

**Neue Wege zur Synthese von Weinsäure:
Untersuchungen zur Übergangsmetallkatalysierten
Oxidation von 5-Ketogluconsäure**

Inaugural-Dissertation

zur

**Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

vorgelegt von

**Diplom-Chemiker Ingo Matzerath
aus Leverkusen**

2004

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Referent: Prof. Dr. Wolfgang Kläui

Korreferent: Prof. Dr. Manfred Braun

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.2004

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Januar 1993 bis September 1997 am Lehrstuhl für Anorganische Chemie und Strukturchemie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Leitung von

Prof. Dr. W. Kläui

ausgeführt. Ich möchte ihm herzlich für die interessante Themenstellung, seine immer währende Diskussionsbereitschaft und die zahlreichen Anregungen und Ideen danken.

Herrn Prof. Dr. M. Braun danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Ich möchte an dieser Stelle allen Mitarbeitern des Instituts für die gute Zusammenarbeit und die freundliche Atmosphäre danken.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Rehder für seine freundliche Unterstützung bei der Auswertung der ^{51}V -NMR-Spektren.

meiner Frau Daniela

Liste der verwendeten Abkürzungen

5-KGA	5-Ketogluconsäure
GA	Glycolsäure
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethylsulfonsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MOPS	3-Morpholinopropansulfonsäure
OA	Oxalsäure
TA	Weinsäure
TET	Tetrollose
TRICIN	N-[Tris(hydroxymethyl)methyl]glycin
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Upm	Umdrehungen pro Minute

Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der katalytischen Oxidation von 5-Ketogluconsäure durch Luft-sauerstoff. Dabei werden Weinsäure, Oxalsäure und Glycolsäure gebildet. Das Ziel war die optimale Ausbeute an Weinsäure bei möglichst geringer Bildung von Oxalsäure und Glycolsäure zu erreichen und Hinweise auf den Mechanismus der Reaktion zu erhalten. Besonders interessant war dabei der Einfluss des verwendeten Puffers und des Katalysators auf den Verlauf der Oxidation.

Es konnte gezeigt werden, dass es eine Vanadat-abhängige und eine Puffer-abhängige Spaltung der 5-Ketogluconsäure gibt, wobei letztere nur durch Oxoanionen, wie Phosphat, Arsenat oder Carbonat in alkalischem Milieu bewirkt wird.

Die Vanadat-abhängige Oxidation wird durch die Anwesenheit von Phosphat erheblich beschleunigt. ^{51}V -NMR-Untersuchungen zeigen, dass dafür wahrscheinlich eine Aktivierung des Vanadat-Katalysators durch die Bildung eines gemischten Vanadat-Phosphat-Anhydrids verantwortlich ist. Dadurch wird die Veresterung des Vanadats mit der 5-Ketogluconsäure stark beschleunigt. Dementsprechend verläuft die Umsetzung in Abwesenheit von Phosphat wesentlich langsamer und nur unter geringerer Oxalsäure-Bildung. Die beschleunigte Reaktion führt außerdem zu einer Weiteroxidation der Weinsäure zu Oxalsäure, und damit zu einer Einbuße bei der Weinsäureausbeute. Zwitterionische Puffer, wie z.B. TRIS, sind unter vergleichbaren Reaktionsbedingungen nicht in der Lage, die Reaktion zu beschleunigen. In Phosphatpuffer wird darüber hinaus auch ohne Vanadat Weinsäure gebildet. Auch dann wird keine erhöhte Bildung von Oxalsäure beobachtet. Bei Verwendung von Carbonatpuffer wird aus der 5-Ketogluconsäure mit hoher Selektivität Weinsäure gebildet ohne dass eine Weiteroxidation der Weinsäure erfolgt. Das Carbonat bewirkt zwar eine Spaltung der 5-Ketogluconsäure, führt aber nicht zu einer Weiteroxidation der Weinsäure zu Oxalsäure.

Unter Ausschluss von Sauerstoff erfolgt zwar eine Spaltung der 5-Ketogluconsäure, welche mit und ohne Vanadat identisch ist, aber es findet keine Oxidation statt. Die Puffer-abhängige Spaltung ist also weder von der Gegenwart eines Katalysators, noch von der Gegenwart von Sauerstoff abhängig. Tritt Luft zu einem solchen inerten Reaktionsansatz hinzu, kommt es sofort zur Bildung von Weinsäure, Oxalsäure und Glycolsäure.

Dies lässt auf einen Mechanismus schließen, bei dem die Spaltung und die Oxidation in zwei Stufen erfolgen. Aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse wird ein Vorschlag für einen Mechanismus der Oxoanionen-abhängigen Spaltung der 5-Ketogluconsäure in alkalischer Lösung gemacht, nach dem die Spaltung analog einer Retro-Benzoin-Kondensation verläuft.

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG.....	1
2.	HAUPTTEIL	5
2.1	OXIDATIONEN DURCH LUFTSAUERSTOFF.....	5
2.1.1	<i>Einleitung</i>	5
2.1.2	<i>pH-Abhängigkeit des Einflusses von Phosphatpuffer auf die Reaktion.....</i>	6
2.1.3	<i>Einfluss von Arsenatpuffer</i>	10
2.1.4	<i>Einfluss von Carbonatpuffer in alkalischem Milieu</i>	11
2.1.4.1	<i>pH-Abhängigkeit der Reaktion in Carbonatpuffer</i>	11
2.1.4.2	<i>Einfluss der Carbonat-Konzentration.....</i>	15
2.1.5	<i>Einfluss zwitterionischer Puffer in alkalischem Milieu</i>	16
2.1.6	<i>Einfluss von EDTA</i>	18
2.1.7	<i>Verwendung alternativer Katalysatoren</i>	19
2.1.8	<i>Optimierungsversuche.....</i>	21
2.1.8.1	<i>Einleitung.....</i>	21
2.1.8.2	<i>Variation der Temperatur.....</i>	22
2.1.8.3	<i>Verwendung von Ultraschall</i>	23
2.1.8.4	<i>Variation der Vanadat-Konzentration.....</i>	25
2.2	REAKTIONEN UNTER SAUERSTOFFAUSSCHLUSS	26
2.2.1	<i>Einleitung</i>	26
2.2.2	<i>Sauerstoffabhängigkeit der Reaktion in Phosphatpuffer.....</i>	26
2.2.3	<i>Sauerstoffabhängigkeit der Reaktion in Carbonatpuffer.....</i>	30
2.3	SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN.....	32
2.3.1	<i>Wechselwirkung von Vanadat mit Carbonat.....</i>	32
2.3.2	<i>Einfluss von Carbonat auf die Beständigkeit von 5-Ketogluconsäure bei pH 10</i>	34
2.3.3	<i>Einfluss von Phosphat, Arsenat und Carbonat auf die Bildung von Methanol-Vanadat-Estern .</i>	36
2.3.3.1	<i>Einfluss von Arsenat, Phosphat bzw. Carbonat ohne Methanol</i>	38
2.3.3.2	<i>Einfluss von Methanol</i>	38
2.3.4	<i>Einfluss von Phosphat auf die Oligovanadat-Gleichgewichte</i>	39
2.4	MECHANISTISCHE BETRACHTUNGEN	43
2.4.1	<i>Vorschlag für einen Mechanismus der 5-Ketogluconsäure-Spaltung.....</i>	43
2.4.2	<i>Oxidation von Glycolaldehyd.....</i>	48
2.4.3	<i>Oxidation von (L)-Tetralose</i>	50
2.5	SCHLUSSBETRACHTUNG.....	55
3.	EXPERIMENTELLER TEIL	57
3.1	ALLGEMEINES	57
3.1.1	<i>Geräte und Methoden.....</i>	57
3.1.2	<i>Chemikalien.....</i>	59

3.2	UMSETZUNGEN VON 5-KETOGLUCONSÄURE	60
3.2.1	<i>Allgemeine Arbeitsvorschriften</i>	60
3.2.2	<i>Umsetzungen in Gegenwart von Phosphatpuffer</i>	61
3.2.3	<i>Umsetzungen in Gegenwart von Arsenatpuffer</i>	62
3.2.4	<i>Umsetzungen in Gegenwart von Carbonatpuffer</i>	62
3.2.5	<i>Umsetzungen unter Variation der Carbonat-Konzentration</i>	63
3.2.6	<i>Umsetzungen in Gegenwart von zwitterionischen Puffern</i>	64
3.2.7	<i>Umsetzungen in Gegenwart von EDTA</i>	65
3.2.8	<i>Umsetzungen mit weiteren Übergangsmetall-Katalysatoren</i>	66
3.2.9	<i>Umsetzungen unter Variation der Temperatur</i>	69
3.2.10	<i>Umsetzungen unter Ultraschall-Einfluss</i>	70
3.2.11	<i>Umsetzung unter Variation der Vanadat-Konzentration</i>	71
3.2.12	<i>Umsetzungen unter Sauerstoffausschluss</i>	72
3.3	NMR-SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN	75
3.3.1	¹³ C-NMR-Spektroskopie	75
3.3.1.1	Untersuchung der Wechselwirkung von Vanadat mit Carbonat	75
3.3.1.2	Einfluss von Carbonat auf 5-Ketogluconsäure	76
3.3.2	⁵¹ V-NMR-Spektroskopie	76
3.3.2.1	Einfluss von Phosphat, Arsenat und Carbonat auf die Bildung von Methanol-Vanadat-Estern	76
3.3.2.2	Einfluss von Phosphat auf Vanadat als Funktion des pH-Werts	79
3.4	WEITERE UNTERSUCHUNGEN ZUM MECHANISMUS	80
3.4.1	<i>Umsetzungen von Glycolaldehyd</i>	80
3.4.2	<i>Umsetzung von Tetrulose</i>	81
4.	ANHANG	83
5.	LITERATURVERZEICHNIS	90

1. Einleitung

Diese Arbeit befasst sich mit der Vanadat-katalysierten Darstellung von L-(+)-Weinsäure aus 5-Ketogluconsäure unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses des verwendeten Puffers auf die Reaktion. 5-Ketogluconsäure kann auf biotechnologischem Weg mit Hilfe von Bakterien oder durch Oxidation von Glucose gewonnen werden [26]. Daher könnte die 5-Ketogluconsäure als preiswerte Ausgangsverbindung zur wirtschaftlichen Darstellung von Weinsäure dienen. Denn, obwohl Weinsäure vielseitig eingesetzt werden kann [16][25], ist die Verfügbarkeit von Weinsäure heute immer noch von natürlichen Ressourcen abhängig. Dabei handelt es sich in der Hauptsache um Weinstein ($\text{KHC}_4\text{H}_6\text{O}_6$), der bei der Weinherstellung anfällt.

Es existieren drei stereoisomere Formen von Weinsäure (Abbildung 1): die (2R,3R)-Form, die auch als natürliche oder L-(+)-Weinsäure bezeichnet wird, die (2S,3S)-Form, die auch D(-)-Weinsäure genannt wird und die nicht chirale meso-Form.

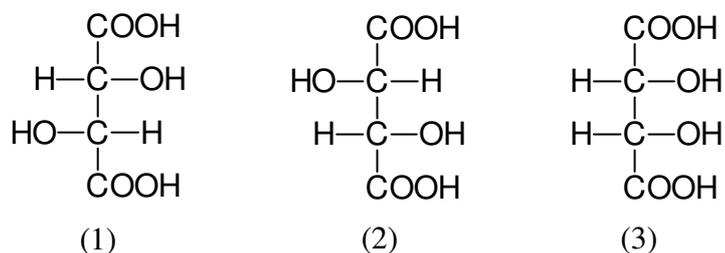


Abbildung 1: Die Strukturformeln der drei Stereoisomeren von Weinsäure in der Fischer-Projektion: (L)-Weinsäure (1), (D)-Weinsäure (2) und meso-Weinsäure (3) [22][25].

Die L-(+)-Weinsäure kommt in vielen Pflanzen vor, unter anderem in Weintrauben und Löwenzahn. Auf sie konzentriert sich das wirtschaftliche Interesse.

In der Lebensmittelindustrie wird Weinsäure bei der Herstellung von Speiseeis, in Back- und Brausepulver, Limonaden sowie Gelees und Konditorwaren verwendet. Sie wird ferner als Antioxidationsmittel eingesetzt. In der Textilindustrie setzt man sie beim Färben und Drucken als Säure und Reduktionsmittel ein. Auch bei der Anilinschwarzfärbung und zum Griffigmachen und Glätten von Seide wird sie verwendet. Darüber hinaus findet sie in der Galvanotechnik und bei der Glasversilberung Anwendung. In der Chemie ist sie für die organische Synthese als Bestandteil des „chirale Pool“ von großer Bedeutung.

Die hier verwendete 5-Ketogluconsäure ist ein Derivat der Glucose. Es handelt sich um 2,3,4,6-Tetrahydroxy-5-oxohexansäure (Abbildung 2).

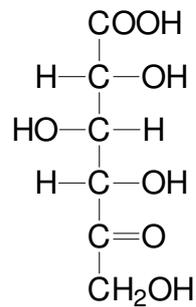


Abbildung 2: Strukturformel von 5-Ketogluconsäure in der Fischer-Projektion.

Um aus 5-Ketogluconsäure Weinsäure zu erhalten, muss eine oxidative C-C-Bindungsspaltung zwischen den Kohlenstoffatomen 4 und 5 erfolgen (Abbildung 3). Dabei erhält man als C4-Molekül Weinsäure und ein C2-Molekül, in der Regel Glycolsäure oder Oxalsäure.

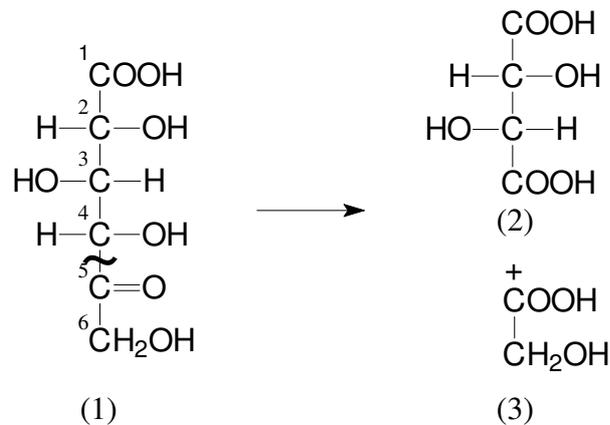


Abbildung 3: Schema der Oxidation von 5-Ketogluconsäure (1) zu Weinsäure (2) und Glycolsäure (3).

Seit langem sucht man nach einer Methode, um Weinsäure billig und isomerenrein produzieren zu können. Besonders letzteres ist im Hinblick auf eine Verwendung in Lebensmitteln von Bedeutung. Die ersten Versuche befassten sich mit der Darstellung von Weinsäure aus billigen Kohlenhydraten, wie z.B. Glucose und Stärke. Oft wurde dabei, wie z.B. bei Odell 1922 [44], Salpetersäure als Oxidationsmittel in Gegenwart von Vanadaten verwendet. Als erster erkannte Barch 1933 die Vorteile von 5-Ketogluconsäure als Ausgangsverbindung [3]. Sie ist ein Zwischenprodukt bei der Bildung von Weinsäure aus Glucose. Bei

Verwendung von 5-Ketogluconsäure entfallen die Nebenprodukte, die bei der Oxidation der Glucose zu 5-Ketogluconsäure entstehen. Dies erleichtert die Untersuchung des entscheidenden Schrittes, nämlich der Oxidation der 5-Ketogluconsäure zu Weinsäure erheblich. Aber auch Barch setzte Salpetersäure als Oxidationsmittel in Gegenwart von Vanadium ein. Die Verwendung von Salpetersäure führte aber immer zu Isomerengemischen und einer Vielzahl an Nebenprodukten. Deshalb hat sich diese Methode als wirtschaftlich nicht sinnvoll erwiesen.

Erst im Jahre 1940 gelang es Pasternack und Brown isomerenreine L-(+)-Weinsäure in geringer Ausbeute zu synthetisieren [46]. Sie gingen dabei, wie Barch, von 5-Ketogluconsäure aus und verwendeten zur Oxidation Luftsauerstoff mit Vanadium als Katalysator.

Die chemische Synthese von 5-Ketogluconsäure wurde erstmals von Kiliiani durchgeführt [26]. Sie ist aufwendig und daher teuer. 5-Ketogluconsäure wird aber von einigen Bakterien, wie z.B. *Acetobacter suboxydans*, aus Glucose als Stoffwechselprodukt gebildet. Es ist daher prinzipiell möglich, sie auf biotechnologischem Weg zu gewinnen. Dies würde sie zu einem billigen und beliebig verfügbaren Ausgangsstoff machen. Kamlet versuchte 1943 durch Fermentation von Glucose mit *A. suboxydans* Weinsäure in Gegenwart von Vanadium zu gewinnen [24]. Yamada et al. verwendeten 1971 schließlich als erste *Gluconobacter suboxydans*, um aus Glucose Weinsäure herzustellen [65]. Aber auch bei der Verwendung von Bakterien war die Ausbeute für eine wirtschaftliche Nutzung viel zu gering. All diesen Versuchen der Weinsäure-Darstellung, ob chemischer oder biologischer Art, ist die Verwendung von Vanadat gemeinsam.

Bei Fermentierungsversuchen zur Weinsäuregewinnung wurde ausschließlich von einer steigernden Wirkung des Vanadiums auf die Ausbeute ausgegangen. Diese Annahme konnte von Klasen et al. 1992 widerlegt werden. Sie haben festgestellt, dass bei der Bildung von Weinsäure aus Glucose unter Verwendung von *G. suboxydans* nur die Bildung der 5-Ketogluconsäure von der Gegenwart des Bakteriums abhängig ist. Der Schritt der Bildung der Weinsäure aus der 5-Ketogluconsäure ist dagegen nur von der Gegenwart des Vanadats abhängig [27]. Wenn man die Fermentierung ohne den Zusatz von Vanadat durchführt, bleibt die Oxidation auf der Stufe der 5-Ketogluconsäure stehen. Andererseits wurde auch in Lösungen ohne *G. suboxydans* in Gegenwart von Vanadat aus 5-Ketogluconsäure Weinsäure gebildet. Das Vanadat fungiert also als homogener Katalysator bei der Bildung der Weinsäure aus der 5-Ketogluconsäure.

Im Rahmen der, dieser Arbeit voran gegangenen, Diplomarbeit [38] konnte gezeigt werden, dass neben dem Vanadium auch der pH-Wert und der für die Umsetzung verwendete Puffer entscheidenden Einfluss auf die Oxidation haben. Bisher wurde bei Umsetzung von 5-Ketogluconsäure zu Weinsäure unter Verwendung von Bakterien immer in gepuffertem Medium gearbeitet, um geeignete physiologische Bedingungen für die Bakterien gewährleisten zu können [27][31][46][65]. Dazu wurde in der Regel Phosphatpuffer verwendet, da den Bakterien so gleichzeitig eine Phosphorquelle zur Verfügung gestellt werden konnte. Bei Verwendung von Phosphatpuffer erfolgt die Bildung von Weinsäure zwar über einen großen pH-Bereich, aber nur mit unbefriedigende Ausbeuten. Bei Verwendung von alkalischem Carbonatpuffer werden dagegen die höchsten bisher bekannten Weinsäureausbeuten erzielt, was zur Patentierung dieses Verfahrens geführt hat [28][29][30].

Die Ursachen für diese starke Pufferabhängigkeit der Umsetzung sind bisher nicht bekannt. Ihre Aufklärung ist eines der Ziele dieser Arbeit. Außerdem soll untersucht werden, ob im Hinblick auf eine mögliche industrielle Weinsäureproduktion die Selektivität und Ausbeute der Reaktion erhöht sowie die Reaktionsdauer verringert werden kann.

2. Hauptteil

2.1 Oxidationen durch Luftsauerstoff

2.1.1 Einleitung

Im Rahmen meiner Diplomarbeit habe ich, wie bereits erwähnt, die unerwartete Beobachtung gemacht, dass 5-Ketogluconsäure im sauren bis neutralen pH-Bereich durch Luftsauerstoff nur dann in merklichem Umfang oxidiert wird, wenn neben dem Katalysator Vanadat auch Phosphat anwesend ist [38][39]. In dieser Arbeit habe ich nur den Verbrauch an 5-Ketogluconsäure und die Bildung von Weinsäure verfolgen können.

Ein verfeinertes Analysensystem erlaubt nun zusätzlich die routinemäßige Bestimmung sowohl von Oxalsäure als auch von Glycolsäure, einem Zwischenprodukt der Reaktion [31].

Es gibt zwei Wege, auf denen Oxalsäure bei der Oxidation von 5-Ketogluconsäure gebildet werden kann. Einerseits kann sie durch Weiteroxidation von bei der Umsetzung gebildeter Glycolsäure entstehen und andererseits durch oxidative Spaltung der Weinsäure (Abbildung 4).

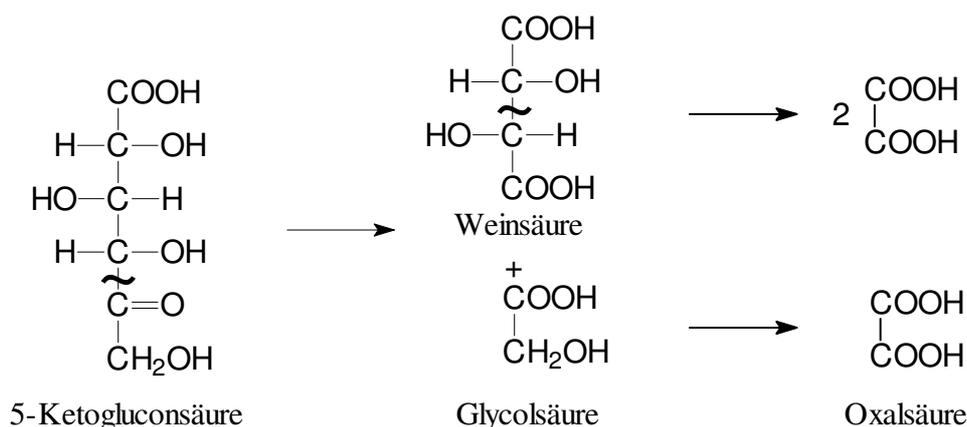


Abbildung 4: Schema der Bildung von Oxalsäure durch Weiteroxidation der aus der 5-Ketogluconsäure gebildeten Weinsäure und Glycolsäure.

Die Weiteroxidation von Weinsäure zu Oxalsäure ist ein seit langem bekanntes Problem bei der oxidativen Darstellung von Weinsäure [60]. Dabei werden aus einem Mol Weinsäure zwei Mol Oxalsäure gebildet (siehe Abbildung 4), was zur Bildung von erheblichen

Mengen an Oxalsäure führt. Wenn die Ausbeute an Oxalsäure im Verhältnis zur Ausbeute an Weinsäure und Glycolsäure deutlich höher ist, deutet dies also auf eine Weiteroxidation von Weinsäure hin.

Die *Ausbeute* gibt im folgenden in Prozent an, wie viel der theoretisch maximal möglichen Weinsäure-Menge gebildet wurde.

$$\text{Ausbeute} = \frac{c(\text{TA})}{c_0(5 - \text{KGA})} * 100$$

Da aus einem Mol 5-Ketogluconsäure ein Mol Weinsäure gebildet werden kann (Abbildung 4), liegt die gebildete Menge an Weinsäure ($c(\text{TA})$) maximal bei der eingesetzten Konzentration der 5-Ketogluconsäure ($c_0(5\text{-KGA})$). Bei der Spaltung der 5-Ketogluconsäure wird ebenfalls ein Mol eines C2-Moleküls gebildet, deshalb entsprechen auch bei Glycolsäure und Oxalsäure 100 % der eingesetzten Menge an 5-Ketogluconsäure. Da aber auch aus Weinsäure durch oxidative Spaltung Oxalsäure gebildet werden kann, ist im Gegensatz zur Weinsäureausbeute eine Oxalsäureausbeute von mehr als 100 % möglich.

Der *Verbrauch* ist als Quotient aus der verbrauchten Menge an 5-Ketogluconsäure ($c_i(5\text{-KGA})$) und der eingesetzten Menge an 5-Ketogluconsäure ($c_0(5\text{-KGA})$) gegeben. Die Angabe erfolgt ebenfalls in Prozent.

$$\text{Verbrauch} = \frac{c_i(5 - \text{KGA})}{c_0(5 - \text{KGA})} * 100$$

Die *Selektivität* ist ein Maß dafür, wie viel der verbrauchten 5-Ketogluconsäure tatsächlich zu Weinsäure umgesetzt wurde.

$$\text{Selektivität} = \frac{\text{Ausbeute}}{\text{Verbrauch}} * 100$$

Auch sie wird in Prozent angegeben. Je höher sie ist, desto weniger Nebenprodukte wurden gebildet. Sie ergibt sich aus dem Quotienten aus der Ausbeute und dem Verbrauch.

2.1.2 pH-Abhängigkeit des Einflusses von Phosphatpuffer auf die Reaktion

Bei der Umsetzung von 5-Ketogluconsäure in Gegenwart von Vanadat (NH_4VO_3) als Katalysator steigt die Ausbeute an Oxalsäure von rund 45 % bei pH 1,4 auf 90 % bei pH 7,1 an (Abbildung 5). Gleichzeitig steigt der Verbrauch an 5-Ketogluconsäure von etwa 60 % auf über 90 %. Bei weiter steigendem pH-Wert bleiben beide dann annähernd konstant. Im Gegensatz dazu zeigen die Ausbeuten an Glycolsäure (20 - 40 %) und Weinsäure (20 - 35 %) keine signifikante pH-Abhängigkeit. Dies führt zu einer sinkenden Selektivität

der Reaktion von etwa 60 % mit steigendem pH-Wert auf 25 - 30 %. Da die Ausbeute an Oxalsäure die Ausbeute an Weinsäure ab pH 7,1 um mehr als das Vierfache übersteigt, kann man sagen, dass hier Oxalsäure das Hauptprodukt der Reaktion ist.

Werden die gleichen Umsetzungen ohne Vanadat durchgeführt (Abbildung 5), findet bei saurem oder neutralem pH keine Umsetzung statt. Nur bei pH-Werten über 7 kommt es auch in Abwesenheit von Vanadat zu einem Abbau von 5-Ketogluconsäure. Der Verbrauch steigt dabei von rund 35 % bei pH 8,1 auf etwa 70 % bei pH 10,3 an, die Ausbeute an Weinsäure erreicht dabei aber nur etwa 10 - 25 %. Insgesamt werden hier durchweg geringere Ergebnisse erzielt als mit Vanadat. Besonders auffällig sind die, mit rund 10 % deutlich geringeren Ausbeuten an Oxalsäure. Sie liegt hier unter der Ausbeute an Glycolsäure mit 10 - 20 %.

