrat(III) nachgewiesen wurde, verläuft die Glucoseoxydation höchstwahrscheinlich nach folgendem Schema



Zum Unterschied von der Oxydation der D-Glucose wird die der D-Gluconsäure offensichtlich von Metallionenspuren katalysiert. Es handelt sich also um eine weitere Gruppe von Oxydationsreaktionen des Hexacyanoferrats(III), bei denen eine Spurenkatalyse festgestellt wurde.

*Abschließend sprechen wir Doz. Dr. J. Jarý, Leiter des Monosaccharid-Laboratoriums, Technische Hochschule für Chemie, Prag, für die Überlassung des Gluconsäurepräparats und seine wertvollen Bemerkungen unseren Dank aus.*

#### LITERATUR

1. Mádló K., Hasnedl A., Vepřek-Šiška J.: diese Zeitschrift, im Druck.
2. Kasper E.: Z. Phys. Chem. (Leipzig) 224, 427 (1963).
3. Hagedorn H. C., Jensen B. N.: Biochem. Z. 135, 46 (1923).
4. Nath N., Singh M. P.: Z. Phys. Chem. 221, 204 (1962).
5. Nath N., Singh M. P.: J. Phys. Chem. 69, 2038 (1965).
6. Staněk J., Černý M., Kocourek J., Pacák J.: *The Monosaccharides*. S. 116, 657. Herausgegeben von NČSAV, Prag 1963.
7. Lambert D. G., Jones M. M.: J. Amer. Chem. Soc. 88, 4615 (1966).

Übersetzt von K. Grundfest.