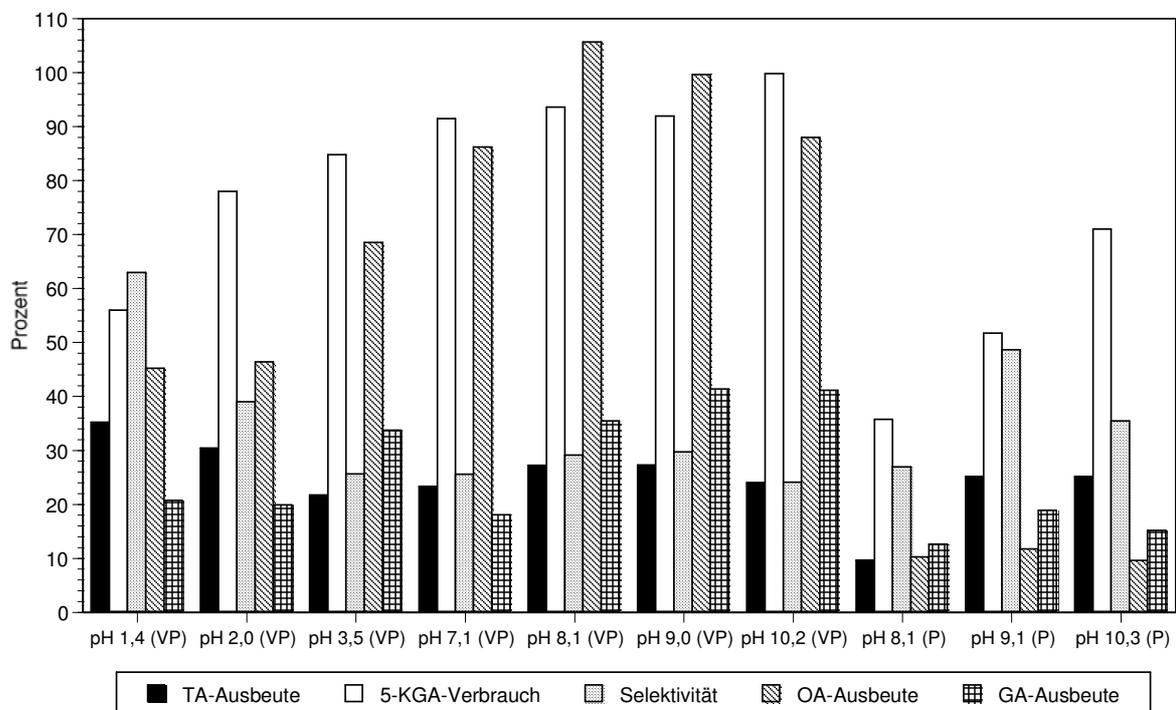


Abbildung 5: Ergebnisse der Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) zu Weinsäure in Abhängigkeit vom pH-Wert, unter Verwendung von Phosphatpuffer (0,44 mol/l) mit und ohne Vanadat (1 mmol/l) (V = Vanadat, P = Phosphat) nach acht Tagen bei 27°C und 180 Upm.

Wenn man die Konzentrationen als Funktion der Zeit betrachtet, wird die wesentlich langsamere Reaktion ohne Vanadat besonders deutlich (Abbildung 6, Abbildung 7).

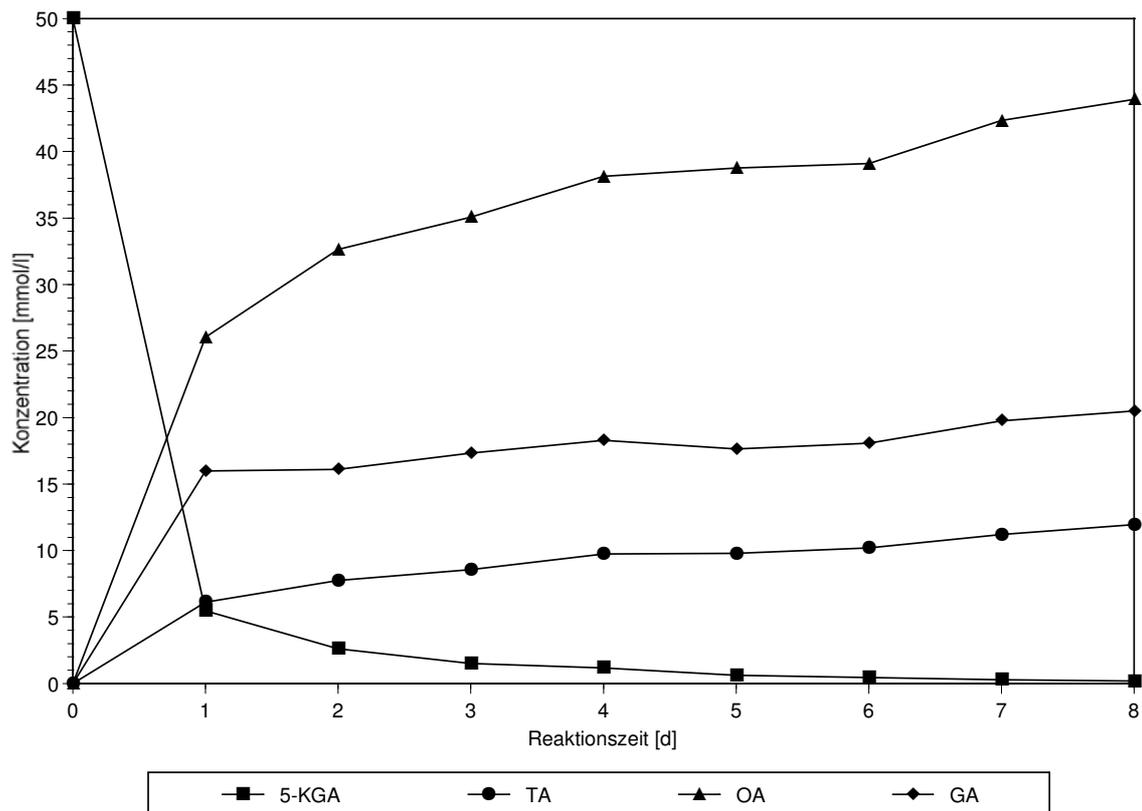


Abbildung 6: Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50mmol/l) mit Vanadat (1 mmol/l) in Phosphatpuffer (0,44 mol/l) bei pH 10,2 (acht Tage, 27°C, 180 Upm).

In Gegenwart von Vanadat (Abbildung 6) ist die Oxalsäure von Beginn an das Hauptprodukt der Reaktion. Der größte Teil der 5-Ketogluconsäure wird innerhalb des ersten Tages abgebaut und auch die Hauptmenge der Produkte ist nach einem Tag gebildet worden. Nach zwei Tagen ist die Reaktion bereits weitgehend beendet und es sind nur noch geringe Änderungen der Konzentrationen zu beobachten.

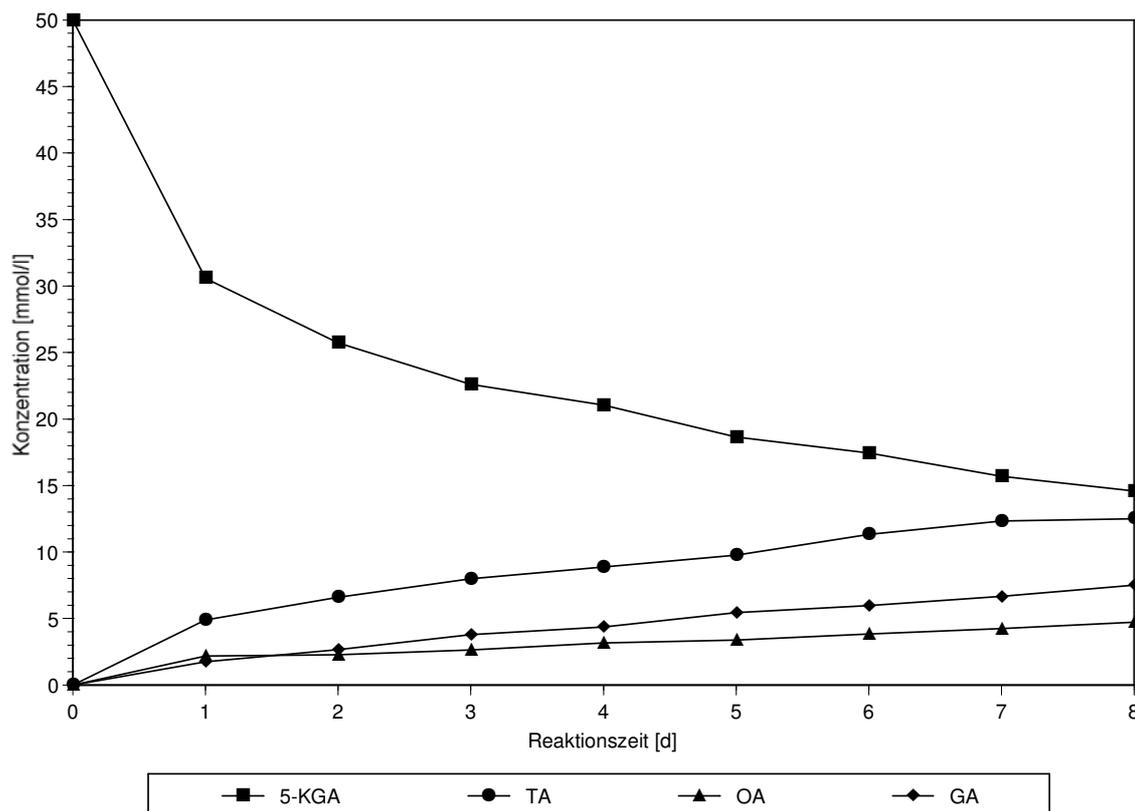


Abbildung 7: Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50mmol/l) ohne Vanadat in Phosphatpuffer (0,44 mol/l) bei pH 10,2 (acht Tage, 27°C, 180 Upm).

Bei der Umsetzung ohne Vanadat (Abbildung 7) erfolgt die Umsetzung wesentlich langsamer. Das Ende der Reaktion ist auch nach acht Tagen noch nicht erreicht. Hier wird von Anfang an mehr Weinsäure als Oxalsäure gebildet und man kann davon ausgehen, dass die gebildete Oxalsäure hier zum überwiegenden Teil aus der Oxidation der Glycolsäure stammt.

Dass in den Kontrollversuchen ohne Vanadat bei saurem und neutralem pH-Wert kein Abbau der 5-Ketogluconsäure erfolgt, während bei alkalischem pH-Wert auch ohne Vanadat eine Spaltung der 5-Ketogluconsäure stattfindet, lässt den Schluss zu, dass es eine Vanadat-abhängige und eine Vanadat-unabhängige Spaltung der 5-Ketogluconsäure gibt.

Die Vanadat-abhängige Spaltung wird durch die Gegenwart von Phosphat erheblich beschleunigt. Dies zeigt sich daran, dass bei einer Umsetzung der 5-Ketogluconsäure bei pH 6,6 oder 7,0 mit Vanadat als Katalysator in Abwesenheit von Phosphat nur eine minimale Umsetzung stattfindet [38]. Die Reaktion läuft dann nur extrem langsam ab. Dieser Effekt steht wahrscheinlich mit der Bildung gemischter Anhydride zwischen Vanadat und Phosphat in Zusammenhang [21] (siehe auch 2.3.4).

Der Abbau der 5-Ketogluconsäure, bei den Versuchen ohne Vanadat, nimmt mit steigendem pH-Wert zu. Die möglichen Gründe hierfür werden später diskutiert (2.4.1).

Es stellt sich die Frage, warum bei der Umsetzung mit Vanadat nicht die gesamte Weinsäure zu Oxalsäure oxidiert wird? Vermutlich ist die starke pH-Abnahme infolge der Oxalsäure-Bildung ein Grund dafür. Eine weitere Ursache könnte in einer Komplexierung des Vanadats durch die Oxalsäure liegen. Denn Oxalsäure bildet, wie viele Dicarbonsäuren, stabile Komplexe mit Vanadat [64].

2.1.3 Einfluss von Arsenatpuffer

Arsen ist das schwerere Homologe des Phosphors und besitzt als Arsenat ähnliche Eigenschaften wie Phosphat. Zum Beispiel bildet es genau wie Phosphat ein gemischtes Anhydrid mit Vanadat [21]. Ein solches Anhydrid ist beim Phosphat wahrscheinlich für dessen Einfluss auf die Reaktion verantwortlich. Da auch die pK_s -Werte ähnlich sind, kann man Arsenat auch als Puffer einsetzen. Es ist also von Interesse, ob eine Umsetzung von 5-Ketogluconsäure in Arsenatpuffer zu ähnlichen Ergebnissen führt, wie in Phosphatpuffer. Deshalb werden die Umsetzungen mit Dinatriumhydrogenarsenat als Puffer unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie bei den Reaktionen in Phosphatpuffer durchgeführt.

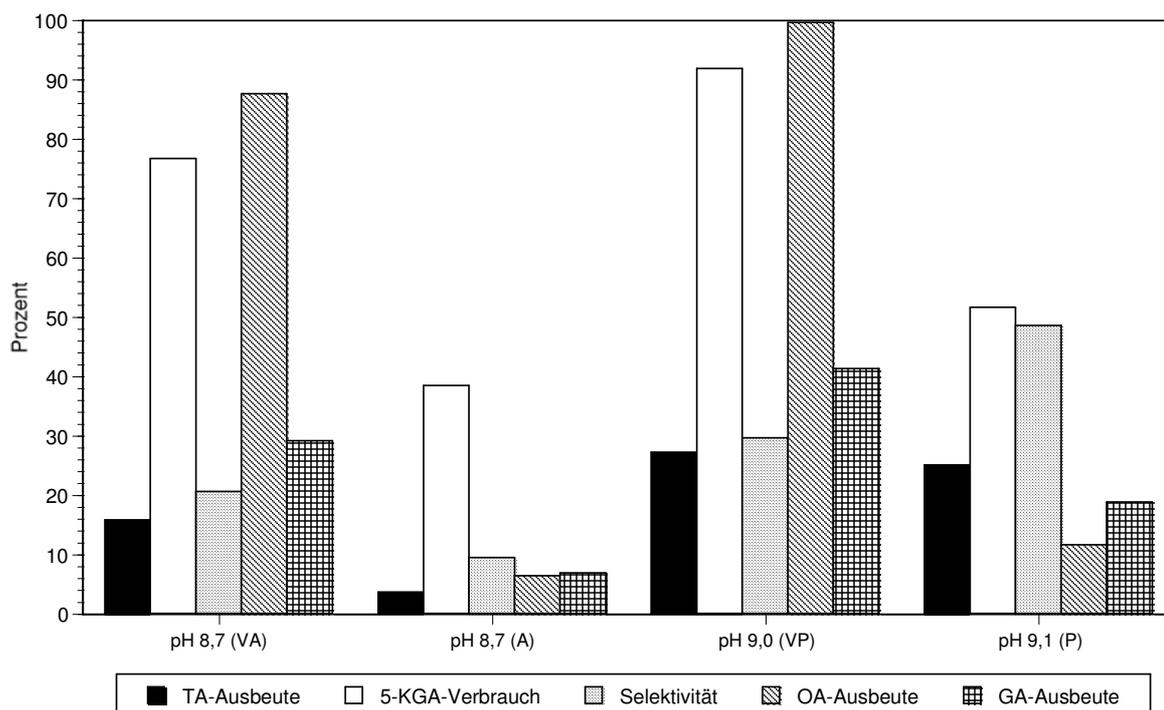


Abbildung 8: Vergleich der Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) mit und ohne Vanadat (1 mmol/l) unter Verwendung von Arsenat als Puffer (0,44 mol/l) bei pH 8,7 (V = Vanadat, A = Arsenat, P = Phosphat) nach acht Tagen bei 27°C und 180 Upm.

In Gegenwart von Vanadat liegen die Ergebnisse bei Verwendung von Arsenatpuffer bei etwa 70 % der mit Phosphatpuffer erreichten Werte (Abbildung 8). Aber es sind die gleichen Tendenzen erkennbar. Auch hier wird wesentlich mehr Oxalsäure als Weinsäure gebildet. Insgesamt zeigen die Ergebnisse deutlich, dass der Reaktionsverlauf dem mit Phosphat sehr ähnlich ist.

2.1.4 Einfluss von Carbonatpuffer in alkalischem Milieu

2.1.4.1 pH-Abhängigkeit der Reaktion in Carbonatpuffer

In Carbonatpuffer werden bei pH 10 in Gegenwart von Vanadat erheblich bessere Weinsäureausbeuten (70 - 75 %) erreicht als bei allen anderen bisher bekannten Darstellungsverfahren für Weinsäure [28]. Da Carbonat-Lösungen nicht beliebig angesäuert werden können, ohne dass ihnen Kohlendioxid entweicht, wurden die Umsetzungen oberhalb pH 8,2 durchgeführt.

Die einzelnen Umsetzungen im Bereich von pH 8,2 bis pH 10,1 zeigen keine großen Unterschiede. Die Ausbeuten an Weinsäure liegen bei 60 - 70 % und die 5-Ketogluconsäure wird zu 85 - 95 % abgebaut. Daraus ergibt sich eine Selektivität der Reaktion von 70 - 80 %. Es werden also weniger Nebenprodukte gebildet. Da die Summe der Ausbeuten an Oxalsäure und Glycolsäure mit rund 70 % etwa der Ausbeute der gebildeten Weinsäure (75 %) entspricht, hat hier offensichtlich auch keine Weiteroxidation von Weinsäure stattgefunden. Dies zeigt sich daran auch, dass deutlich mehr Glycolsäure (50 %) als Oxalsäure (20 %) gebildet wird, was auf eine insgesamt mildere Oxidation als bei Verwendung von Phosphatpuffer hindeutet.

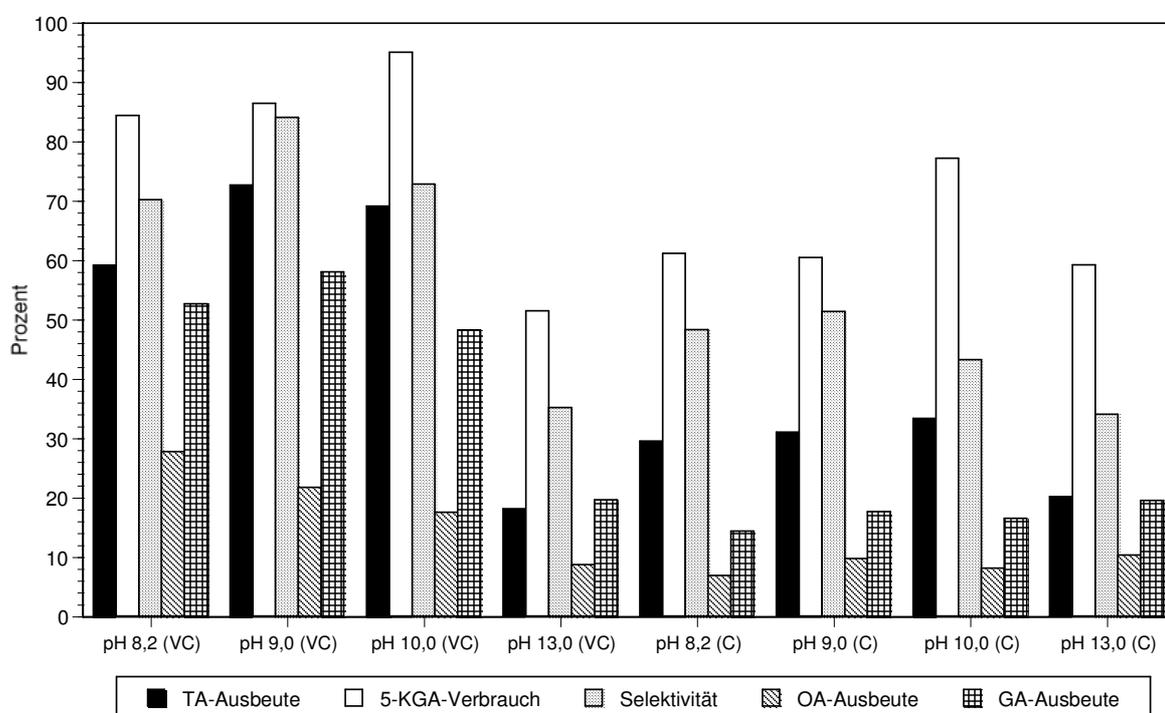


Abbildung 9: Zusammenfassung der Ergebnisse der Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) zu Weinsäure in Abhängigkeit vom pH-Wert, unter Verwendung von Carbonatpuffer (0,44 mol/l) mit und ohne Vanadat (1 mmol/l) (V = Vanadat, C = Carbonat) nach acht Tagen bei 27°C und 180 Upm.

Wird die Reaktion dagegen bei pH 13 durchgeführt, sinkt die Weinsäureausbeute auf rund 20 % ab. Ein Unterschied zwischen den Proben mit und ohne Vanadat ist nicht mehr zu beobachten. Der Verbrauch der 5-Ketogluconsäure ist dabei allerdings mit 40 % deutlich geringer. Worauf das zurückzuführen ist, ist bisher unklar.

Die Tatsache, dass die Weinsäureausbeute bei alkalischem pH-Wert drastisch niedriger ist, stimmt mit den Ergebnissen von Isbell und Holt [23] überein, welche die Oxidation von 5-Ketogluconsäure in Natriumhydroxid-Lösung und Calciumhydroxid-Lösung der Konzentration 1 mol/l durchgeführt haben. Dabei fanden sie 29 % Oxalsäure, 45 % Hydroxyglutarsäure und 10 % Weinsäure als Produkte.

5-Ketogluconsäure ist bis pH 10 gegenüber einer Isomerisierung stabil [9]. Bei höheren pH-Werten unterliegt sie, wie viele andere Kohlenhydrat-Derivate, einer Epimerisierung. Der Mechanismus dieser Epimerisierung wurde von Lowry-de-Bruyn und van Ekenstein [33] am Beispiel von D-Glucose, D-Fructose und D-Mannose in alkalischer Lösung aufgeklärt. Jedes der drei genannten Monosaccharide liefert in alkalischer wässriger Lösung ein Gemisch aus allen drei Zuckern.

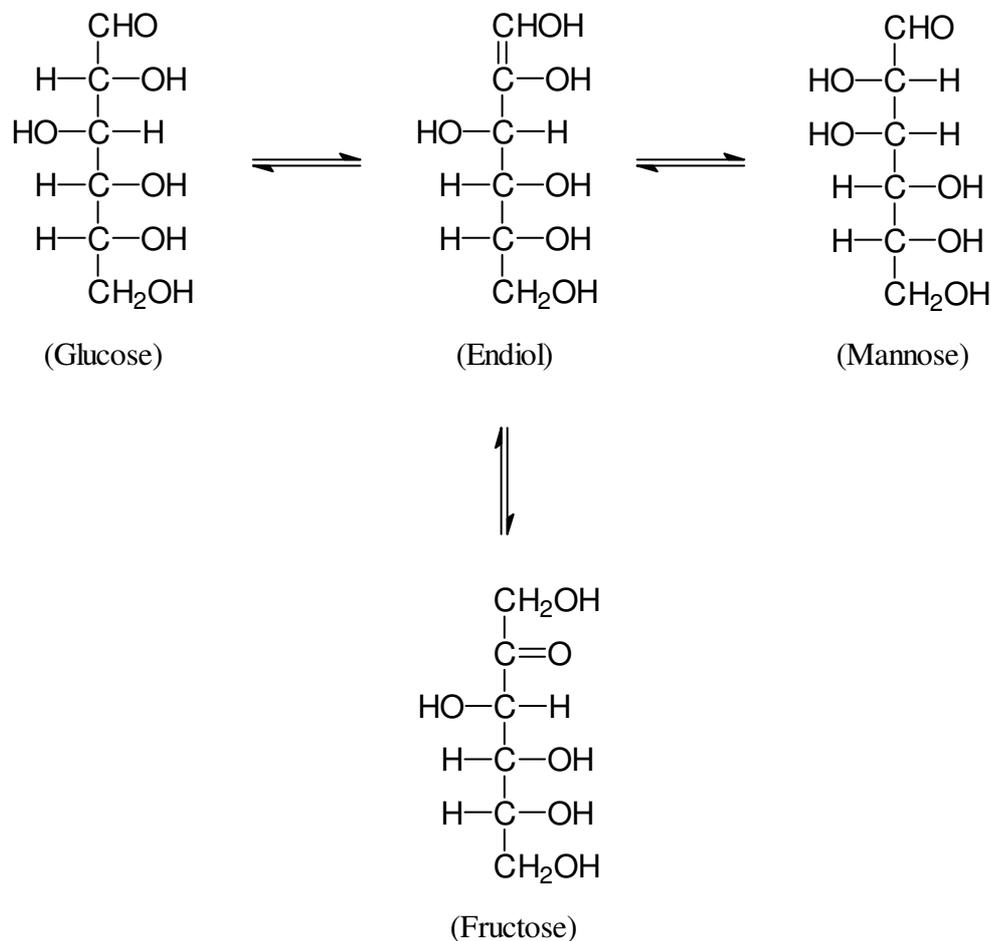


Abbildung 10: Epimerisierung von D-Glucose, D-Fructose und D-Mannose in alkalischer wässriger Lösung über ein Endiol.

Im Falle von 5-Ketogluconsäure führt eine solche Epimerisierung zu einer Vielfalt an möglichen Nebenprodukten.

Die Hydroxidionen-Konzentration darf also nicht zu hoch gewählt werden. Der optimale pH-Wert der Umsetzung liegt vielmehr bei pH 10, da hier noch keine Epimerisierung der 5-Ketogluconsäure stattfindet.

Betrachtet man den Reaktionsverlauf bei pH 10 als Funktion der Zeit für die Umsetzungen mit Vanadat (Abbildung 11) zeigt sich, dass die Reaktion nach zwei bis drei Tagen weitgehend beendet ist. Bei der Reaktion ohne Vanadat (Abbildung 12) bleibt der Abbau der 5-Ketogluconsäure unvollständig. Auf diesen Aspekt wird in Kapitel 2.2.3 eingegangen.

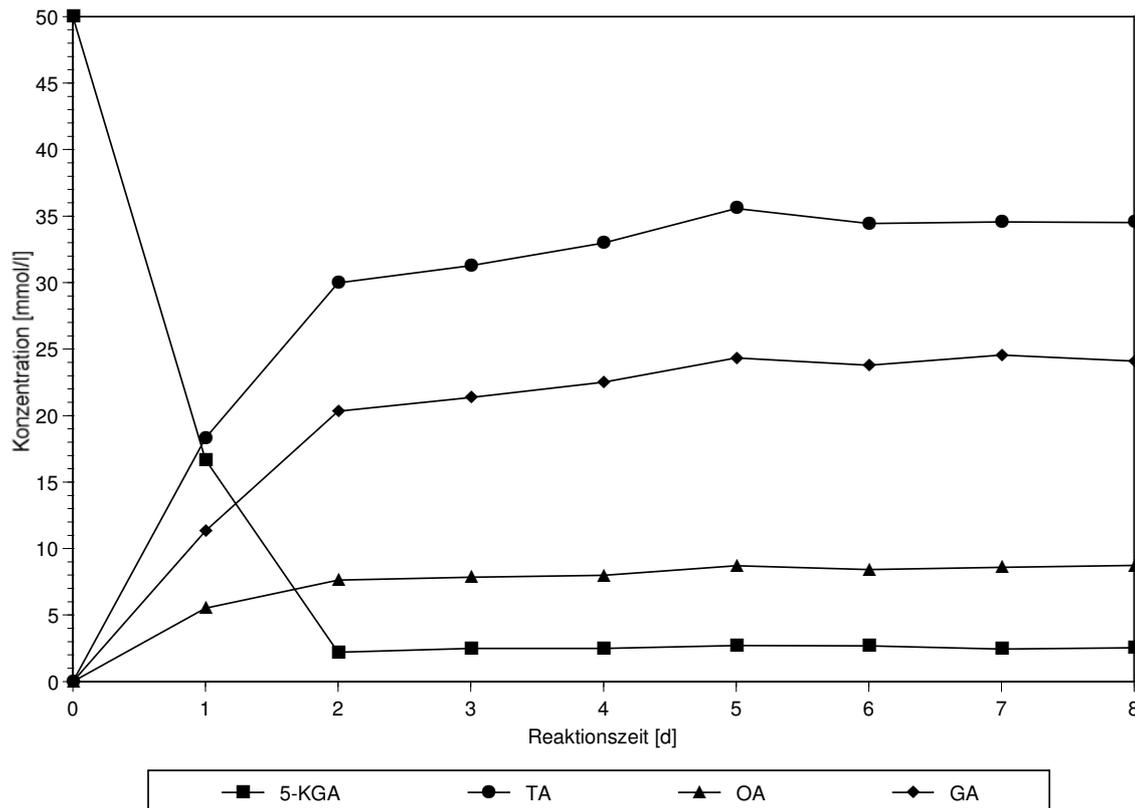


Abbildung 11: Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) in Carbonatpuffer (0,44 mol/l) mit Vanadat (1 mmol/l) bei pH 10,0 (acht Tage, 27°C, 180 Upm).

Die Weinsäureausbeute liegt bei der Umsetzung mit Vanadat etwa doppelt so hoch wie bei Abwesenheit von Vanadat. Auch die Ausbeuten an Oxalsäure und Glycolsäure fallen um etwa die Hälfte niedriger aus. Ohne Vanadat verläuft die Reaktion deutlich langsamer und gleichzeitig wesentlich weniger selektiv.

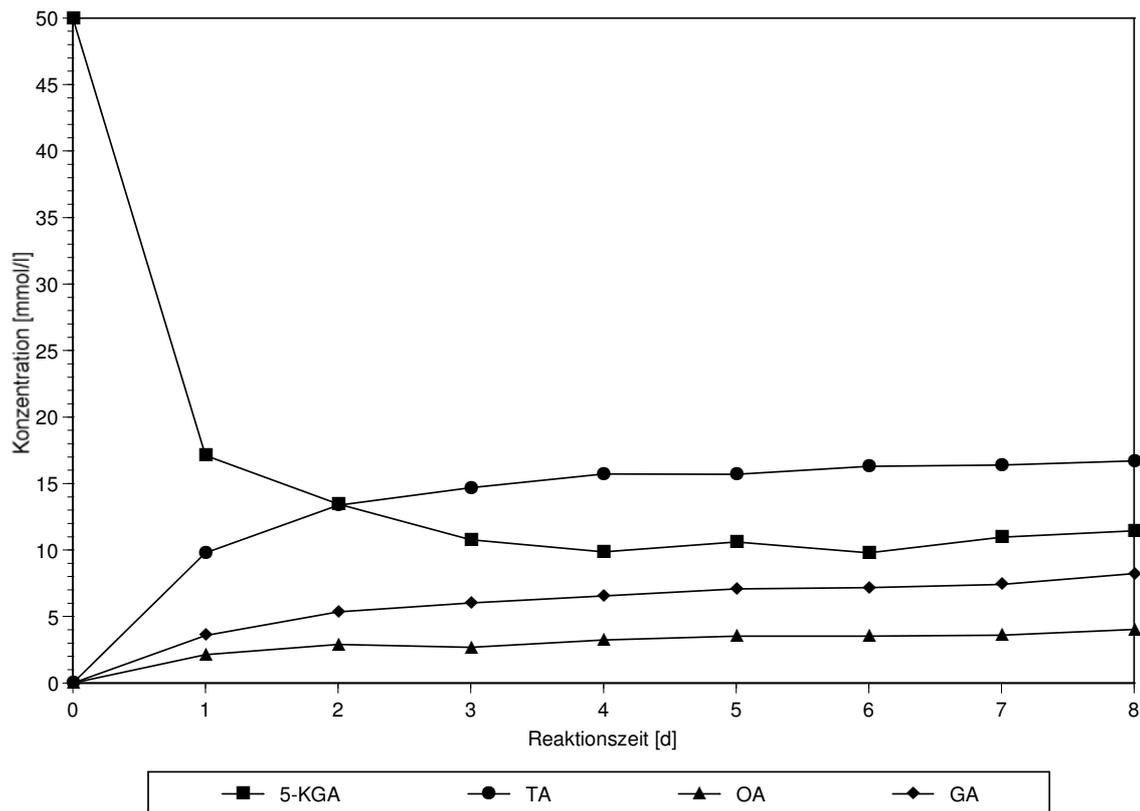


Abbildung 12: Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) in Carbonatpuffer (0,44 mol/l) ohne Vanadat bei pH 10,0 (acht Tage, 27°C, 180 Upm).

2.1.4.2 Einfluss der Carbonat-Konzentration

Da Carbonat einen starken Einfluss auf die Umsetzung von 5-Ketogluconsäure hat, stellt sich nun die Frage nach einer Abhängigkeit der Reaktion von der Konzentration des Carbonats. Reichen bereits geringe Mengen, sind stöchiometrische Mengen erforderlich oder ist ein deutlicher Überschuss des Carbonats in der Lösung notwendig? Zur Klärung dieser Fragen wird die Konzentration des Carbonatpuffern bei den Umsetzungen von 0,01 mol/l bis 0,44 mol/l variiert.

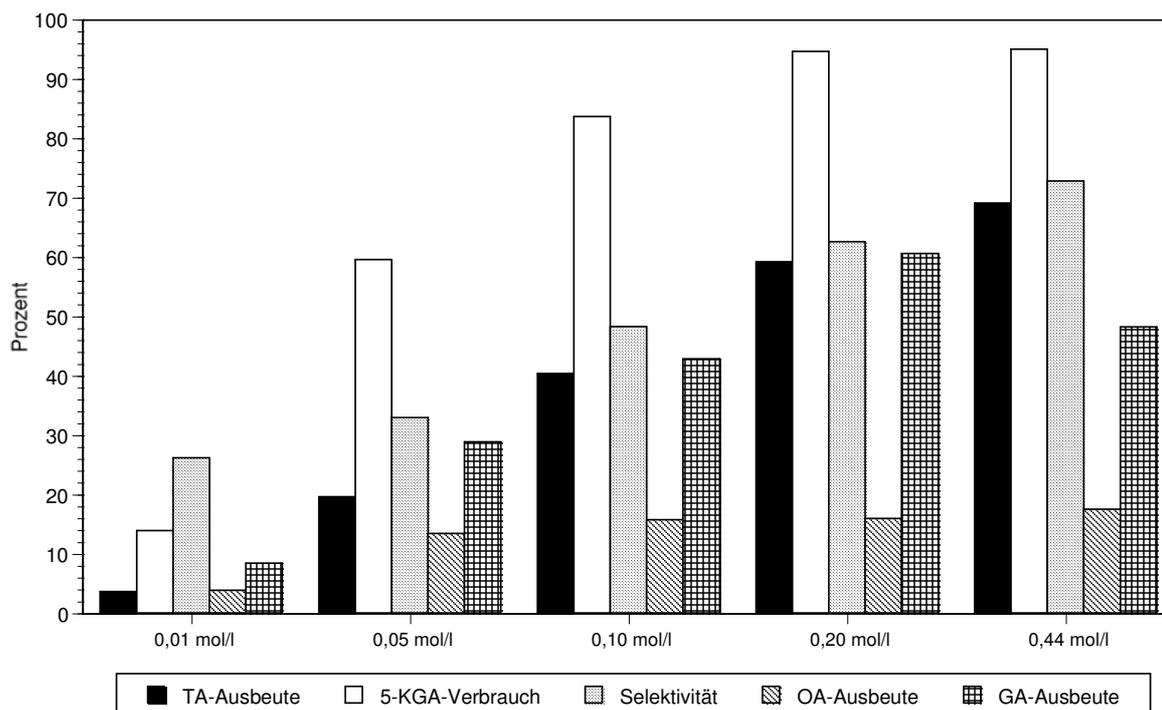


Abbildung 13: Ergebnisse der Variation der Konzentration des Carbonatpuffers bei der Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) mit Vanadat (1 mmol/l) zu Weinsäure nach acht Tagen bei 27°C und 180 Upm.

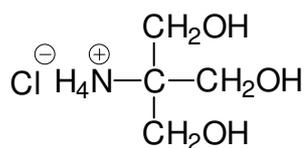
Bei einer Konzentration des Carbonatpuffers von 0,01 mol/l ist nur ein sehr geringer Abbau der 5-Ketogluconsäure festzustellen. Mit steigender Konzentration des Carbonatpuffers nehmen sowohl die Ausbeuten an Weinsäure, Oxalsäure und Glycolsäure, als auch der Verbrauch an 5-Ketogluconsäure zu. Dabei wird ab einer Carbonat-Konzentration von 0,20 mol/l keine wesentliche Steigerung mehr erreicht. Die Ergebnisse der Umsetzung mit einer Carbonat-Konzentration von 0,20 mol/l und der Umsetzung mit 0,44 mol/l sind nahezu identisch. Die Konzentration von 0,20 mol/l entspricht einem vierfachen Überschuss des Carbonats gegenüber der 5-Ketogluconsäure. Für eine optimale Umsetzung ist also ein Überschuss an Carbonat erforderlich.

2.1.5 Einfluss zwitterionischer Puffer in alkalischem Milieu

Nachdem die Oxoanionen Phosphat, Arsenat und Carbonat einen solch großen Einfluss auf die Umsetzung haben, wird hier untersucht, wie die Reaktion bei Verwendung von Puffern mit gänzlich anderer Struktur und chemischem Verhalten verläuft. Geeignet für diese Untersuchungen sind zum Beispiel die so genannten zwitterionischen Puffer. Dabei handelt es sich um synthetische Puffer, die besonders in der Biochemie Verwendung finden. Allerdings sind auch einige dieser Puffer teilweise zu einer Beeinflussung des chemischen Ver-

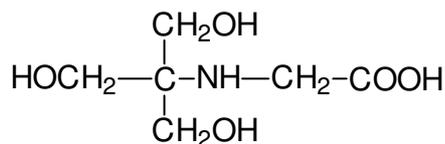
haltens von Vanadat in der Lage. ^{51}V -NMR-Untersuchungen haben z.B. gezeigt, das TRIS einen starken Einfluss auf die Reaktion von Vanadat mit Diolen hat. HEPES dagegen beeinflusst Vanadium in deutlich geringerem Ausmaß [63].

Vier Vertreter dieser Pufferklasse wurden aufgrund ihrer Eignung zum Einsatz im alkalischen pH-Bereich ausgewählt: TRIS-HCl, HEPES, TRICIN und MOPS (Abbildung 14).



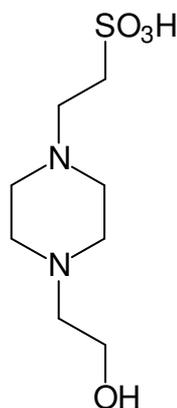
TRIS-HCl

(Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan HCl)



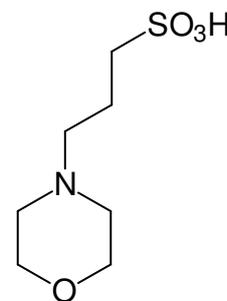
TRICIN

(N-(Tris-(hydroxymethyl)-methyl)-glycin)



HEPES

(4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethylsulfonsäure)



MOPS

(3-Morpholino-propansulfonsäure)

Abbildung 14: Lewisstrukturen und vollständige Namen der zwitterionischen Puffer TRIS-HCl, HEPES, TRICINE und MOPS.

Die Umsetzungen der 5-Ketogluconsäure mit den zwitterionischen Puffern werden bei pH 8 und pH 9 durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 15 zusammengefasst.

In allen Fällen findet nur in Gegenwart von Vanadat eine Umsetzung statt. Ohne Katalysator wird bei keinem der zwitterionischen Puffer ein Abbau der 5-Ketogluconsäure beobachtet. Dabei zeigen die beiden jeweils chemisch ähnlichen Puffer TRIS und TRICIN insgesamt ähnliche Ergebnisse. Bei TRIS und TRICIN werden bessere Selektivitäten erreicht als bei HEPES und MOPS.

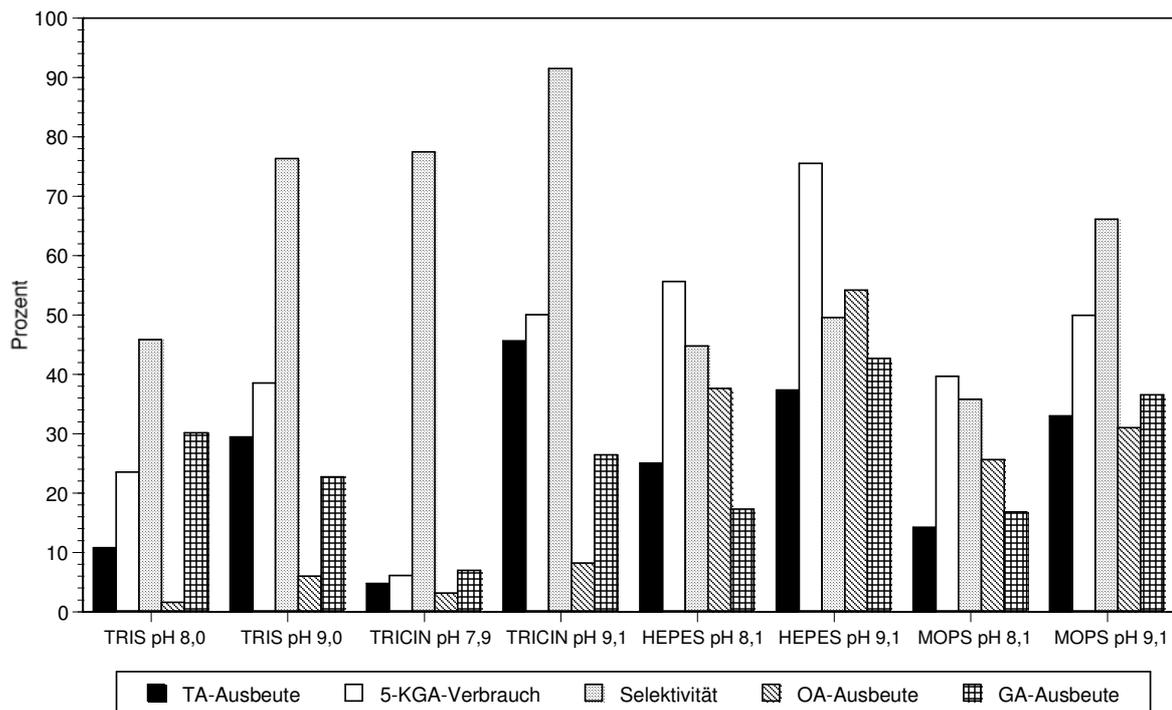


Abbildung 15: Vergleich der Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) mit Vanadat (1 mmol/l) unter Verwendung zwitterionischer Puffer (0,44 mol/l) bei pH 8 und pH 9 nach acht Tagen bei 27°C und 180 Upm.

Bei den Umsetzungen in Gegenwart von Vanadat ist die Ausbeute bei pH 9 höher als bei pH 8. Dies gilt für alle vier Puffer. Dabei werden Ausbeuten an Weinsäure von 10 - 25 % bei pH 8 und 30 - 45 % bei pH 9 erreicht.

Diese Puffer sind nicht zu einer Vanadat-unabhängigen Oxidation der 5-Ketogluconsäure in der Lage, wie sie bei Phosphat, Arsenat und Carbonat beobachtet wird. Die Versuche zeigen, dass es neben der durch Phosphat, Arsenat und Carbonat bewirkten Spaltung der 5-Ketogluconsäure eine Vanadat-katalysierte Spaltung gibt.

2.1.6 Einfluss von EDTA

EDTA (Etylendiamintetraacetat) bildet mit Vanadat einen stabilen 1:1-Komplex. Dessen Kristallstruktur wurde von W. R. Scheidt et al. [54][55] bestimmt und Untersuchungen von Amos und Sawyer [1] konnten zeigen, dass die Struktur in Lösung mit der Struktur im Festkörper übereinstimmt (Abbildung 16). Dieser Chelat-Komplex ist außerordentlich stabil, was zu einer sehr geringen Oligovanadatkonzentration in Lösungen führt, selbst bei hohen Gesamtkonzentrationen an Vanadat [13].

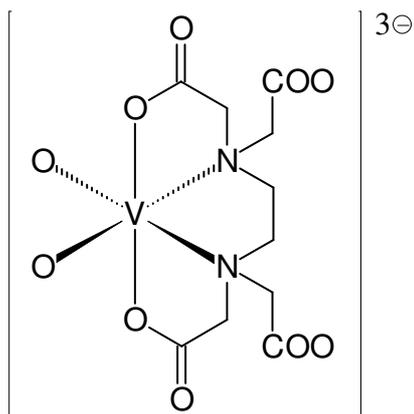


Abbildung 16: Struktur des 1:1 EDTA-Vanadat-Komplexes.

Führt man die Umsetzung in Gegenwart von EDTA statt mit Puffern durch, findet weder bei pH 9,0 noch bei pH 10,0 ein Abbau der 5-Ketogluconsäure statt. Die Zugabe von EDTA führt also zu einer völligen Inhibition der Vanadat-abhängigen Spaltung von 5-Ketogluconsäure.

Das Ergebnis zeigt, dass ein alkalisches Medium allein für eine Spaltung der 5-Ketogluconsäure bis pH = 10 nicht ausreicht. Nur in Gegenwart von Oxoanionen beobachtet man eine Vanadat-unabhängige Oxidation von 5-Ketogluconsäure.

2.1.7 Verwendung alternativer Katalysatoren

In der Patentliteratur werden neben Vanadat eine Reihe anderer redoxaktiver Metallverbindungen von Mangan, Eisen oder Chrom als geeignete Katalysatoren bei der Oxidation von 5-Ketogluconsäure mit Salpetersäure genannt [60]. Hier wurden einige einfache Verbindungen dieser und anderer Übergangsmetalle hinsichtlich ihrer Eignung als Katalysatoren unter den hier verwendeten, wesentlich milderen Bedingungen untersucht. Dabei sind die Eigenschaften der verschiedenen Katalysatoren bei der Wahl der zu verwendenden Puffersysteme zu berücksichtigen. Eisen könnte z.B. in Phosphatpuffer unlösliches FePO_4 bilden – Eisen, Mangan und Cobalt sind nur bei saurem pH-Wert einsetzbar, da sie sonst als Hydroxide ausfallen – Titan(IV) ist nur in schwefelsaurer Lösung beständig, da es sonst TiO_2 bildet. Trotzdem werden bis auf Eisen und Titan alle Katalysatoren bei Reaktionsbedingungen eingesetzt, die einen direkten Vergleich mit den bei der Vanadat-Katalyse erzielten Ergebnissen zulassen.

Die Motivation für die Untersuchung von Eisen und Titan als Katalysatoren liegt in ihrer biologischen Unbedenklichkeit für die Umwelt und den Menschen begründet. Dies ist ein

Punkt, der im Hinblick auf eine Verwendung der Weinsäure in Lebensmitteln von besonderem Interesse ist. Beide Metalle werden hier in stark saurem Milieu eingesetzt – Eisen in Chloridpuffer (pH 3,7) und Titan in 1 N Schwefelsäure (pH 0,3).

Chromverbindungen werden in der organischen Chemie häufig als Oxidationsmittel eingesetzt. Molybdän und Wolfram besitzen wie Vanadat die Eigenschaft, Isopolysäuren und Peroxoverbindungen zu bilden. Außerdem werden sie hier auch in ihrer jeweils höchsten Oxidationsstufe eingesetzt. Bei beiden wird die Umsetzung in alkalischem Carbonatpuffer pH 10,3 durchgeführt. Darüber hinaus wird Molybdän auch in alkalischem Phosphatpuffer pH 10,3 und Chrom in saurem Phosphatpuffer pH 3,4 eingesetzt.

Mangan und Cobalt werden in der Oxidationsstufe +II in Phosphatpuffer (pH 3,4) eingesetzt.

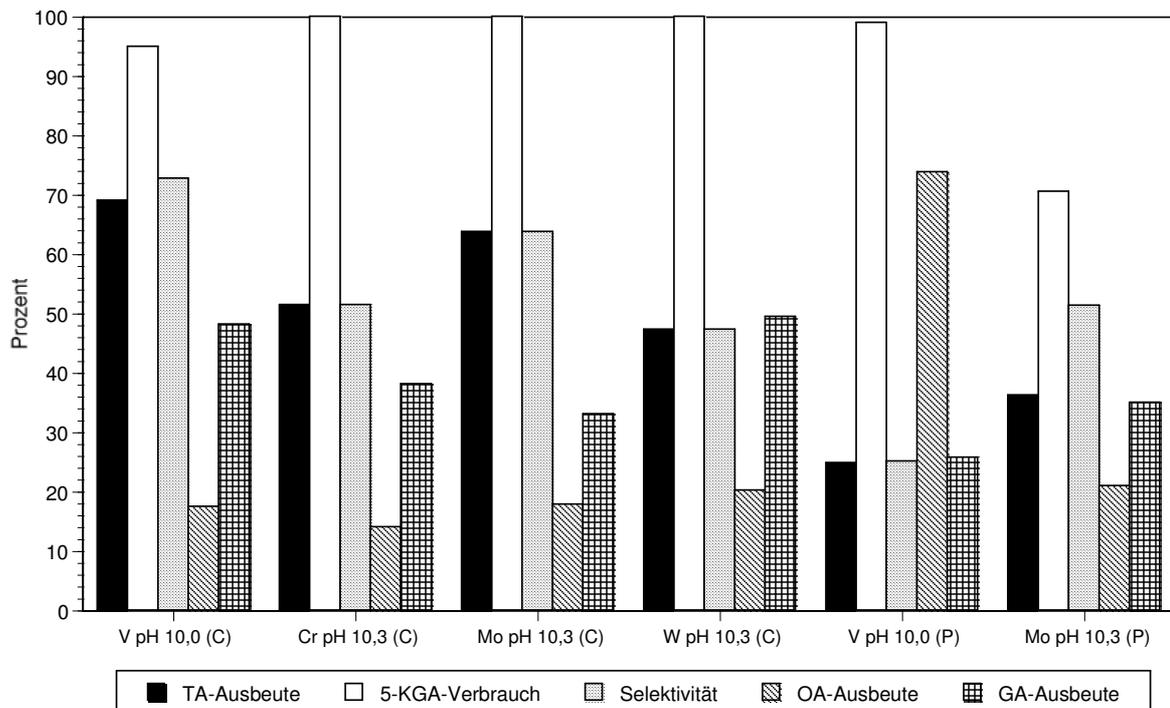


Abbildung 17: Ergebnisse der Umsetzung von 5-Ketogluconsäure unter Verwendung verschiedener Katalysatoren (alle 1,0 mmol/l, V = Vanadat, Cr = Chromat, Mo = Molybdat, W = Wolframmat) in Carbonatpuffer (C) oder Phosphatpuffer (P) nach acht Tagen bei 27°C und 180 Upm.

Bei den Umsetzungen mit Eisen, Titan, Mangan, Chrom und Cobalt in saurem Milieu findet keine Oxidation der 5-Ketogluconsäure statt. Diese Ionen sind also nicht in der Lage,

eine Spaltung und Umsetzung der 5-Ketogluconsäure zu bewirken, obwohl die Umsetzungen mit Mangan, Chrom und Cobalt in Phosphatpuffer durchgeführt wurden.

Bei den in Carbonatpuffer durchgeführten Versuchen mit Chrom, Molybdän und Wolfram wird dagegen in allen Fällen eine Umsetzung der 5-Ketogluconsäure zu Weinsäure beobachtet (Abbildung 17). Diese liegt dabei deutlich über der schon allein durch Carbonat bewirkten Bildung von Weinsäure (vgl. Abbildung 9).

Die Ausbeuten liegen mit ca. 50 - 60 % unter den bei den Umsetzungen mit Vanadat als Katalysator erzielten Werten (70 %). Die 5-Ketogluconsäure wird in allen Fällen vollständig abgebaut, was zu einer geringeren Selektivität von 50 - 60 % führt.

In Phosphatpuffer katalysiert Molybdat, ähnlich wie Vanadat, die Bildung von Weinsäure. Dabei liegt die Ausbeute an Weinsäure mit etwa 35 % etwas höher als bei Verwendung von Vanadat als Katalysator (Abbildung 17). Es fällt die deutlich geringere Oxalsäure-Bildung bei Verwendung von Molybdat auf. Molybdat führt also, im Gegensatz zu Vanadat, in Verbindung mit Phosphat nicht zu einer Weiteroxidation der gebildeten Weinsäure. Deshalb wird hier auch eine höhere Weinsäureausbeute erreicht.

Sowohl in Carbonatpuffer als auch in Phosphatpuffer findet in alkalischem Milieu unabhängig vom Katalysator eine Spaltung der 5-Ketogluconsäure statt. Deshalb muss ein alternativer Katalysator unter diesen Reaktionsbedingungen nur die Oxidation der primären Spaltprodukte katalysieren, nicht aber die Spaltung selbst. Dies stellt anscheinend deutlich geringere Ansprüche an den verwendeten Katalysator.

2.1.8 Optimierungsversuche

2.1.8.1 Einleitung

Die Reaktionszeit beträgt bei den Versuchen aus Gründen der Vergleichbarkeit normalerweise acht Tage. Betrachtet man die Abbildungen für die Zeitabhängigkeit der Reaktion (Abbildung 6, Abbildung 7, Abbildung 11 und Abbildung 12) erkennt man, dass die Umsetzung nach drei Tagen weitgehend beendet ist. Das Ziel der Optimierungsversuche ist es, festzustellen, ob und wie die Reaktionsdauer ohne Einbußen bei der Ausbeute und der Selektivität verkürzt werden kann.

Es gibt eine Reihe von Möglichkeiten, eine Reaktion zu beschleunigen. Man kann beispielsweise die Katalysator-Konzentration oder die Temperatur variieren oder man kann auch versuchen, die Reaktion durch den Einsatz von Ultraschall zu beschleunigen.

2.1.8.2 Variation der Temperatur

Da im allgemeinen die Reaktionsgeschwindigkeit zunimmt, wenn man die Temperatur erhöht [2], wurden Umsetzungen der 5-Ketogluconsäure bei 40°C und 50°C durchgeführt. Die Ergebnisse werden mit denen verglichen, die bei der Standardtemperatur von 27°C erhalten werden. Die Versuche werden in Carbonatpuffer bei pH 10 über eine Reaktionszeit von einem Tag durchgeführt.

Eine Erhöhung der Temperatur von 27°C auf 40°C führt zu einer Zunahme der Ausbeute von rund 35 % auf knapp 50 %. Der Verbrauch an 5-Ketogluconsäure nimmt gleichzeitig von ca. 70 % auf 90 % zu, so dass die Selektivität der Reaktion unverändert bleibt. Außerdem steigt die Menge an Oxalsäure und Glycolsäure (Abbildung 18) bei der Temperaturerhöhung deutlich an. Eine weitere Erhöhung der Temperatur auf 50°C führt zu keiner signifikanten Veränderung der Ergebnisse. Die hohe Ausbeute an Oxalsäure deutet darauf hin, dass teilweise eine Weiteroxidation von gebildeter Weinsäure stattfindet.

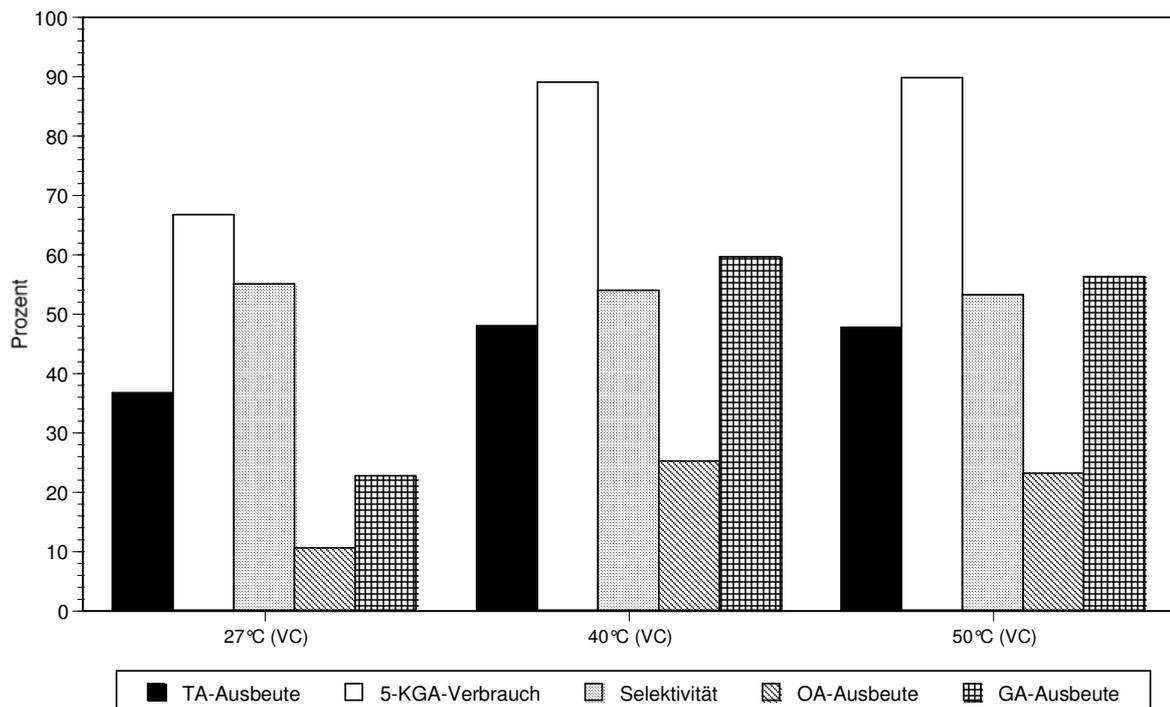


Abbildung 18: Einfluss der Temperatur auf die Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) zu Weinsäure in Carbonatpuffer (0,44 mol/l) bei pH 10 unter Verwendung von Vanadat (1 mmol/l) als Katalysator. Die Umsetzung erfolgte über einen Tag in einem Schüttelinkubator bei 180 Upm (V = Vanadat, C = Carbonat).

Die Reaktionstemperatur über die hier verwendeten 27°C hinaus zu erhöhen ist also durchaus eine geeignete Maßnahme zur Optimierung der Reaktion, weil eine höhere Ausbeute an Weinsäure, in kürzerer Zeit, bei weitgehend unveränderter Selektivität der Umsetzung erreicht wird.

2.1.8.3 Verwendung von Ultraschall

Die Verwendung von Ultraschall stellt ebenfalls eine Möglichkeit zur Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit dar. Der Grund hierfür ist die so genannte Kavitation [34][37][36].

Dieses Phänomen beruht auf der Tatsache, dass Schall, eine Longitudinalwelle, in einer Flüssigkeit zu einer Serie von Kompressionen und Verdünnungen führt, welche Bereiche hohen bzw. geringen Druckes darstellen. Wenn die Solvensmoleküle während einer Verdünnungsphase mit ausreichender Kraft auseinander gerissen werden, entstehen Hohlräume, in denen der Druck in der Flüssigkeit unter deren Dampfdruck fällt. Dabei entstehen mit Gas und Dampf gefüllte Blasen. Was mit diesen Blasen im Folgenden geschieht, ist von ihrer Größe abhängig. Sehr kleine Blasen werden sich einfach schnell wieder auflösen. Große Blasen dagegen werden mit den Wellen oszillieren. Dieses Verhalten nennt man stabile Kavitation und hat nichts mit den chemischen Effekten von Ultraschall zutun.

Für diese Effekte sind kleine Blasen verantwortlich, die nur eine Lebensdauer von einigen akustischen Zyklen besitzen, in dessen Verlauf sie auf das etwa zwei- bis dreifache ihrer ursprünglichen Größe anwachsen. Wenn sie schließlich kollabieren, entstehen enorme lokale Drucke und Temperaturen.

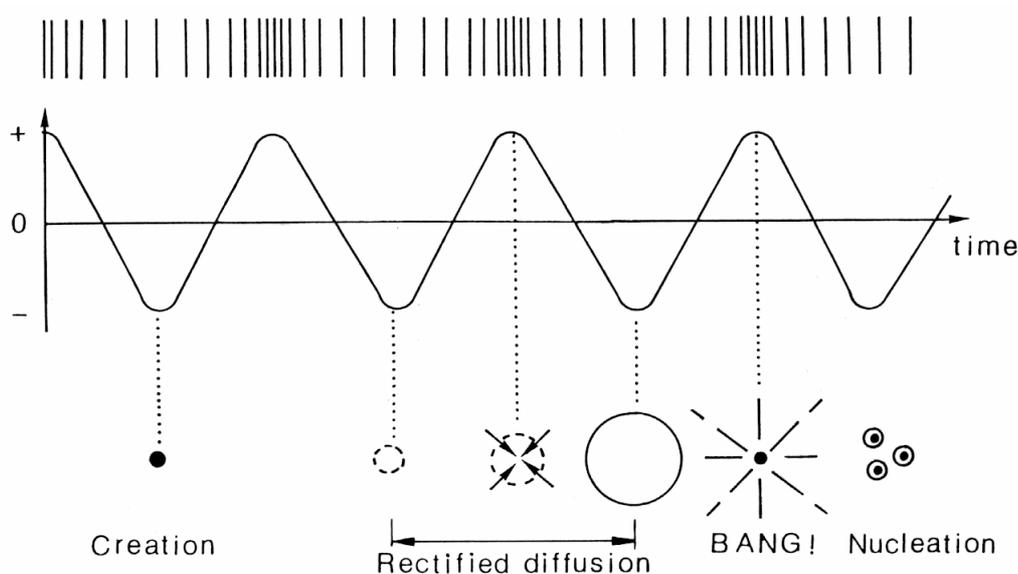


Abbildung 19: Schematische Wiedergabe des Lebens einer Kavitationsblase [34].

Es wurden Drucke von ca. 100 kPa und Temperaturen zwischen 1000 und 3000 K berechnet [34]. Der in den Blasen enthaltene Lösungsmitteldampf wird diesen extremen Bedingungen ausgesetzt. Die Stärke der Kavitation ist stark vom verwendeten Lösungsmittel abhängig. Wasser wird infolge der hohen Drucke und Temperaturen in HO· Radikale gespalten, deren Rekombination zur Bildung von Wasserstoffperoxid führt. Bei Verwendung einer Ultraschallsonde von 100 W Leistung wird dabei eine Menge von ca. 30 $\mu\text{M}/\text{min}$ an Wasserstoffperoxid gebildet [34]. Die Reaktionsdauer betrug 6 h.

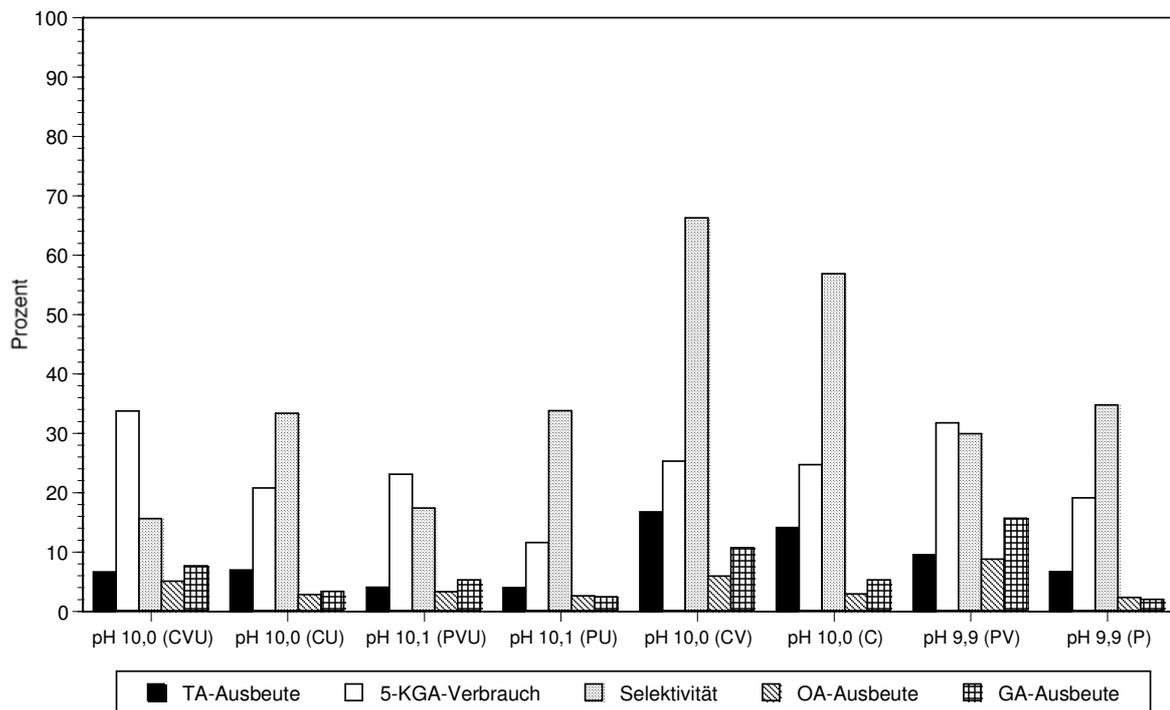


Abbildung 20: Ergebnisse der Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) in Carbonatpuffer und Phosphatpuffer (je 0,44 mol/l) mit und ohne Vanadat unter bzw. ohne Verwendung von Ultraschall. (Reaktionsdauer 6 h, C = Carbonatpuffer, P = Phosphatpuffer, V = 1 mmol/l Vanadat, U = Ultraschall).

Bei den Umsetzungen in Carbonatpuffer unter Einsatz von Ultraschall liegt die Ausbeute an Weinsäure mit etwa 5 % deutlich niedriger als die ohne Ultraschall erreichte Ausbeute von rund 15 %. In Gegenwart von Vanadat ist mit Ultraschall der Verbrauch an 5-Ketogluconsäure etwas höher als bei der Umsetzung ohne Ultraschall. Der höhere Verbrauch und die geringere Ausbeute führen zu einer viermal geringeren Selektivität mit

Ultraschall. Bei der Umsetzung ohne Vanadat wird mit Ultraschall ebenfalls nicht die Selektivität der Umsetzung ohne Ultraschall erreicht.

Mit Phosphatpuffer zeigt sich ein ähnliches Bild. Auch hier liegen die Weinsäureausbeuten mit Ultraschall deutlich niedriger als ohne. Insgesamt sind die Auswirkungen des Ultraschalls aber bei Verwendung von Phosphatpuffer geringer als bei Verwendung von Carbonatpuffer.

Insgesamt verläuft die Reaktion mit Ultraschall weniger selektiv und mit geringerer Ausbeute an Weinsäure als ohne Ultraschall.

Die Verwendung von Ultraschall ist offensichtlich nicht geeignet, die Reaktion zu optimieren.

2.1.8.4 Variation der Vanadat-Konzentration

Die richtige Wahl der Katalysator-Konzentration ist für eine optimale Umsetzung sehr wichtig. Aus diesem Grund wurde die Umsetzung in Phosphatpuffer bei pH 1,9 mit verschiedenen Konzentration zwischen 0,05 mmol/l und 2,0 mmol/l des Vanadats über einen Zeitraum von je acht Tagen durchgeführt.

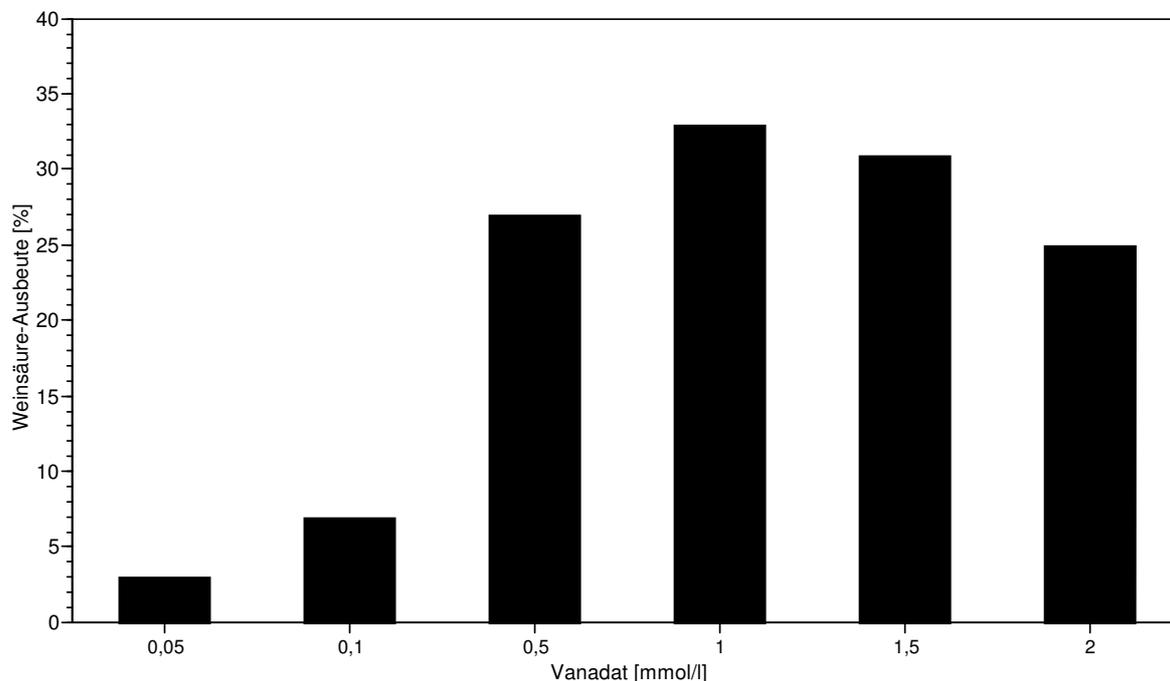


Abbildung 21: Einfluss der Vanadat-Konzentration auf die Weinsäureausbeute bei der Umsetzung von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) in Phosphatpuffer.

Abbildung 21 zeigt deutlich, dass die Weinsäure-Konzentration bei einer Vanadat-Konzentration von 1,0 mmol/l ein Maximum durchläuft. Sowohl bei geringeren als auch bei höheren Vanadat-Konzentrationen wird deutlich weniger Weinsäure gebildet. Die gewählte Vanadat-Konzentration von 1,0 mmol/l stellt also bereits das Optimum dar.

2.2 Reaktionen unter Sauerstoffausschluss

2.2.1 Einleitung

Für die Oxidation von 5-Ketogluconsäure zu Weinsäure und Glycolsäure oder Oxalsäure ist die Aufnahme von Sauerstoff erforderlich. Dabei wird davon ausgegangen, dass der hierfür benötigte Sauerstoff aus der Luft kommt. Dies soll hier überprüft werden, indem die Reaktion unter Luftausschluss durchgeführt wird. Aus diesem Experiment kann man aber noch andere Informationen gewinnen. Wenn die Spaltung und die Oxidation direkt miteinander gekoppelte Schritte sind, müsste der Sauerstoffausschluss zu einem völligen Ausbleiben der Reaktion führen. Wenn die Spaltung und die Oxidation aber in zwei unabhängigen Schritten erfolgt, wird bei Ausschluss von Sauerstoff nur die Spaltung ablaufen können, da sie Sauerstoff-unabhängig ist. Um dies zu verifizieren, wurde eine Umsetzung unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt.

2.2.2 Sauerstoffabhängigkeit der Reaktion in Phosphatpuffer

Während der achttägigen Umsetzung unter Luftausschluss werden etwa 65 - 70 % der 5-Ketogluconsäure abgebaut, ohne dass eines der bei der Umsetzung an Luft auftretenden Oxidationsprodukte Weinsäure, Glycolsäure und Oxalsäure gebildet wird.

Die Ergebnisse der Umsetzungen mit und ohne Vanadat können als identisch bezeichnet werden, da der geringe Unterschied zwischen den beiden Proben im Rahmen der Messgenauigkeit vernachlässigt werden kann.

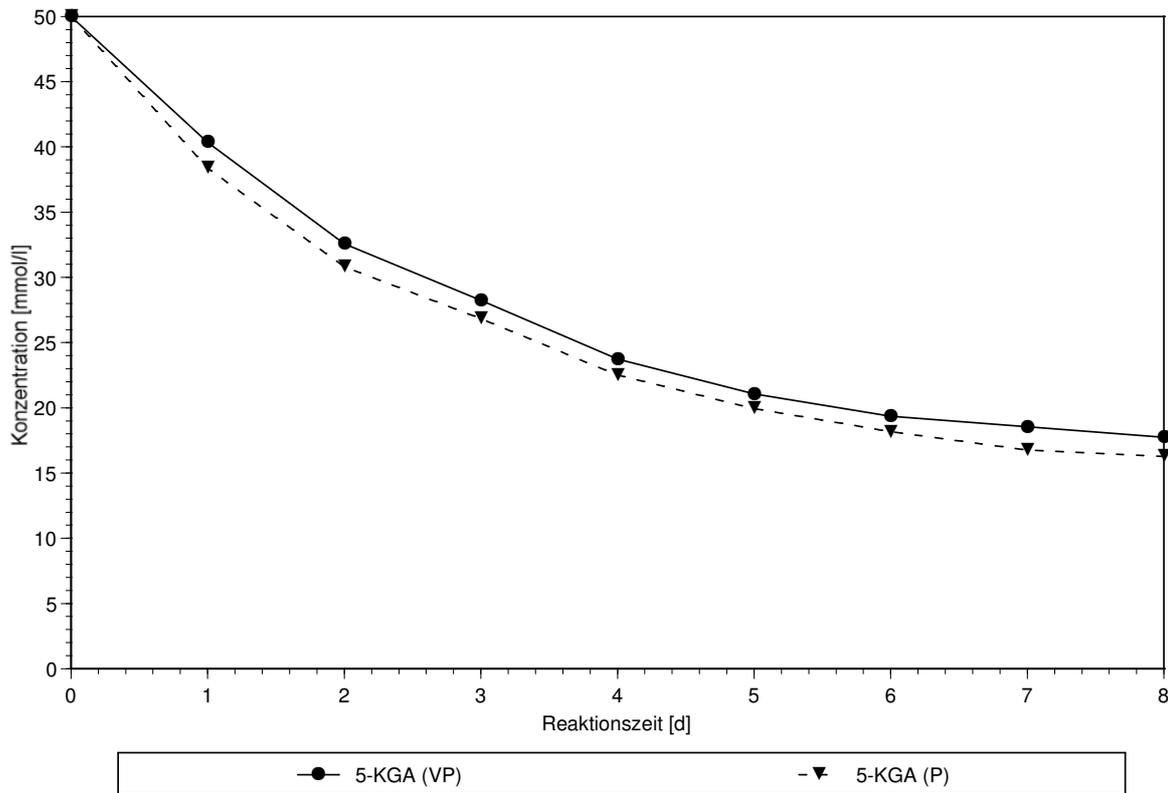


Abbildung 22: Vergleich des Abbaus von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) in Phosphatpuffer (0,44 mol/l, pH 10), mit 1 mmol/l Vanadat (VP) und ohne Vanadat (P) unter Luftausschluss über acht Tage bei 27°C und 180 Upm.

Bei den Umsetzungen an der Luft wird die 5-Ketogluconsäure zu über 90 % abgebaut, während unter inerten Bedingungen nur etwa 60 – 70 % abgebaut werden. Dies könnte auf eine reversible Spaltung der 5-Ketogluconsäure zurückzuführen sein, bei der sich nach einiger Zeit ein Gleichgewicht zwischen der 5-Ketogluconsäure und den Spaltungsprodukten einstellt, da diese nicht in einem irreversiblen Schritt aus diesem Gleichgewicht entfernt werden. Ein solcher irreversibler Schritt wäre z.B. die Oxidation der Spaltungsprodukte. Um etwas über die Art der Spaltungsprodukte zu erfahren, werden die Proben nach der achttägigen inerten Umsetzung einen weiteren Tag an der Luft weiter umgesetzt.

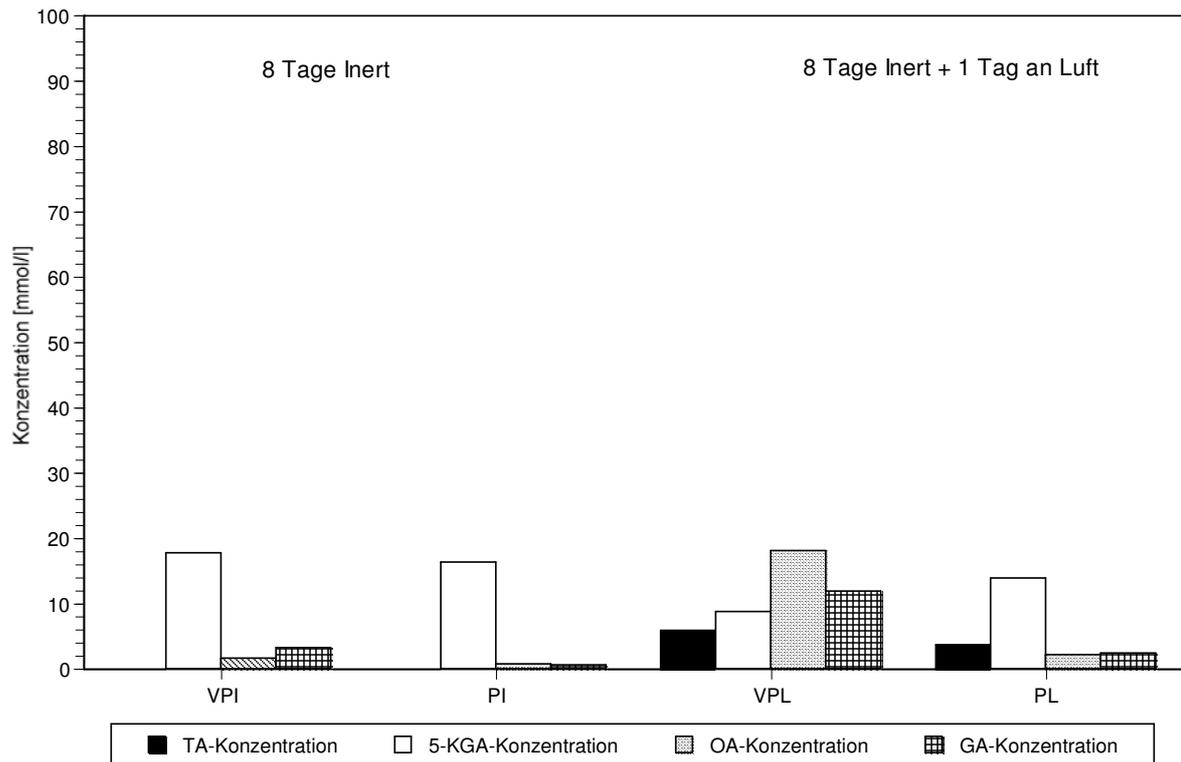


Abbildung 23: Ergebnisse der Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) unter Sauerstoffausschluss und anschließender Zufuhr von Sauerstoff (V = mit Vanadat (1 mmol/l), P = Phosphatpuffer (0,44 mol/l, pH 10), I = nach acht Tagen inert, L = ein Tag an Luft).

Nach eintägiger Umsetzung an der Luft sind etwa 6 mmol/l Weinsäure, 20 mmol/l Oxalsäure und 10 mmol/l Glycolsäure gebildet worden. Dem steht ein Verbrauch von rund 10 mmol/l 5-Ketogluconsäure im gleichen Zeitraum gegenüber. Selbst unter Berücksichtigung einer möglichen Weiteroxidation von Weinsäure kann nicht die gesamte Menge der gebildeten Oxalsäure und Glycolsäure aus der innerhalb des ersten Tages an der Luft verbrauchten 5-Ketogluconsäure stammen. Man kann also sagen, dass die primären Spaltungsprodukte der 5-Ketogluconsäure Vorstufen der Bildung von Weinsäure, Glycolsäure und Oxalsäure sein müssen.

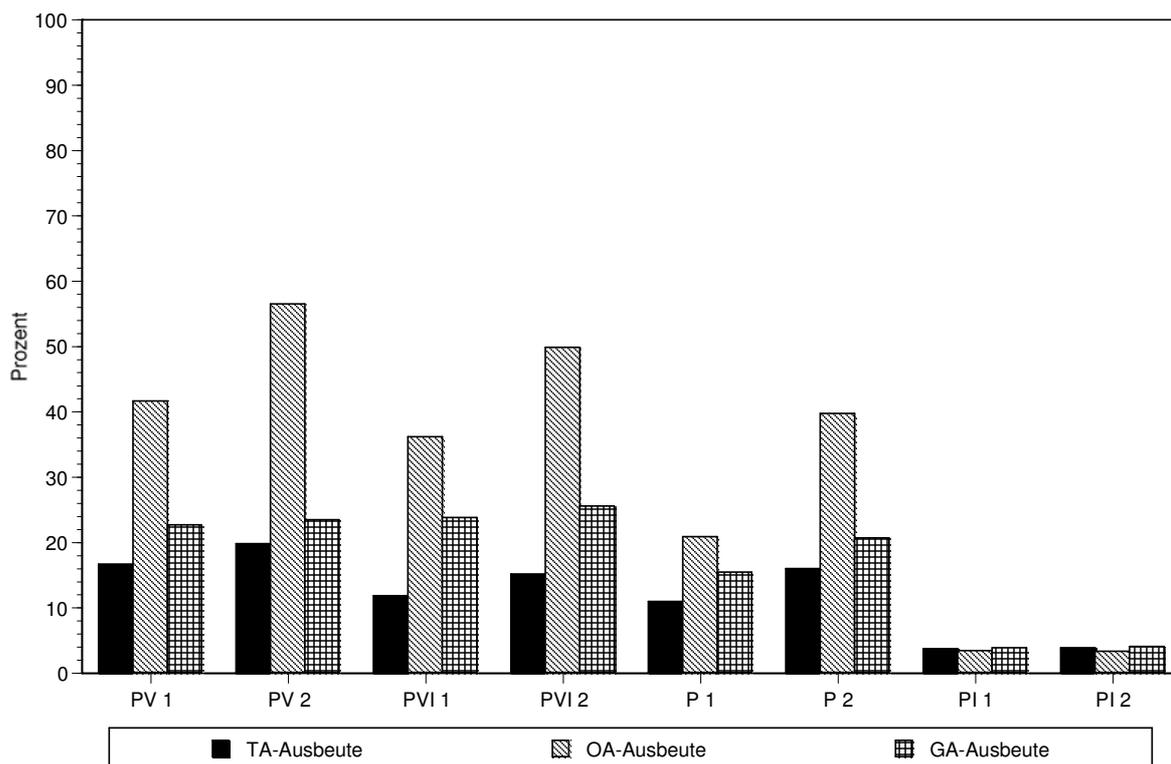


Abbildung 24: Vergleich der Ausbeuten bei 2d Umsetzung an Luft und 2d Umsetzung an Luft nach 8 d inerter Reaktion. (V = mit Vanadat (1 mmol/l), P = Phosphatpuffer (0,44 mol/l, pH 10), I = 8 Tage Inert + Luft, Ziffer = Anzahl Tage an Luft).

Ein Vergleich der Ausbeuten der Oxidation an der Luft nach inertem Abbau mit den Ergebnissen der an Luft durchgeführten Umsetzungen zeigt, dass die Ausbeuten bei den zuerst inert umgesetzten Proben etwas geringer ausfallen als bei den nur an Luft umgesetzten Proben (Abbildung 24). Dies könnte auf Nebenreaktionen der Spaltungsprodukte während der achttägigen inertem Umsetzung zurückzuführen sein, so dass nach den acht Tagen nicht mehr die gesamte Menge der ursprünglich gebildeten Spaltungsprodukte vorliegt.

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Sauerstoff für die Oxidation tatsächlich aus der Luft kommt. Außerdem ist die Spaltung der 5-Ketogluconsäure eindeutig nicht vom Vorhandensein von Sauerstoff abhängig, da sonst unter inertem Reaktionsbedingungen keine Spaltung stattgefunden hätte. Die Spaltung ist darüber hinaus auch nicht vom Vorhandensein von Vanadat abhängig. Denn die Proben mit und ohne Vanadat zeigen den gleichen Reaktionsverlauf.

2.2.3 Sauerstoffabhängigkeit der Reaktion in Carbonatpuffer

Mit Carbonatpuffer werden die gleichen Untersuchungen durchgeführt wie beim Phosphatpuffer. Die Resultate unterscheiden sich nur wenig von den dort erhaltenen Ergebnissen. In einem Zeitraum von acht Tagen werden 75 % der 5-Ketogluconsäure abgebaut. Der Abbau der 5-Ketogluconsäure ist also auch in Carbonatpuffer nicht von der Gegenwart von Sauerstoff abhängig, sondern erfolgt auch unter inerten Reaktionsbedingungen. Es entstehen auch hier keine nennenswerten Mengen an Weinsäure, Glycolsäure oder Oxalsäure, da der zur Oxidation erforderliche Sauerstoff fehlt. Außerdem hat das Vorhandensein von Vanadat in der Lösung unter Sauerstoffausschluss, wie bei Phosphatpuffer, keinen Einfluss auf den Verlauf der Reaktion.

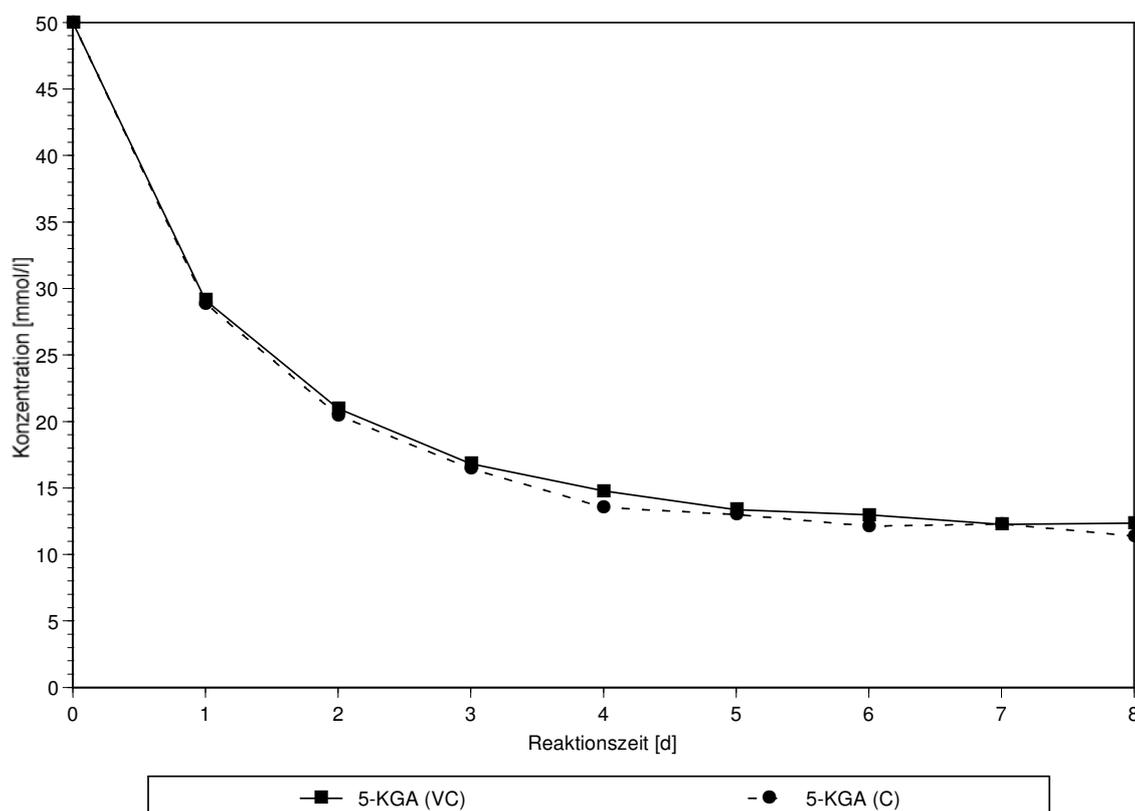


Abbildung 25: Vergleich der inerten Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) in Carbonatpuffer (0,44 mol/l, pH 10), mit und ohne Vanadat (1 mmol/l).

Die Restkonzentration der 5-Ketogluconsäure nach achttägiger inerter Umsetzung liegt mit etwa 12 mmol/l deutlich höher als die rund 3 mmol/l bei der Umsetzung an Luft. Lässt man die Reaktionslösung nach der inerten Umsetzung an Luft weiter reagieren, kann man nach einem Tag die Bildung von Weinsäure, Glycolsäure und Oxalsäure feststellen. Dabei wer-

den innerhalb des ersten Tages an Luft 5 mmol/l 5-Ketogluconsäure zusätzlich zum Verbrauch unter Inertgas verbraucht. Im gleichen Zeitraum werden aber 10 mmol/l Weinsäure, 11 mmol/l Glycolsäure und 6 mmol/l Oxalsäure gebildet (Abbildung 26). Es werden also wesentlich größere Mengen der Produkte gebildet als an weiterer 5-Ketogluconsäure verbraucht worden ist.

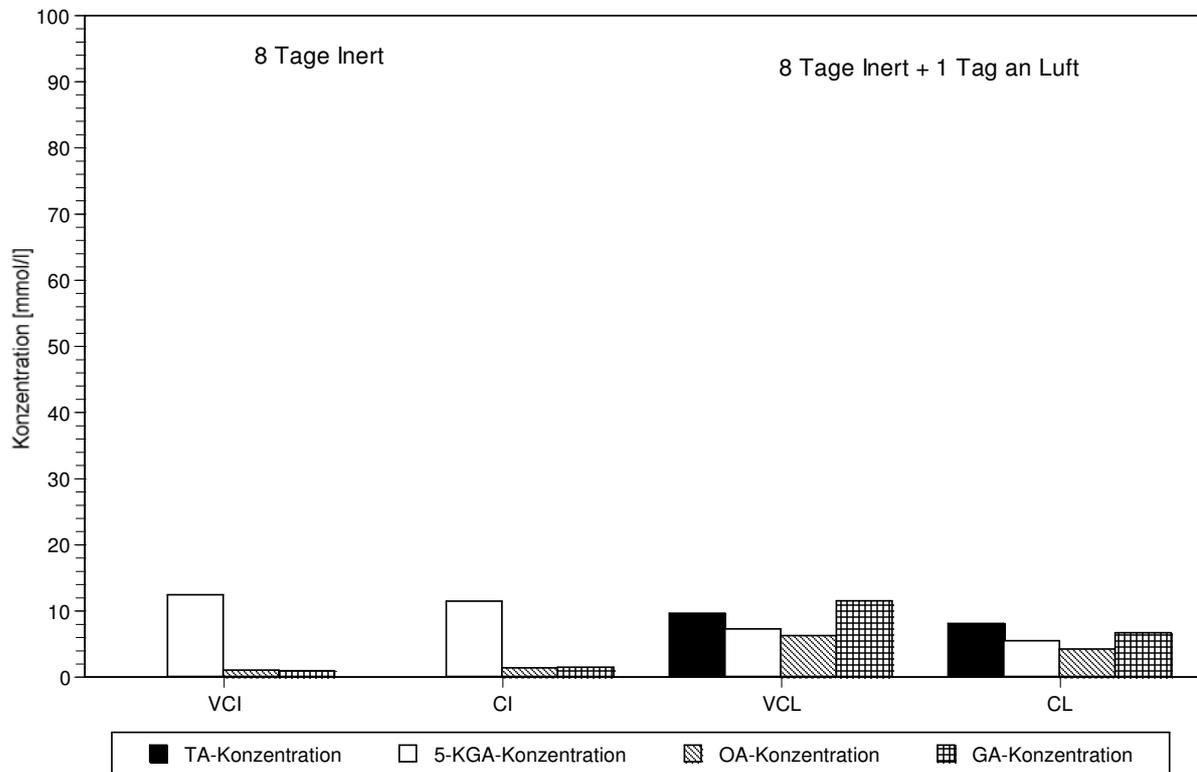


Abbildung 26: Ergebnisse der Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure (50 mmol/l) unter Sauerstoffausschluss und anschließender Zufuhr von Sauerstoff (V = mit Vanadat (1 mmol/l), C = Carbonatpuffer (0,44 mol/l, pH 10), I = nach acht Tagen Inert, L = einen Tag an Luft).

Das bedeutet, dass die während der Inertumsetzung abgebaute 5-Ketogluconsäure zu einem Zwischenprodukt umgesetzt worden ist, aus dem bei Zugabe von Luft durch Oxidation die üblichen Produkte, d.h. Weinsäure, Glycolsäure und Oxalsäure, gebildet werden.

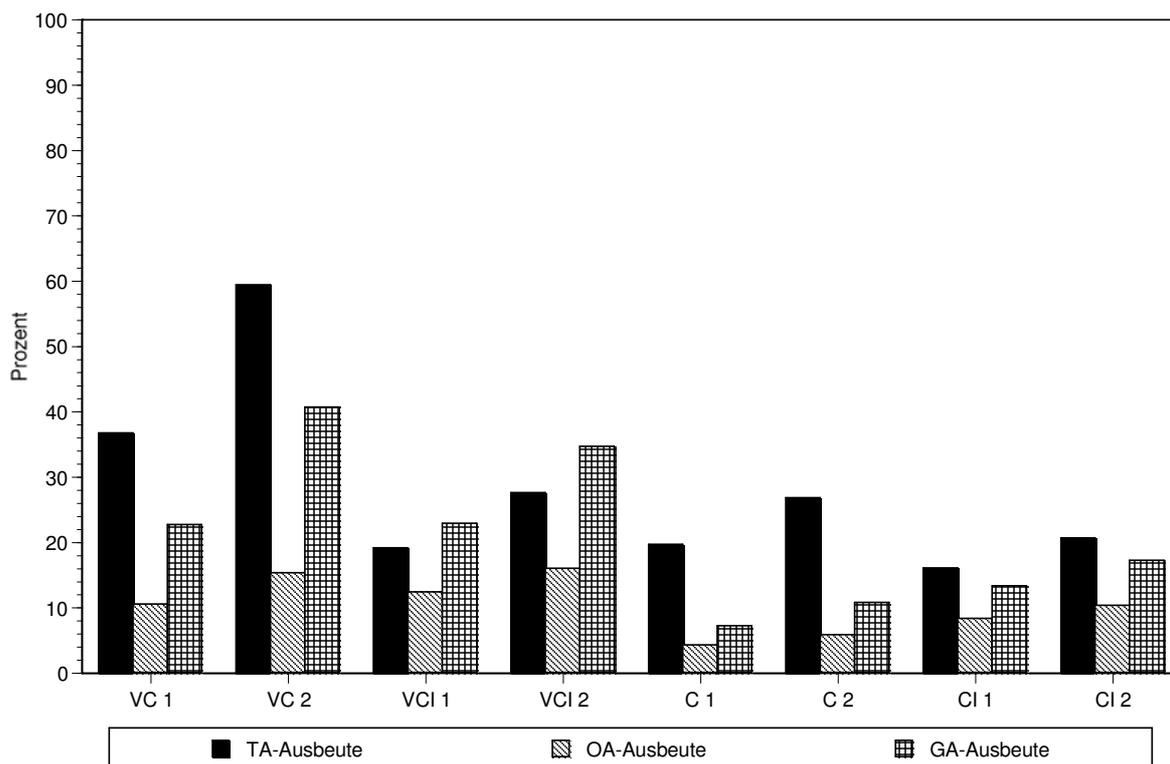


Abbildung 27: Vergleich der Ausbeuten bei 2 tägiger Umsetzung an Luft und 2 tägiger Umsetzung an Luft nach 8 tägiger inerte Reaktion. (V = mit Vanadat (1 mmol/l), P = Carbonatpuffer (0,44 mol/l, pH 10), I = 8 Tage Inert + Luft, Nummer = Anzahl Tage an Luft).

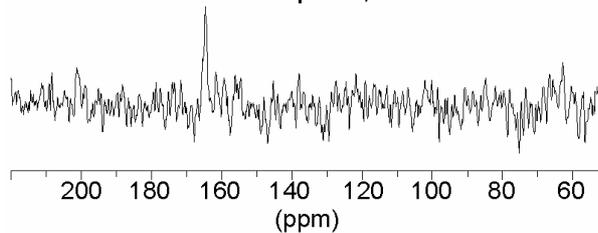
2.3 Spektroskopische Untersuchungen

2.3.1 Wechselwirkung von Vanadat mit Carbonat

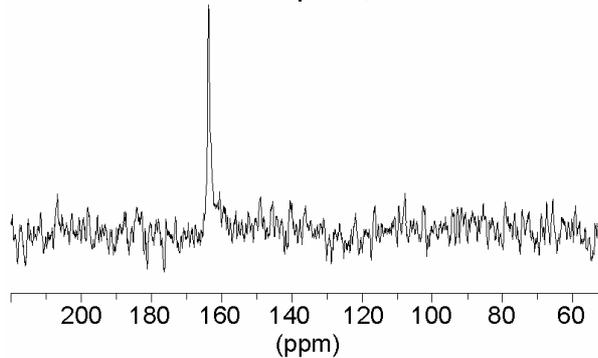
Es gibt zwei Möglichkeiten, wie die beiden Oxoanionen Carbonat und Phosphat die Vanadat-katalysierte Umsetzung der 5-Ketogluconsäure beeinflussen können. Zum einen kann es zu einer Reaktion zwischen dem Oxoanion und der 5-Ketogluconsäure kommen. Oder aber die Oxoanionen reagieren mit dem Vanadat.

Um die Möglichkeit einer Reaktion zwischen dem Carbonat und dem Vanadat zu untersuchen, wurden ^{13}C -NMR-Spektren von einer Carbonatlösung in Gegenwart von verschiedenen Konzentrationen an Vanadat aufgenommen. Die Konzentration des Kaliumhydrogencarbonats liegt bei allen Versuchen bei 0,20 mol/l und die Konzentration des Vanadats wird zwischen 0 und 0,40 mol/l variiert.

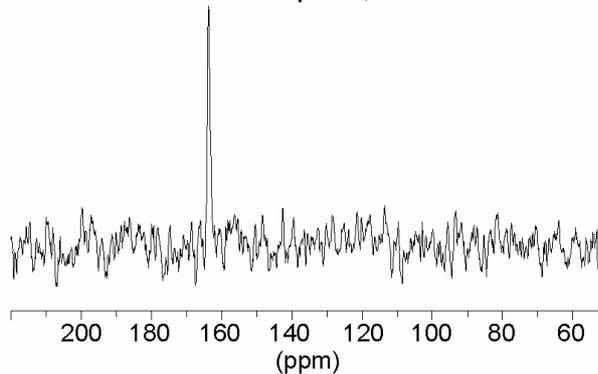
400 mmol/l Vanadat pH 8,5



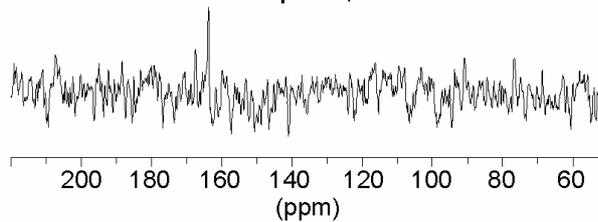
200 mmol/l Vanadat pH 8,4



100 mmol/l Vanadat pH 8,5



10 mmol/l Vanadat pH 8,9



ohne Vanadat pH 8,4

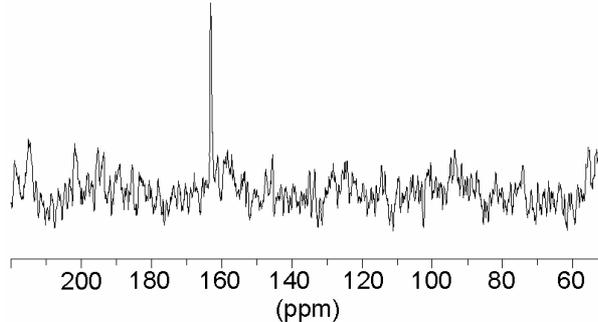


Abbildung 28: ^{13}C -NMR-Spektren von Carbonat in Gegenwart von Vanadat unterschiedlicher Konzentration.

Es ist keine Beeinflussung des Carbonats nachweisbar. Die geringe Differenz der chemischen Verschiebung von 163,0 ppm ohne Vanadat zu 165,1 ppm mit 0,40 mol/l ist angesichts der starken Änderung der Suszeptibilität der Lösung als Folge der Vanadat-Zugabe nicht signifikant.

2.3.2 Einfluss von Carbonat auf die Beständigkeit von 5-Ketogluconsäure bei pH 10

Wie oben (Kapitel 2.3.1) bereits erwähnt, besteht die Möglichkeit einer Reaktion des Carbonats mit der 5-Ketogluconsäure. Zur Untersuchung dieser Möglichkeit wurden ^{13}C -NMR-Spektren einer carbonatfreien und einer carbonathaltigen Lösung (1,00 mol/l) von 5-Ketogluconsäure bei pH 10 miteinander verglichen.

5-Ketogluconsäure liegt in wässriger Lösung in drei tautomeren Formen vor, der α -furanoiden, der β -furanoiden und der offenkettigen Form (Abbildung 29) [9][14]. Diese drei Tautomeren stehen miteinander in einem Gleichgewicht, welches auf der NMR-Zeitskala langsam genug ist, um alle drei Formen voneinander unterscheiden zu können.

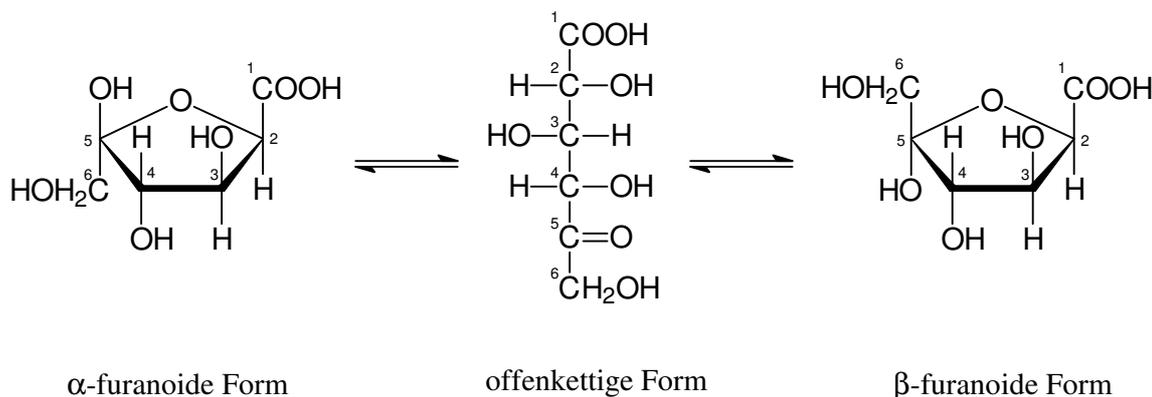


Abbildung 29: Die drei Tautomeren der 5-Ketogluconsäure in wässriger Lösung [9][14].

Das Spektrum ohne Carbonat zeigt das bei pH 10 zu erwartende Bild für 5-Ketogluconsäure [9][14]. Es sind keine Anzeichen einer Zersetzung oder einer Epimerisierung feststellbar.

ohne Carbonat

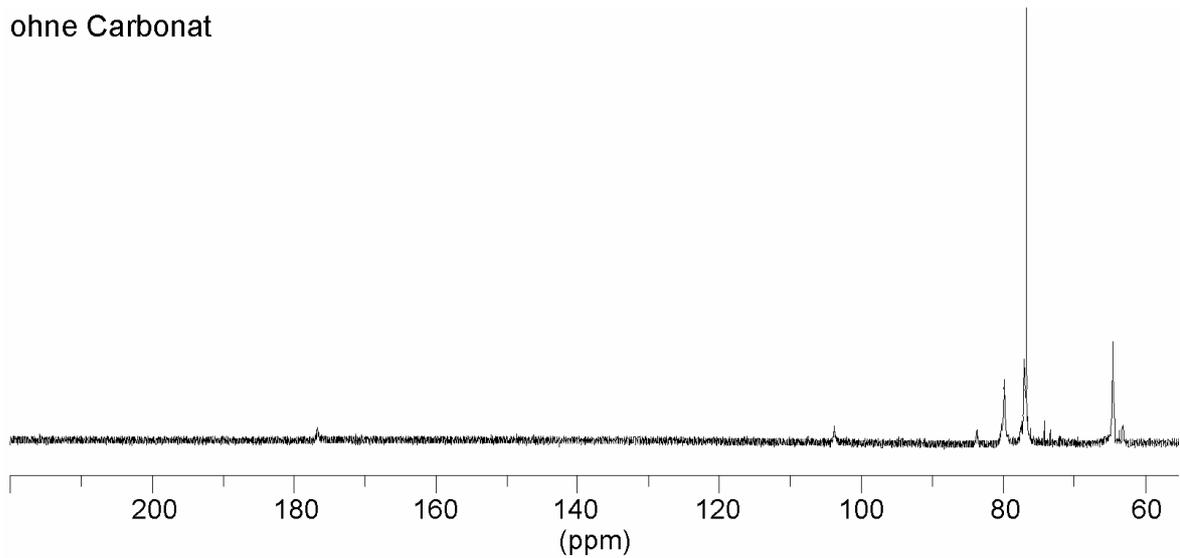


Abbildung 30: ^{13}C -NMR-Spektren von carbonatfreier 5-Ketogluconsäure (0,2 mol/l) bei pH 10.

Die 5-Ketogluconsäure ist also bei pH 10 gegen eine Epimerisierung und einen alkalischen Abbau noch stabil, wenn kein Carbonat in der Lösung vorhanden ist.

Das Spektrum in Gegenwart von Carbonat zeigt dagegen deutliche Anzeichen von Abbauprodukten der 5-Ketogluconsäure. Das intensive Signal bei 165,6 ppm stammt von dem Carbonat.

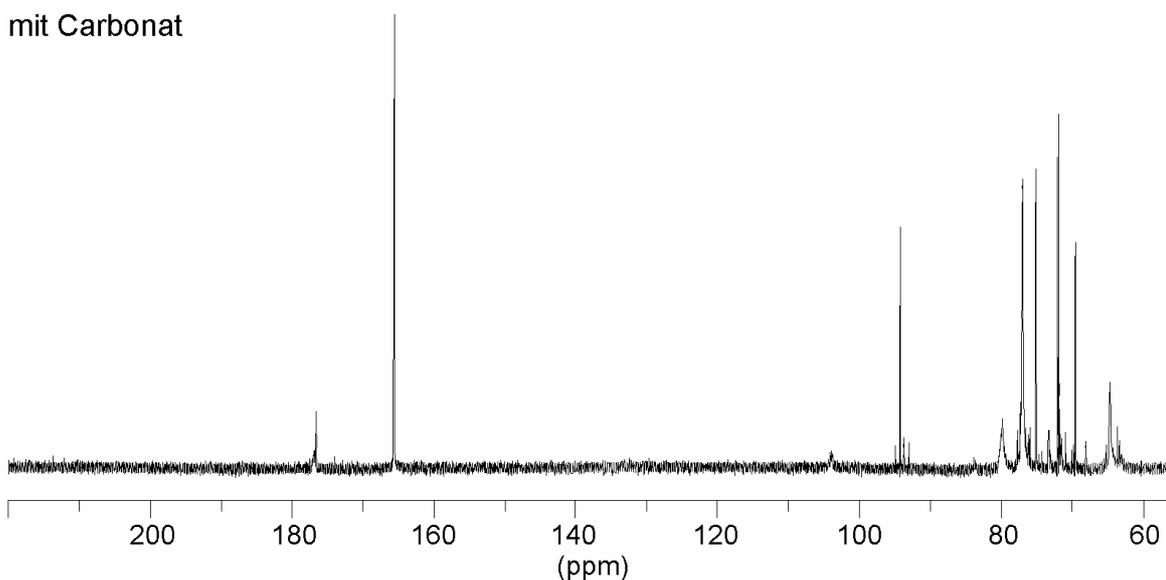


Abbildung 31: ^{13}C -NMR-Spektren von 5-Ketogluconsäure (0,2 mol/l) mit Carbonat (1,0 mol/l) bei pH 10.

Die Gegenwart des Carbonats führt also zu einem schnellen Abbau der 5-Ketogluconsäure. Die Ergebnisse stimmen mit dem Befund aus Kapitel 2.2.3 überein.

2.3.3 Einfluss von Phosphat, Arsenat und Carbonat auf die Bildung von Methanol-Vanadat-Estern

Vanadat bildet in wässriger Lösung mit vielen Alkoholen unter Wasserabspaltung Ester [19][20]. Am Beispiel des Methanol-Vanadat-Esters konnte von Tracey und Gresser gezeigt werden, dass die Gegenwart von Phosphat zu einer starken Beschleunigung dieser Veresterung führt [62]. Dabei werden die Veresterung und die Verseifung gleichermaßen beschleunigt. Es ist wahrscheinlich, dass eine ähnliche Veresterung auch bei der Oxidation der Weinsäure durch das Vanadat beteiligt ist, wie sie in Gegenwart von Phosphat und Arsenat beobachtet wird.

Da Arsenat mit Phosphat vergleichbare Ergebnisse bei der Oxidation von 5-Ketogluconsäure liefert, müsste auch dort eine solche Beschleunigung zu erwarten sein. Außerdem stellt sich die Frage, was in Gegenwart von Carbonat passiert? Daher wurden ^{51}V -NMR-Spektren von Vanadat mit Phosphat, Arsenat und Carbonat sowohl mit als auch ohne Methanol aufgenommen und miteinander verglichen.

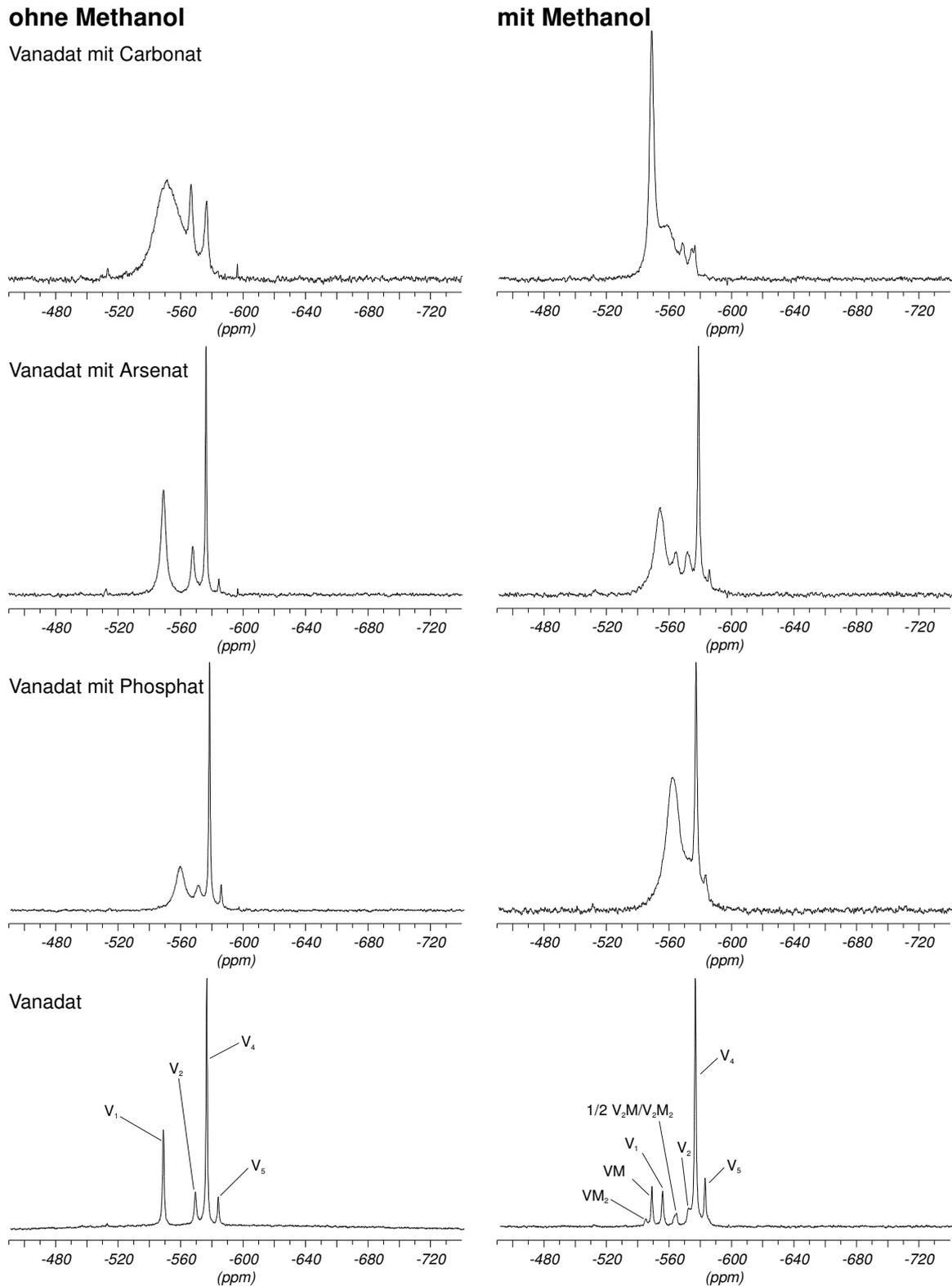


Abbildung 32: ^{51}V -NMR-Spektren von Vanadat (4 mmol/l) ohne und mit Methanol (7,4 mol/l), sowie die gleichen Spektren in Gegenwart von Phosphat, Arsenat und Carbonat (alle 150 mmol/l) bei pH 8 - 9. Zuordnungen entsprechend [51] [62].

2.3.3.1 Einfluss von Arsenat, Phosphat bzw. Carbonat ohne Methanol

Mit Arsenat erfolgt lediglich eine geringe Verbreiterung des Signals für V_1 (Monovanadat), zurückzuführen auf die Beteiligung eines gemischten Anhydrids (VAs) aus Vanadat und Arsenat im Gleichgewicht mit V_1 und eventuell auch V_2 (Divanadat) [51].

Mit Phosphat ist dieser Effekt stärker ausgeprägt und manifestiert sich nicht nur in einer Verbreiterung der Signale für die Gleichgewichte $VP \rightleftharpoons V_1 + P$ sowie $VP \rightleftharpoons V_2 + P$ (VP = gemischtes Anhydrid aus Vanadat und Phosphat, P = Phosphat), sondern auch in einer Hochfeldverschiebung des Signals für $VP \rightleftharpoons V_1 + P$ gegenüber dem von unbeeinflusstem V_1 [51].

Im Fall von Carbonat zeigt das stark verbreiterte Signal bei -552 ppm und die gleichzeitige starke Abnahme des Signals für V_4 (Tetranvanadat) die Bildung eines Carbonatokomplexes des Vanadiums an. Über die Struktur des vermutlichen Vanadat-Carbonat-Anhydrids lassen sich keine Aussagen treffen. Man kennt bisher keine Vanadat-Carbonat-Anhydride. Die einzige bisher bekannte Verbindung zwischen Carbonat und Vanadat ist das von P. Schwendt et al. erstmals synthetisierte Carbonatooxodiperoxovanadat [57].

2.3.3.2 Einfluss von Methanol

Das dominierende breite Signal beim Vanadat/Arsenat/Methanol-System bei tiefem Feld setzt sich hier aus einem Gleichgewicht $VAs \rightleftharpoons VM/VM_2 \rightleftharpoons V_1$ ($As \rightleftharpoons AsM \rightleftharpoons VAsM$) zusammen (M = Methanolat). V_2M/V_2M_2 ist offenbar nicht involviert [51].

Beim Vanadat/Phosphat/Methanol-System manifestiert sich die gegenüber Arsenat stärkere Wechselwirkung des Phosphats mit dem Vanadat auch hier in einer stärkeren Verbreiterung und Hochfeldverschiebung für das komplexe Gesamtgleichgewicht. V_2M/V_2M_2 scheint aber auch hier nicht beteiligt zu sein [51].

Das Entscheidende an dem Vanadat/Carbonat/Methanol-System ist wieder das weitgehende Verschwinden des Signals für V_4 , ein Umstand, der auf einen vergleichsweise stabilen Carbonatokomplex des Vanadiums hinweist. Die Position des dominierenden Signals bleibt erhalten; es wird aber wesentlich schärfer. Das bedeutet offenbar, dass der Komplex durch zusätzliche Veresterung mit Methanol "symmetrischer" im Vergleich zum Methanol-freien Komplex wird. Es könnte sich um einen Carbonatokomplex eines einkernigen Vanadatesters, oktaedrische Koordinationsgeometrie mit angenäherter C_{3v} -Symmetrie, handeln [51]. Ein solcher Carbonatokomplex aus Vanadat, Methanol und Carbonat könnte eine Struktur aufweisen wie in Abbildung 33 dargestellt: Methanolat, Hydroxyl und einfach

gebundener Sauerstoff bilden einen pseudo-identischen Ligandensatz und die doppelt gebundene Oxo-Gruppe zusammen mit dem Hydrogencarbonat den anderen, so dass man einen pseudo-*fac*-oktaedrischen Komplex erhält [51].

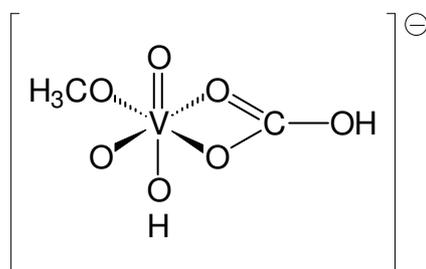


Abbildung 33: Vorschlag für einen Komplex aus Vanadat, Methanol und Carbonat mit angenäherter C_{3v} -Symmetrie[51].

Aus diesen NMR-Experimenten kann man Rückschlüsse auf die Oxidation von 5-Ketogluconsäure ziehen. Das geringe Ausmaß der Weiteroxidation von Weinsäure zu Oxalsäure in Carbonatpuffer scheint darauf zurückzuführen zu sein, dass der Carbonatkomplex diese Reaktion weitaus schlechter katalysiert als der Phosphatkomplex.

2.3.4 Einfluss von Phosphat auf die Oligovanadat-Gleichgewichte

Vanadat bildet in wässriger Lösung eine ganze Reihe von Oligovanadaten, die man auch als Isopolysäuren bezeichnet. Dabei ist die Art und Verteilung der verschiedenen Spezies stark von der Gesamtkonzentration des Vanadats und dem pH-Wert der Lösung abhängig. Das Verteilungsdiagramm für eine Gesamtkonzentration an Vanadat von 1,25 mmol/l der verschiedenen Oligovanadate als Funktion des pH-Werts zeigt Abbildung 34.

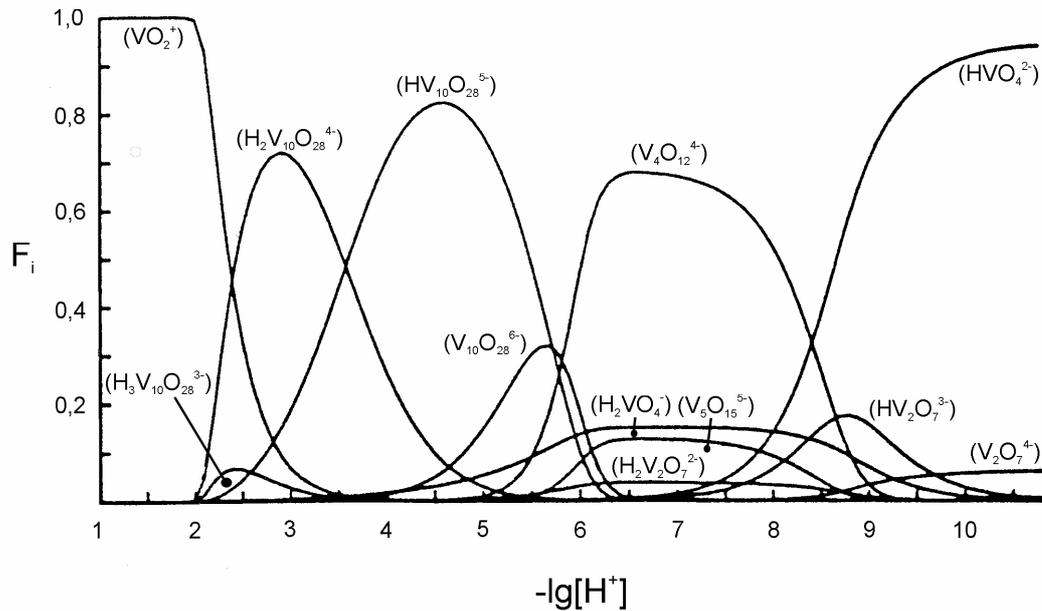


Abbildung 34: Verteilungsdiagramm $F_i(-\lg[H^*])$ für eine Gesamtkonzentration an Vanadium von 1,25 mmol/l [47]. F_i ist als Verhältnis zwischen Vanadium in einer Spezies zu Gesamtkonzentration an Vanadium definiert.

Phosphat wiederum bildet mit Vanadat leicht so genannte Heteropolyvanadate [45]. Solche phosphathaltigen Heteropolyvanadate besitzen als so genannte V-P-O-Katalysatoren in der organischen Chemie seit langem große Bedeutung. Sie werden z.B. bei der Maleinsäureanhydrid-Darstellung eingesetzt [42][40][41][56]. Oft lassen sich diese Verbindungen schon durch einfaches Zusammengeben von Phosphorsäure und Vanadaten im gewünschten stöchiometrischen Verhältnis darstellen. Da diese Verbindungen in der Regel schwerlöslich sind, werden sie als heterogene Katalysatoren eingesetzt. Aber auch in wässriger Lösung reagieren Vanadat und Phosphat unter Bildung eines gemischten Anhydrids miteinander [21].

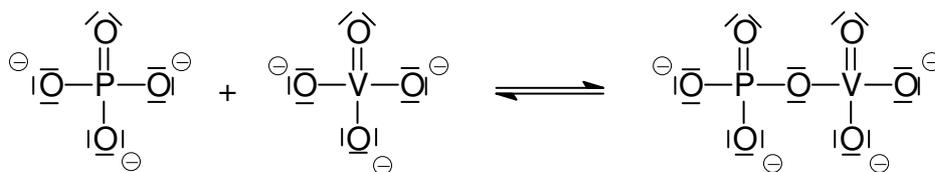


Abbildung 35: Bildung eines gemischten Anhydrids aus Phosphat und Vanadat [21]

Es ist daher wahrscheinlich, dass eine Rolle des Phosphats bei der Umsetzung der 5-Ketogluconsäure auf eine Beeinflussung des Vanadium-Katalysators zurückzuführen ist. Ein Effekt des Phosphats könnte die Beeinflussung der Oligovanadat-Gleichgewichte sein, die sich in Abhängigkeit von der Vanadat-Konzentration und dem pH-Wert in wässriger Lösung einstellen [47][50].

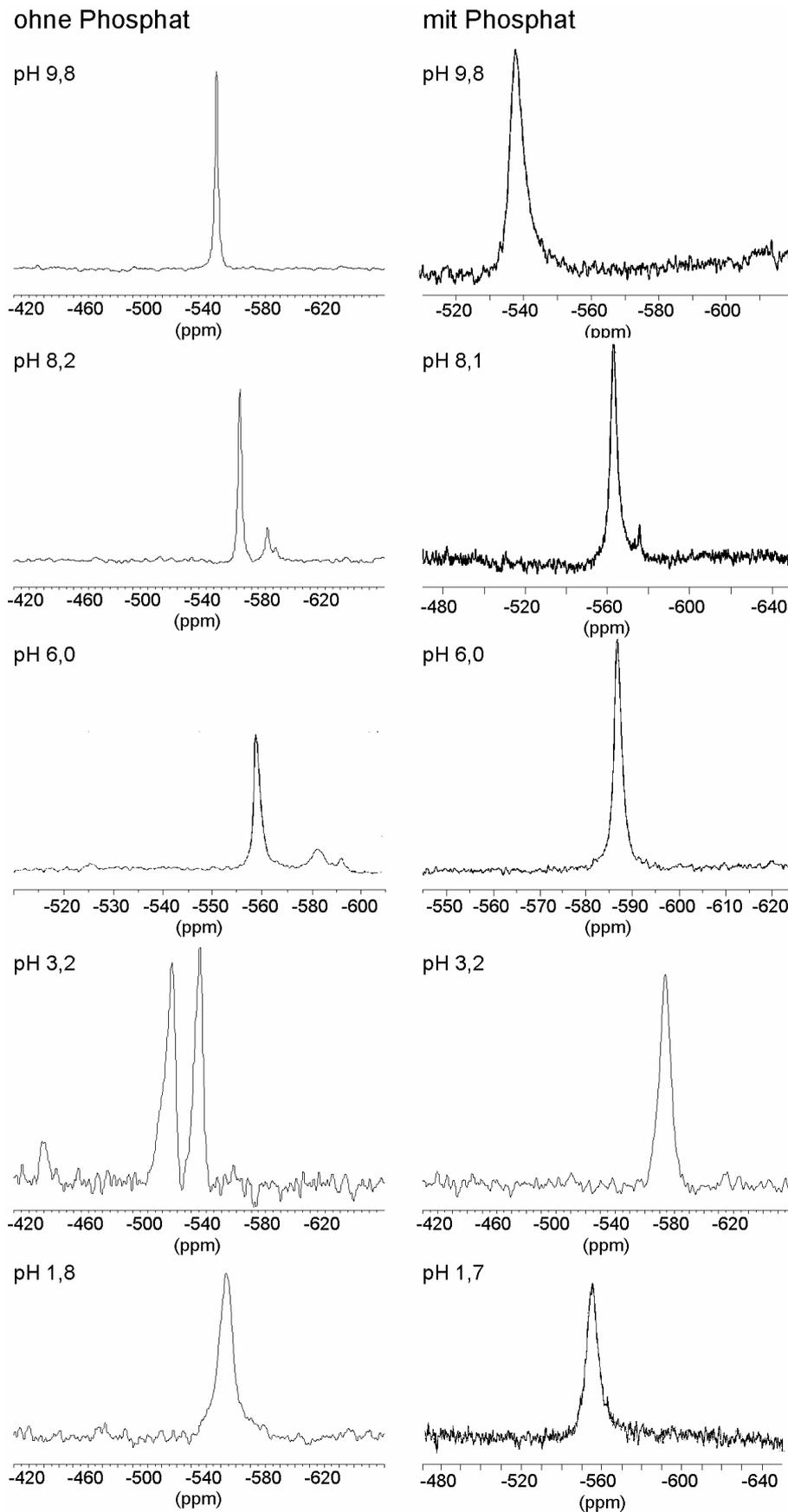


Abbildung 36: ^{51}V -NMR-Spektren ohne und mit Phosphat bei verschiedenen pH-Werten
(Vanadat-Konz. = 1,0 mmol/l, Phosphat-Konz. = 200 mmol/l).

In phosphatfreier wässriger Lösung liegt bei pH 1,8 VO_2^+ und bei pH 3,2 Dekavanadat $\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{4-}$ vor. Dekavanadat ist in seinen verschiedenen Protonierungsstufen zwischen pH 2 und pH 6 die thermodynamisch stabile Vanadatspezies.

Gresser et al. haben das Vorhandensein eines gemischten Vanadat-Phosphat-Anhydrids für pH 7 - 8 wahrscheinlich gemacht [21]. In Übereinstimmung damit zeigt ein bei pH 6,0 aufgenommenes ^{51}V -NMR-Spektrum einer phosphathaltigen Vanadat-Lösung das Vorhandensein dieses gemischten Anhydrids mit einer chemischen Verschiebung von -587 ppm. Auch das bei pH 8,1 aufgenommene Spektrum zeigt bei -576 ppm ein Signal, welches diesem Anhydrid zugeordnet werden kann [51]. Aber eine Beeinflussung des Vanadats durch das Phosphat ist über fast den gesamten pH-Bereich von pH 1,8 bis pH 8,1 feststellbar. In Gegenwart von Phosphat zeigt das bei pH 3,2 aufgenommene Spektrum statt der Signale für Dekavanadat nur ein deutlich tieffeldverschoben liegendes Signal bei -564 ppm, welches wahrscheinlich ebenfalls einem Phosphato-vanadat zuzuordnen ist [51]. Es ist allerdings bisher nichts über dessen genaue Zusammensetzung bekannt. Aufgrund des Phosphat-Überschusses kann man ein 1:1 Phosphato-vanadat erwarten.

Der Einfluss des Phosphats scheint sich also auf einen größeren pH-Bereich als bisher angenommen zu erstrecken. Dabei wird die Bildung der höher aggregierten Oligovanadate, wie z.B. Dekavanadat, unterdrückt. Dadurch wird die Konzentration an katalytisch aktivem Vanadat bei saurem bis neutralem pH deutlich erhöht.

2.4 Mechanistische Betrachtungen

2.4.1 Vorschlag für einen Mechanismus der 5-Ketogluconsäure-Spaltung

Bei den Betrachtungen zum Mechanismus der Umsetzung muss man zwischen den Umsetzungen bei saurem bzw. neutralem pH-Wert und denen in alkalischem Milieu unterscheiden. Bei saurem und neutralem pH-Wert findet in Abwesenheit des Vanadium-Katalysators kein Abbau der 5-Ketogluconsäure statt. In Gegenwart von Vanadat, aber ohne Phosphat, verläuft die Reaktion nur sehr langsam. Daher muss die Reaktion in saurem und neutralem pH-Bereich sowohl Phosphat- als auch Vanadat-abhängig sein.

In jedem Fall wird der erste Schritt der Umsetzung die Spaltung der 5-Ketogluconsäure sein. Die Untersuchungen unter Inertbedingungen (siehe Kapitel 2.2) haben gezeigt, dass die Spaltung der 5-Ketogluconsäure in alkalischer Lösung bei pH = 10 sowohl von der Gegenwart von Sauerstoff als auch von der Gegenwart des Vanadats unabhängig ist. Das Va-

natat spielt also unter diesen Reaktionsbedingungen bei der Spaltung nur eine untergeordnete Rolle. Seine Hauptaufgabe besteht offenbar vielmehr darin, die Oxidation der primären Spaltungsprodukte zu katalysieren. Da es auch in Abwesenheit des Katalysators zur Bildung der Oxidationsprodukte kommt, müssen diese Spaltungsprodukte aber auch durch Luftsauerstoff ohne Katalysator oxidiert werden können. Diese Oxidation durch Luft erfolgt allerdings langsamer als die Vanadat-katalysierte Oxidation.

Der nicht vollständige Abbau der 5-Ketogluconsäure unter Sauerstoffausschluss könnte auf eine reversible Spaltung zurückzuführen sein, bei der sich ein Gleichgewicht zwischen der 5-Ketogluconsäure und den Spaltungsprodukten einstellt. Eine solche Gleichgewichtseinstellung wäre an Luft nicht möglich, da die irreversible Oxidation der Spaltungsprodukte diese ständig aus dem Gleichgewicht entfernen würde.

Wenn man eine Probe nach achttägiger inerte Umsetzung einen Tag an Luft weiter umsetzt, werden die gleichen Oxidationsprodukte (Weinsäure, Oxalsäure und Glycolsäure) gebildet, wie dies bei einer normalen Umsetzung an Luft der Fall ist. Die beim inerten Abbau der 5-Ketogluconsäure gebildeten Produkte sind also sehr wahrscheinlich Vorstufen der Oxidationsprodukte Weinsäure, Oxalsäure und Glycolsäure.

Ein Abbau der 5-Ketogluconsäure ohne die Beteiligung von Sauerstoff wäre z.B. die Spaltung zwischen den Kohlenstoffatomen 4 und 5, unter Komproportionierung der Oxidationsstufen der beiden beteiligten Kohlenstoffatome (Abbildung 37). In der 5-Ketogluconsäure besitzt das Kohlenstoffatom C4 die formale Oxidationsstufe +II und das Kohlenstoffatom C5 die formale Oxidationsstufe ± 0 . Bei einer Bildung von zwei Aldehyden gemäß Abbildung 37 würden beide Atome die formale Oxidationsstufe +I erhalten.

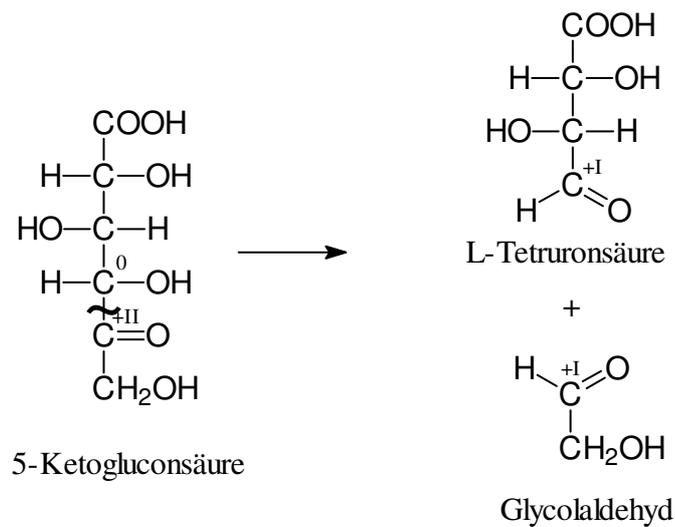


Abbildung 37: Schema der Spaltung von 5-Ketogluconsäure zwischen C4 und C5 unter Komproportionierung der beteiligten Kohlenstoffatome.

Die bei einer solchen Spaltung gebildeten Produkte wären L-Tetruronsäure und Glycolaldehyd. L-Tetruronsäure wird in den jungen Blättern vieler höherer Pflanzen zu Weinsäure umgewandelt [53].

Da Aldehyde durch Luft zu den Carbonsäuren oxidiert werden können, erfüllen diese Produkte auch die Voraussetzung einer Vanadat-unabhängigen Oxidierbarkeit.

Die hier verwendeten Oxoanionen Phosphat und Carbonat führen im alkalischen Milieu wahrscheinlich durch einen nucleophilen Angriff auf die Carbonylfunktion der 5-Ketogluconsäure zur Spaltung. Die Spaltung ist dabei, zumindest im Fall des Carbonats, von der Konzentration des Oxoanions abhängig (Kapitel 2.1.4.2). Das Hydroxidion ist sicherlich ein besseres Nucleophil als diese Oxoanionen, aber selbst bei pH 10 beträgt die Hydroxidkonzentration in der Lösung nur 10^{-4} mol/l und ist damit 4000-mal geringer als die Konzentration des Puffers von 0,44 mol/l. Da die 5-Ketogluconsäure aber bei pH-Werten > 10 nicht mehr gegen eine Epimerisierung bzw. einen unspezifischen Abbau, wie man dies häufig bei Kohlenhydraten und deren Derivaten findet, stabil ist [9], ist eine Untersuchung bei höheren Hydroxidionen-Konzentration nicht möglich.

Die 5-Ketogluconsäure kann man formal, ähnlich wie Benzoin, als ein α -Hydroxy-Keton oder Acyloin auffassen.

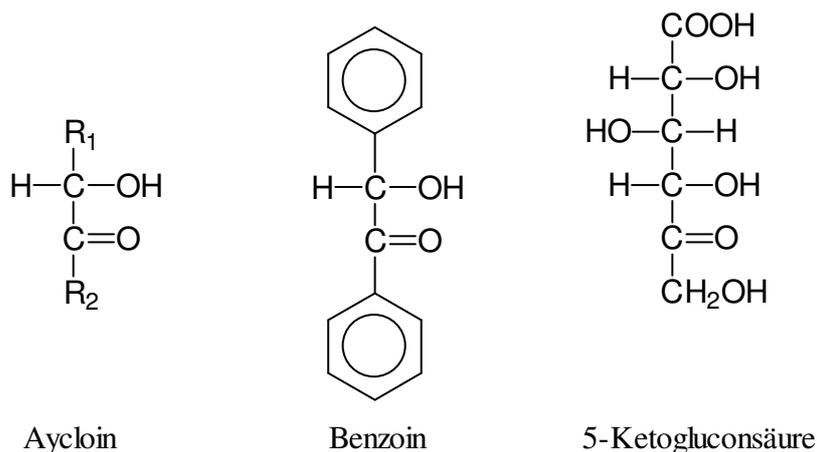


Abbildung 38: Gegenüberstellung von 5-Ketogluconsäure, Acyloin und Benzoin.

Bei der Benzoin-Kondensation verbinden sich zwei aromatische Aldehyde unter der katalytischen Wirkung von Cyanid zu einem Benzoin [32]. Dabei ist die Reaktion vollständig reversibel [6][7]. Ihre Umkehrung wird als Retro-Benzoin-Kondensation bezeichnet. Die Kondensation ist aber nicht auf aromatische Aldehyde beschränkt. Bei Verwendung von Thiazoliumsalzen statt Cyanid ist es auch möglich, aus aliphatischen Aldehyden gemischte Acyloine darzustellen [58][59].

Den Mechanismus einer reversiblen Spaltung der 5-Ketogluconsäure, die zu L-Tetruronsäure und Glycolsäure führt, könnte man sich analog einer solchen Retro-Benzoin-Kondensation vorstellen (Abbildung 39).

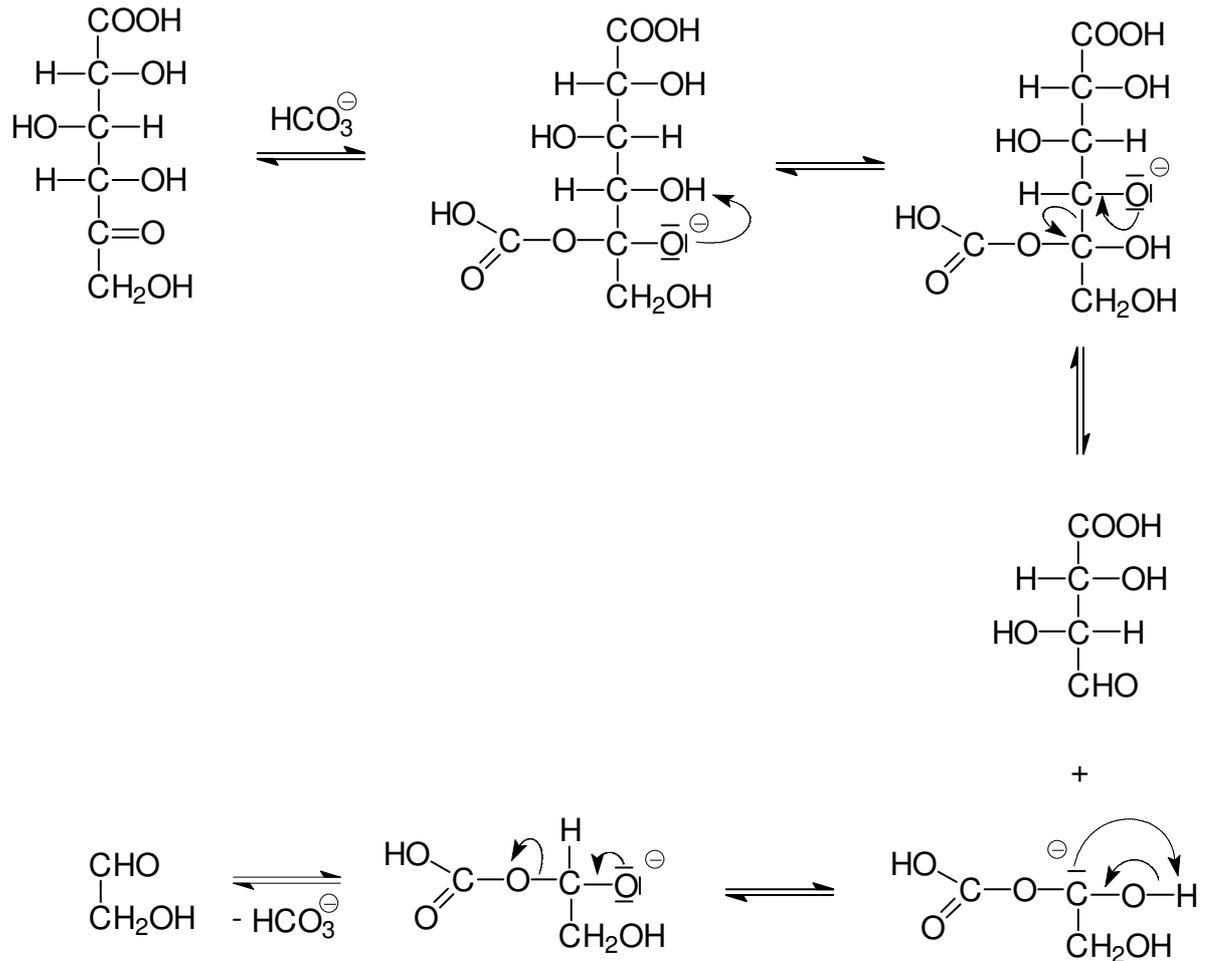


Abbildung 39: Vorschlag für einen Mechanismus der Spaltung von 5-Ketogluconsäure zu Glycolaldehyd und Tetruronsäure

Das Oxoanion, im Beispiel Carbonat, würde im ersten Schritt der Spaltung, analog zum Cyanid, die Carbonylfunktion nucleophil angreifen. Der entscheidende Schritt ist der C-C-Bindungsbruch. Das dabei entstehende Carbanion würde durch Cyanid eine mesomere Stabilisierung erfahren, zu der das Carbonat-Ion oder Phosphat-Ion nicht in der Lage ist (Abbildung 40).

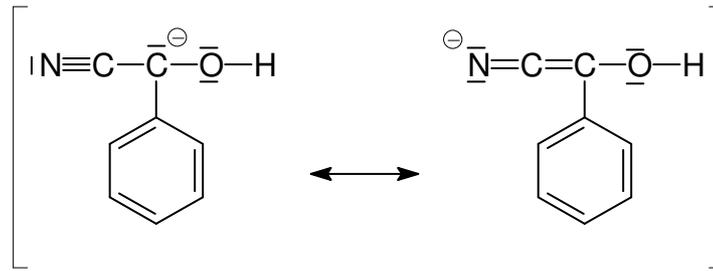


Abbildung 40: Stabilisierung des Carbanions durch mesomere Delokalisierung der negativen Ladung über die Cyanid-Gruppe [5].

Dies ist sicherlich der größte Schwachpunkt des vorgeschlagenen Mechanismus, da ohne eine solche Stabilisierung das postulierte Carbanion wahrscheinlich zu energiereich wäre.

Die Tatsache, dass eine Spaltung durch Phosphat nur bei ausreichend hohem pH-Wert beobachtet wird, wäre bei diesem Mechanismus zu erklären. Sie wäre auf die Nucleophilie des Phosphat-Ions zurückzuführen. Diese nimmt, infolge der zunehmenden Deprotonierung, mit steigendem pH-Wert zu.

2.4.2 Oxidation von Glycolaldehyd

Wenn der vorgeschlagene Mechanismus korrekt ist, muss die Oxidation von Glycolaldehyd zu Glycolsäure und Oxalsäure unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie bei der Oxidation von 5-Ketogluconsäure möglich sein.

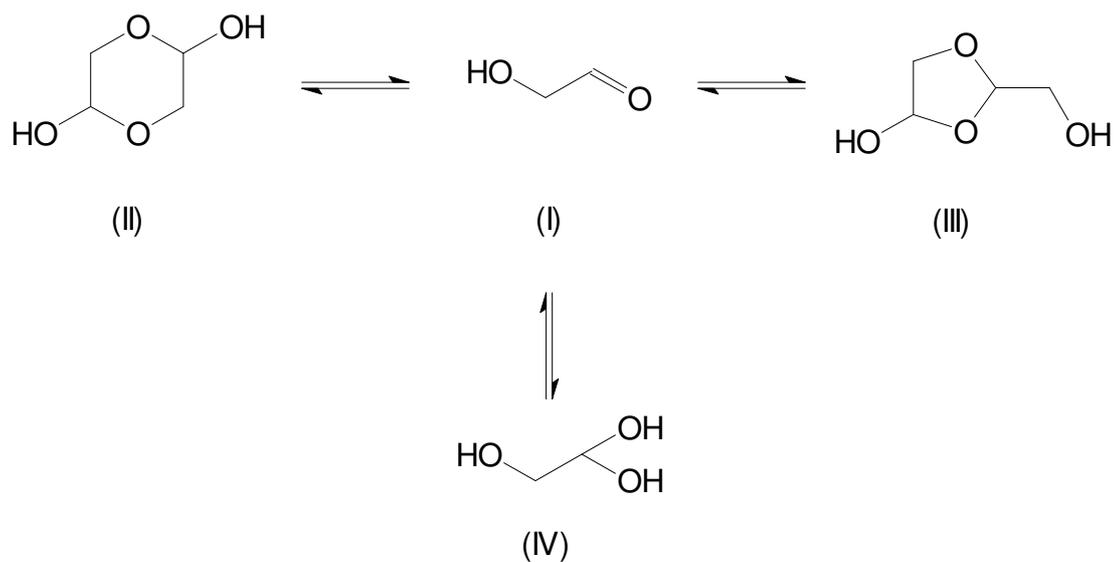


Abbildung 41: Gleichgewicht der verschiedenen in Lösung vorliegenden Glycolaldehyd-Spezies [11].

Daher wurde Glycolaldehyd (50 mmol/l) einen Tag in Gegenwart von Vanadat (1 mmol/l) in Carbonatpuffer (0,44 mol/l) umgesetzt und mittels HPLC untersucht.

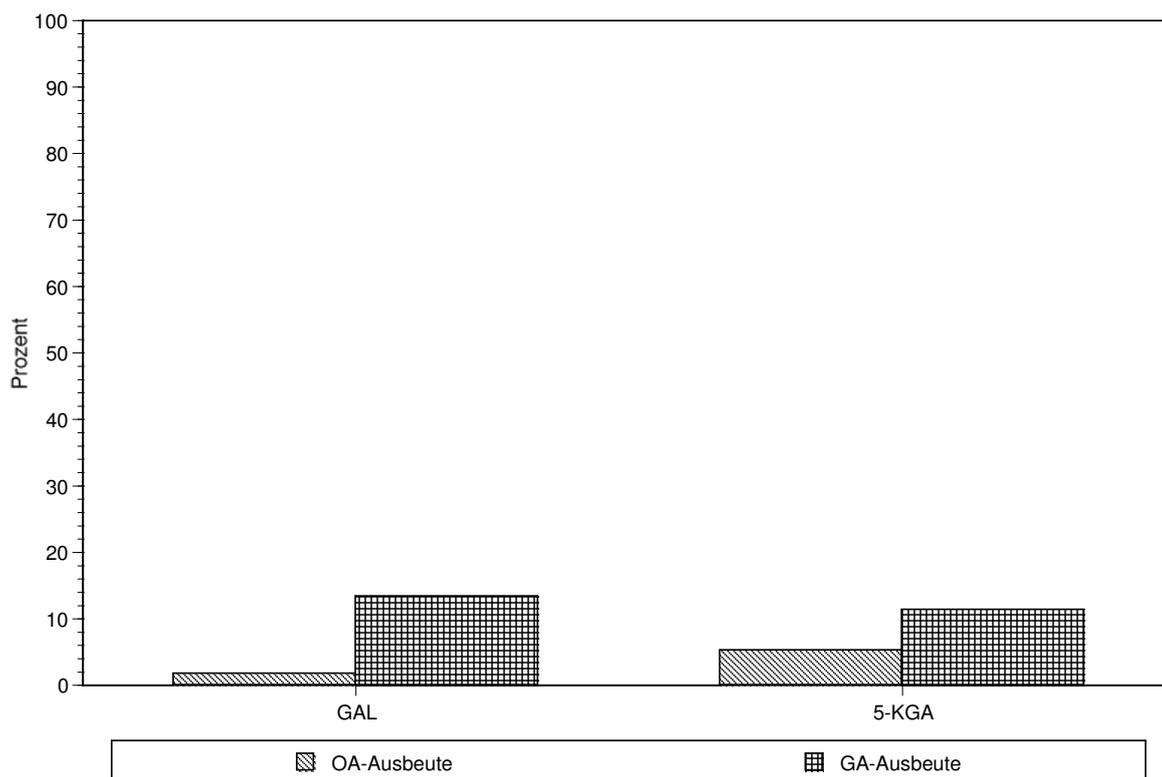


Abbildung 42: Vergleich der Bildung von Oxalsäure und Glycolsäure bei der direkten Oxidation von Glycolaldehyd (GAL) und bei der Oxidation von 5-Ketogluconsäure (5-KGA) nach einem Tag bei 27°C und 180 Upm.

Wie nach dem Mechanismus zu erwarten, werden dabei die gleichen Mengen an Oxalsäure und Glycolsäure gebildet wie bei der Oxidation von 5-Ketogluconsäure. Und genau wie bei der Umsetzung der 5-Ketogluconsäure in Carbonatpuffer wird auch bei der Oxidation des Glycolaldehyds wesentlich mehr Glycolsäure als Oxalsäure gebildet.

2.4.3 Oxidation von (L)-Tetrolse

Nach dem vorgeschlagenen Mechanismus (Kapitel 2.4.1) sollte die Umsetzung prinzipiell auch mit anderen, einfacher gebauten α -Hydroxyketonen funktionieren. Unter den Kohlenhydrat-Derivaten bieten sich die Tetrolsen an, Ketosen mit vier Kohlenstoffatomen. Die beiden Enantiomeren (L)-Tetrolse und (D)-Tetrolse (Abbildung 43) werden in der Literatur auch als (S)-Erythrolse und (R)-Erythrolse bezeichnet.

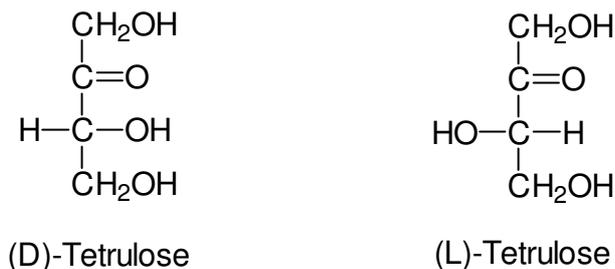


Abbildung 43: Die beiden Enantiomeren der Tetrollose in der Fischer-Projektion.

Die (L)-Tetrollose besitzt an den beteiligten Kohlenstoffatomen die gleiche Konfiguration wie die 5-Ketogluconsäure (Abbildung 44).

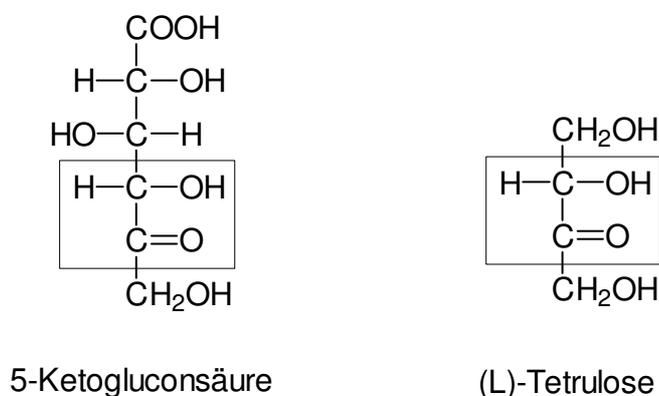


Abbildung 44: Gegenüberstellung von 5-Ketogluconsäure und (L)-Tetrollose bezüglich der Konfiguration der an der Spaltung beteiligten Kohlenstoffatome.

Man kann also von (L)-Tetrollose ein ähnliches Verhalten gegenüber Carbonatpuffer erwarten, wie man es bei der 5-Ketogluconsäure findet.

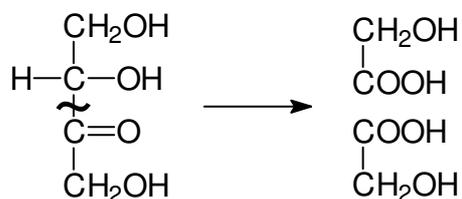


Abbildung 45: Schematische Darstellung der Spaltung von (L)-Tetrollose zu Glycolsäure.

Die (L)-Tetrollose wird unter den gleichen Reaktionsbedingungen an Luft und inert umgesetzt wie die 5-Ketogluconsäure. Um eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Umsetzung der Tetrollose mit denen der Umsetzung der 5-Ketogluconsäure zu gewährleisten, wurde die Ausbeute, die der eingesetzten Menge an Tetrollose entspricht, zu 100 %

definiert. Tatsächlich können aber zwei Mol Glycolsäure aus einem Mol (L)-Tetrulose gebildet werden, wenn man eine der Reaktion von 5-Ketogluconsäure analoge Umsetzung voraussetzt.

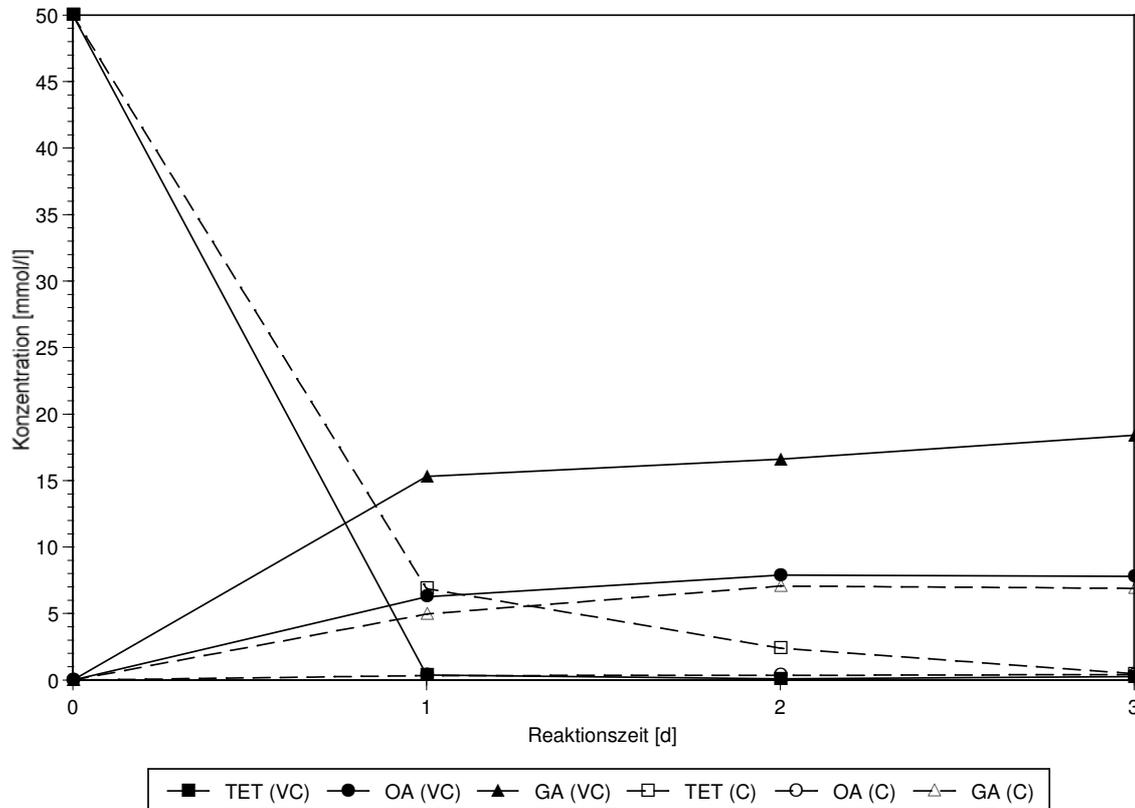


Abbildung 46: Umsetzung von (L)-Tetrulose in Carbonatpuffer pH 8 (0,44 mol/l) mit 1,0 mmol/l Vanadat (durchgezogene Linie) und ohne Vanadat (gestrichelte Linie) an Luft bei 27°C und 180 Upm (V = Vanadat, C = Carbonat).

Bei der Umsetzung in Gegenwart von Vanadat (Abbildung 46) ist bereits nach einem Tag die Reaktion beendet, da die gesamte (L)-Tetrulose verbraucht worden ist. Die Ausbeute an Glycolsäure liegt bei etwa 15 - 20 %.

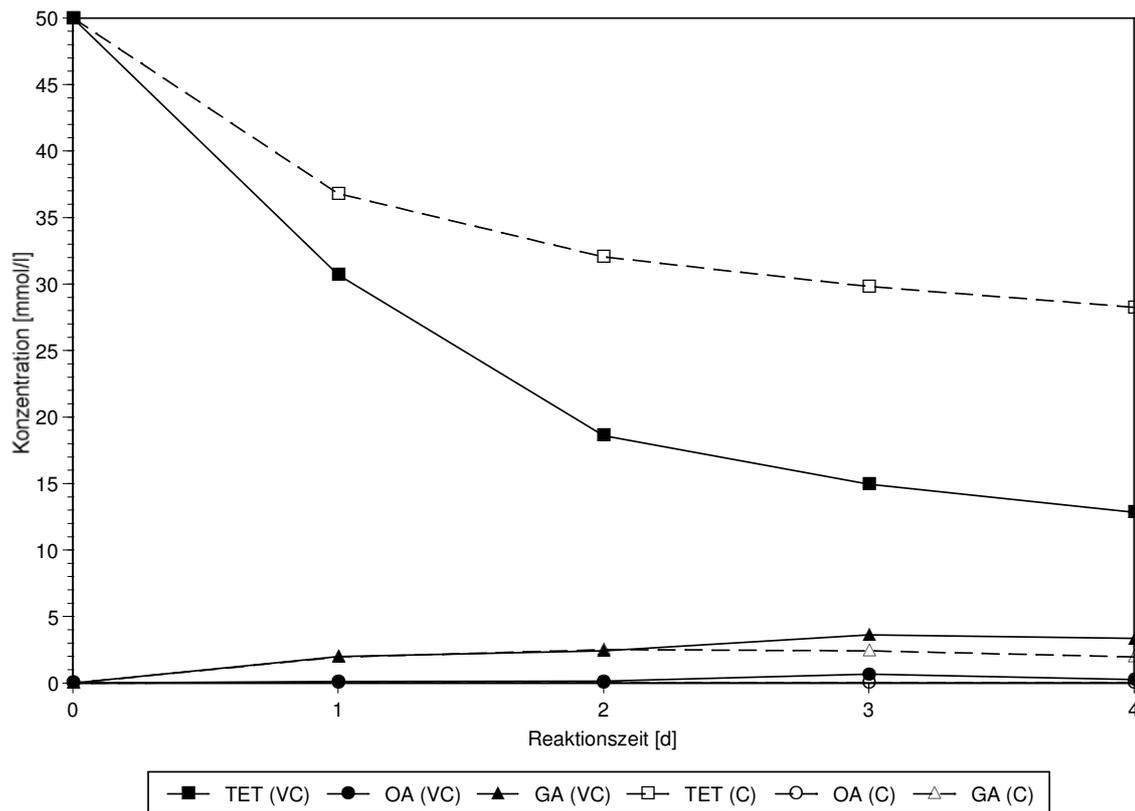


Abbildung 47: Umsetzung von (L)-Tetralose in Carbonatpuffer pH 8 (0,44 mol/l) mit 1,0 mmol/l Vanadat (durchgezogene Linie) und ohne Vanadat (gestrichelte Linie) unter inerten Reaktionsbedingungen bei 20°C (V = Vanadat, C = Carbonat).

Die Umsetzung ohne Vanadat (Abbildung 47) verläuft etwas langsamer, aber auch hier ist nach drei Tagen die gesamte (L)-Tetralose abgebaut.

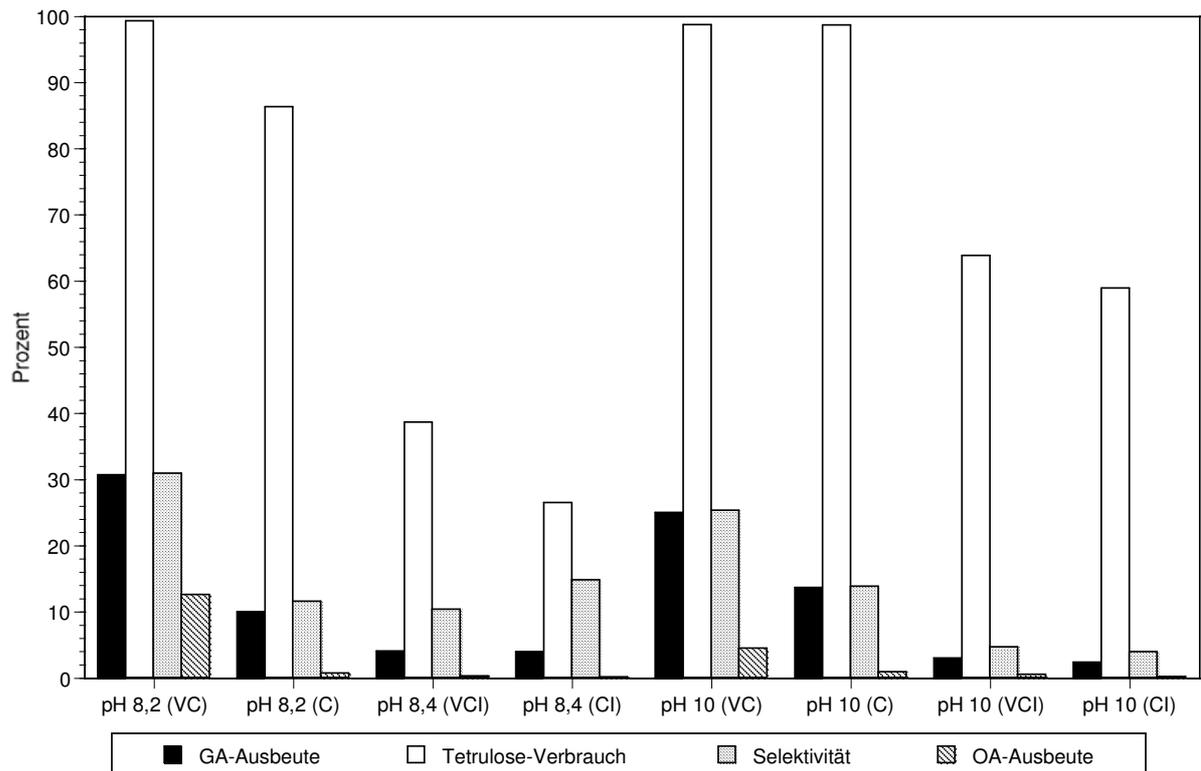


Abbildung 48: Vergleich der Umsetzungen von (L)-Tetrolase (50 mmol/l) an Luft und unter Inertbedingungen ($V = 1$ mmol/l Vanadat, $C =$ Carbonatpuffer, $I =$ Inert).

Wie man Abbildung 48 entnehmen kann, ist, ähnlich wie bei den Umsetzungen der 5-Ketogluconsäure, kein signifikanter Unterschied zwischen den Umsetzungen bei pH 8 und denen bei pH 10 feststellbar.

Wenn man die hier innerhalb eines Tages bei pH 10 erzielten Ergebnisse mit denen vergleicht, die bei Verwendung von 5-Ketogluconsäure erreicht wurden, zeigt sich deutlich die Ähnlichkeit. Nur der Verbrauch der Tetrulose ist mit fast 100 % höher als die etwa 65 % bei Verwendung von 5-Ketogluconsäure. Der Abbau verläuft hier also schneller.

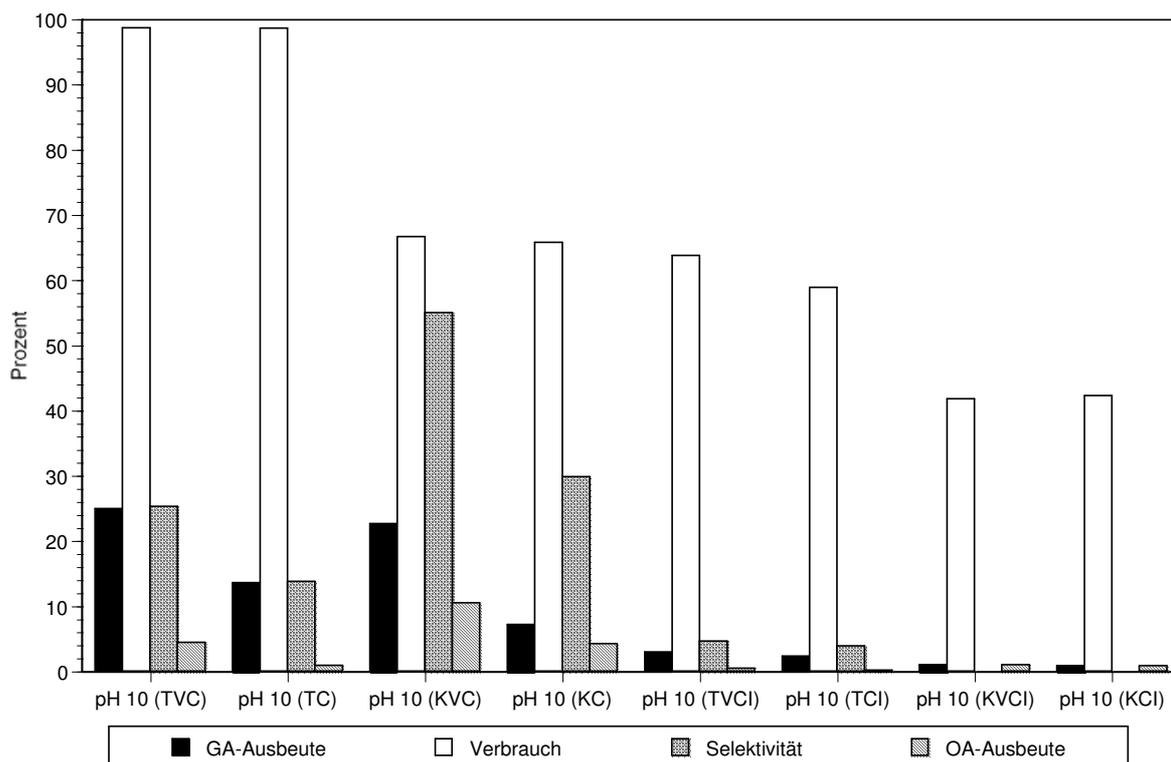


Abbildung 49: Vergleich der Ergebnisse der Umsetzungen von Tetrulose nach einem Tag bei pH 10 mit denen bei der Umsetzung von 5-Ketogluconsäure ($T =$ Tetrulose, $K =$ 5-Ketogluconsäure, $V = 1 \text{ mmol/l}$ Vanadat, $C =$ Carbonatpuffer, $I =$ Inert).

Man kann sagen, dass die Reaktion mit Tetrulose ähnlich wie mit 5-Ketogluconsäure verläuft. Allerdings werden nur mit der Umsetzung der 5-Ketogluconsäure vergleichbare Ausbeuten erreicht, obwohl theoretisch zwei Mol Glycolsäure aus der Tetrulose gebildet werden könnten. Woran das liegt, ist bisher ungeklärt.

2.5 Schlussbetrachtung

Das Ziel dieser Arbeit, eine effiziente Methode zur Darstellung von Weinsäure aus 5-Ketogluconsäure zu finden, wurde erreicht. Die Umsetzung in Carbonatpuffer führt zu den besten Weinsäureausbeuten, die je erreicht wurden. Dieser Umstand führte zur Erteilung zweier Patente auf die Methode [28][29]. Es hat sich während der Untersuchungen gezeigt, dass das hier untersuchte System überaus kompliziert ist. Sie wird von drei Faktoren beeinflusst. Sowohl der pH-Wert als auch der verwendete Puffer und Katalysator haben große Auswirkungen auf die Reaktion. Diese drei Faktoren beeinflussen sich dabei auch gegenseitig. Der pH verändert einerseits die Oligomerengleichgewichte des Vanadium-

Katalysators. Andererseits wird auch der Puffer durch ihn beeinflusst. Denn erst in alkalischem Milieu wird die 5-Ketogluconsäure durch Phosphat und Carbonat gespalten. Aber auch das Tautomerengleichgewicht der 5-Ketogluconsäure verändert sich mit dem pH-Wert.

Phosphat führt infolge einer Aktivierung des Vanadium-Katalysators dazu, dass das Hauptprodukt nicht mehr Weinsäure sondern Oxalsäure ist.

Es hat sich im Verlauf der Arbeit gezeigt, dass die Reaktion in zwei getrennten Schritten verläuft. Zuerst erfolgt die Spaltung. Sie ist in Gegenwart von Oxoanionen nicht Vanadat-abhängig. Es ist eine vollkommen neue Erkenntnis, dass Oxoanionen, wie Phosphat und Carbonat, allein in der Lage sind 5-Ketogluconsäure zu spalten.

Dann erfolgt die Oxidation. Auch hier zeigt sich im Fall des Phosphats der bereits erwähnte Einfluss auf das Vanadat. Aber auch die Beeinflussung von Vanadat durch Phosphat über einen weiten pH-Bereich von pH 1,7 bis 10,0 und die daraus resultierende Bildung eines gemischten Anhydrids war bisher nicht bekannt. Der Einfluss ist so stark, dass selbst die normalerweise favorisierte Bildung des Dekavanadats bei pH 3,2 in Gegenwart von Phosphat ausbleibt.

3. Experimenteller Teil

3.1 Allgemeines

3.1.1 Geräte und Methoden

Umsetzungen: Alle Umsetzungen wurden, wenn nicht anders vermerkt, in einem Schüttelinkubator GFL 3032 der Fa. Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel, bei 27°C und 180 Upm durchgeführt.

HPLC: Die HPLC-Untersuchungen wurden mit einem Gerät der Fa. Perkin-Elmer, Überlingen, bestehend aus einer binären Hochdruckpumpe LC 250, einem UV/VIS-Detektor LC 295 und einer PC-Integratoreinheit PE Nelson durchgeführt. Die PC-Integratoreinheit bestand aus einem Analog-Interface Serie 970 A, einer Analog/Digital-Wandlerkarte und der Integratorsoftware Turbochrom 4.0. Die Detektion erfolgte bei einer Wellenlänge von 215 nm.

Die Bestimmung von Oxalsäure, 5-Ketogluconsäure, Weinsäure und Glycolsäure wurde mit dem Trennsystem 1 vorgenommen. Dieses bestand aus einer Säule Nucleogel ION 300 OA (250 x 8 mm) der Fa. Macherey & Nagel, Düren. Als Eluent wurde 0,05N Schwefelsäure, filtriert (0,2 µm), mit einer Flussrate von 0,1 ml/min verwendet.

Zusätzlich wurden Konzentrationen von 5-Ketogluconsäure und Weinsäure mit dem Trennsystem 2 überprüft. Dabei wurde eine Säule Nucleosil 10 NH₂ (250 x 8 mm) der Fa. CS, Langerwehe, verwendet. Als Eluent wurde Phosphatpuffer pH 2,9 der Konzentration 25 mmol/l, filtriert (0,2 µm) bei einer Flussrate von 1 ml/min verwendet. Alle Trennungen wurden bei RT durchgeführt.

⁵¹V-NMR: Die ⁵¹V-NMR-Spektren wurden auf drei Geräten der Fa. Bruker, Modell AM 200 SY und Modell DRX 200 mit einer Messfrequenz von 52,59 MHz, sowie einem Spektrometer Bruker Advanced DRX 500 mit einer Messfrequenz von 113,48 MHz aufgenommen. Die Aufnahmen erfolgten in Aqua bidest. unter Verwendung von 5 mm NMR-Röhrchen, und soweit nicht anders vermerkt, unter Zusatz von 10 % D₂O. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ_V erfolgt relativ zu Vanadylchlorid (VOCl₃).

Die folgenden Abkürzungen werden verwendet: V_1 = Monovanadat, V_2 = Divanadat, V_4 = Tetravanadat, V_5 = Pentavanadat, V_{10} = Dekavanadat, M = Methanolat, P = Phosphat, As = Arsenat, C = Carbonat.

^{13}C -NMR: Die ^{13}C -NMR-Spektren wurden auf einem Spektrometer Bruker Advanced DRX 500 mit einer Messfrequenz von 112,79 MHz aufgenommen. Die Aufnahmen erfolgten in Aqua bidest. in 5 mm NMR-Röhrchen, und soweit nicht anders vermerkt, unter Zusatz von 10 % D_2O . Die Angabe der chemische Verschiebung erfolgt relativ TMS mit Methanol als internem Standard mit einer chemischen Verschiebung von 49,3 ppm relativ zu TMS (siehe auch [14]).

Kolorimetrie: Die photometrischen und kolorimetrischen Bestimmungen wurden auf einem Gerät der Fa. Perkin-Elmer, Bodenseewerke, Modell Lambda 5 UV/VIS-Spektrophotometer unter Verwendung von 1 cm Quarzküvetten durchgeführt. Zur Kontrolle der chromatographisch ermittelten Weinsäure-Konzentrationen wurde in einigen Fällen der Weinsäuregehalt der Lösungen nach der kolorimetrischen Methode von Rebelein [48] überprüft.

Lösung 1: 20 ml Eisessig und 80 ml 27 %-iger Natriumacetat-Lösung auf 250 ml mit Aqua bidest. Aufgefüllt

Lösung 2: 5,0 g Ammoniumvanadat, in 75 ml 1 N Natronlauge gelöst, werden mit 100 ml 27 %-iger Natriumacetat-Lösung versetzt und auf 250 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt.

Zuerst werden 250 μl der Probe mit 1250 μl der Lösung 1 und dann mit 750 μl der Lösung 2 versetzt. Nach 10 min wird die Extinktion der Probe bei einer Wellenlänge von 530 nm bestimmt.

Ultraschall: Für die Ultraschall-Untersuchungen wurden mit einem Ultraschallgenerator Modell LABSONIC U und einer Ultraschallnadelsonde Modell 40 T der Fa. B. Braun Diessel Biotech verwendet. Alle Versuche wurden mit einer Leistung der Sonde von 100 W durchgeführt.

Volumenmessungen: Alle Volumina bis 2,5 ml wurden mit Eppendorf-Pipetten abgemessen. Zwischen 2,5 ml und 100 ml wurden Vollpipetten verwendet und bei Volumina darüber Maßkolben.

3.1.2 Chemikalien

Aldrich Chemicals

S-(+)-Erythrose (L-Tetrolse), 97 %

Bernd Kraft GmbH

Natronlauge, 1 N , p.a.

ortho-Phosphorsäure, 85 % , p.a.

Salzsäure, 1 N, p.a.

Schwefelsäure, 1 N, p.a.

Fluka

Dinatriumhydrogenarsenat, $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, p.a.

Glycolsäure, p.a.

MOPS, p.a.

TRICIN, p.a.

Merck, Darmstadt

Cobaltchlorid, CoCl_2 , p.a.

EDTA, Dinatriumsalz, p.a.

HEPES, p.a.

Kaliumchlorid, KCl , p.a.

Kaliumchromat, K_2CrO_4 , p.a.

Kaliumdichromat, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, p.a.

Kaliumhydrogencarbonat, KHCO_3 , p.a.

Kaliumhydroxid-Plätzchen, KOH , p.a.

L-Weinsäure, p.a.

Mangansulfat, MnSO_4 , p.a.

Molybdänoxid, MoO_3 , p.a.

Natriumacetat, p.a.

Natriumhydroxid-Plätzchen, NaOH , p.a.

Natriumvanadat, NaVO_3 , p.a.

Oxalsäure, p.a.

Titanoxosulfat, $\text{TiO}(\text{SO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$, p.a.

TRIS, p.a.

Wolframoxid, WO_3 , p.a.

Riedel de Haen

Ammoniumvanadat, NH_4VO_3 , p.a.

Eisessig, p.a.

Sigma GmbH, München

5-Ketogluconsäure, Kaliumsalz

D_2O , 99,9 %

3.2 Umsetzungen von 5-Ketogluconsäure

Sofern nicht anders vermerkt, werden die Umsetzungen der 5-Ketogluconsäure nach der folgenden allgemeinen Vorschrift durchgeführt. Davon abweichende Durchführungen sind separat aufgeführt.

3.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

In einem Maßkolben wird etwas Puffer vorgelegt und dann mit einer Eppendorf-Pipette das der gewünschten Konzentration entsprechende Volumen einer 5-Ketogluconsäure-Stammlösung dazugegeben. Bei den Experimenten mit Katalysator wird nun die Ammoniumvanadat-Stammlösung ebenfalls mit einer Eppendorf-Pipette zugegeben. Bei den Experimenten ohne Katalysator wird statt der Ammoniumvanadat-Lösung die entsprechende Menge Aqua bidest. dazugegeben. Anschließend wird der Maßkolben mit dem Puffer aufgefüllt.

Der pH-Wert der Lösung wird bestimmt und eine Probe von 0,20 ml zur chromatographischen Bestimmung der Konzentrationen von 5-KGA, TA, OA und GA entnommen. Danach wird die Lösung in einen 25 ml Erlenmeyerkolben sterilfiltriert und mit einem Wattestopfen steril aber luftdurchlässig verschlossen. Die Lösung wird bei 27°C und 180 Upm in einem Schüttelinkubator über den gewünschten Zeitraum geschüttelt.

Nach dem Ende der Reaktion, werden erneut Konzentrationen von 5-KGA, TA, OA und GA chromatographisch bestimmt.

Wenn bei den Versuchen die Zeitabhängigkeit der Reaktion beobachtet wird, werden darüber hinaus täglich weitere Proben steril entnommen und chromatographisch untersucht.

Die Messreihen wurden ein- bis viermal wiederholt um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Die durchschnittliche Standardabweichung der Ergebnisse lag bei zwei bis fünf Prozent.

3.2.2 Umsetzungen in Gegenwart von Phosphatpuffer

1000 μ l einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 200 μ l einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Phosphatpuffer (0,50 mol/l) auf 10,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm. Der Verlauf der Umsetzung wird täglich verfolgt.

Tabelle 1: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Phosphatpuffer in Gegenwart von Vanadat (Abbildung 6).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	9,9
1	5	6	26	16	n.b.
2	3	8	33	16	n.b.
3	2	9	35	17	n.b.
4	1	10	38	18	n.b.
5	1	10	39	18	n.b.
6	0	10	39	18	n.b.
7	0	11	42	20	n.b.
8	0	12	44	20	7,3

Tabelle 2: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Phosphatpuffer in Abwesenheit von Vanadat (Abbildung 7).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	9,9
1	31	5	2	2	n.b.
2	26	7	2	3	n.b.
3	23	8	3	4	n.b.
4	21	9	3	4	n.b.
5	19	10	3	5	n.b.
6	17	11	4	6	n.b.
7	16	12	4	7	n.b.
8	15	13	5	8	7,4

3.2.3 Umsetzungen in Gegenwart von Arsenatpuffer

500 μl einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 100 μl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Arsenatpuffer (0,50 mol/l) auf 5,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 3: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Arsenatpuffer in Gegenwart von Vanadat (Abbildung 8).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	8,7
8	12	8	44	15	7,0

Tabelle 4: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Arsenatpuffer in Abwesenheit von Vanadat (Abbildung 8).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	8,7
8	31	2	3	3	8,1

3.2.4 Umsetzungen in Gegenwart von Carbonatpuffer

1000 μl einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 200 μl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Carbonatpuffer (0,50 mol/l) auf 10,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm. Der Verlauf der Umsetzung wird täglich verfolgt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer in Gegenwart von Vanadat (Abbildung 11).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
1	17	18	6	11	n.b.
2	2	30	8	20	n.b.
3	3	31	8	21	n.b.
4	2	33	8	23	n.b.
5	3	36	9	24	n.b.
6	3	34	8	24	n.b.
7	3	35	9	25	n.b.
8	3	35	9	24	10,1

Tabelle 6: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer in Abwesenheit von Vanadat (Abbildung 12).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
1	17	10	2	4	n.b.
2	13	13	3	5	n.b.
3	11	15	3	6	n.b.
4	10	16	3	7	n.b.
5	11	16	4	7	n.b.
6	10	16	4	7	n.b.
7	11	16	4	7	n.b.
8	11	17	4	8	10,2

3.2.5 Umsetzungen unter Variation der Carbonat-Konzentration

500 μ l einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 100 μ l einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit dem entsprechenden Volumen (siehe Tabelle 7) einer Carbonatpuffer (0,50 mol/l) auf 5,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure und 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 7: Volumina der Carbonat-Stammlösung, daraus resultierende Carbonat-Konzentrationen und TA-Konzentration nach acht Tagen bei der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonat-Konzentrationen (Abbildung 13).

Volumen ml]	Carbonat-Konz. [mol/l]	TA-Konz. [mmol/l]
0,10	0,01	3
0,50	0,05	10
1,00	0,10	20
2,00	0,20	29
4,40	0,44	35

3.2.6 Umsetzungen in Gegenwart von zwitterionischen Puffern

500 µl einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 100 µl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit dem jeweiligen zwitterionischen Puffer TIS, HEPES, MOPS und TRICIN (0,50 mol/l) auf 5,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 8: *Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung der Puffer TRIS, TRICIN, HEPES und MOPS in Gegenwart von Vanadat bei pH 8 und 9 (Abbildung 15).*

Puffer	V ja/nein	Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
TRIS	ja	0	50	0	0	0	8,0
	ja	8	38	5	1	15	7,8
	nein	0	50	0	0	0	8,0
	nein	8	50	0	0	0	8,0
	ja	0	50	0	0	0	9,0
	ja	8	31	15	3	11	8,7
	nein	0	50	0	0	0	9,0
	nein	8	50	0	0	0	9,0
TRICIN	ja	0	50	0	0	0	7,9
	ja	8	47	2	2	3	7,9
	nein	0	50	0	0	0	8,0
	nein	8	50	0	0	0	8,0
	ja	0	50	0	0	0	9,1
	ja	8	25	20	4	16	8,7
	nein	0	50	0	0	0	9,1
	nein	8	50	0	0	0	9,0
HEPES	ja	0	50	0	0	0	8,0
	ja	8	22	12	19	9	7,6
	nein	0	50	0	0	0	8,0
	nein	8	50	0	0	0	8,1
	ja	0	50	0	0	0	9,1
	ja	8	12	19	21	37	7,9
	nein	0	50	0	0	0	9,0
	nein	8	50	0	0	0	8,7
MOPS	ja	0	50	0	0	0	8,1
	ja	8	30	7	13	8	7,6
	nein	0	50	0	0	0	8,1
	nein	8	50	0	0	0	8,1
	ja	0	50	0	0	0	9,1
	ja	8	25	16	15	18	7,9
	nein	0	50	0	0	0	9,1
	nein	8	50	0	0	0	8,8

3.2.7 Umsetzungen in Gegenwart von EDTA

500 µl einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 100 µl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) und 500 µl EDTA-Lösung (0,50 mol/l) werden mit Aqua bidest. auf 5,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,01 mol/l an EDTA. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 9: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von EDTA in Gegenwart von Vanadat bei pH 10.

Dauer	Konz. 5-KGA	Konz. TA	Konz. OA	Konz. GA	pH
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
0	50	0	0	0	10,1
8	50	0	0	0	7,4

Tabelle 10: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung EDTA in Abwesenheit von Vanadat bei pH 10.

Dauer	Konz. 5-KGA	Konz. TA	Konz. OA	Konz. GA	pH
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
0	50	0	0	0	10,2
8	50	0	0	0	7,7

3.2.8 Umsetzungen mit weiteren Übergangsmetall-Katalysatoren

500 μ l einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 100 μ l einer Katalysator-Lösung (0,050 mol/l) werden mit dem entsprechenden Puffer/Lösungsmittel auf 5,0 ml aufgefüllt (siehe Tabelle 11). Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure und 0,001 mol/l an Katalysator. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Die Lösungen von K_2MoO_4 und K_2WO_4 wird durch Lösen von MoO_3 bzw. WO_3 in Kalilauge hergestellt.

Tabelle 11: Verwendete Puffer mit deren Konzentrationen.

Katalysator	Puffer/Lösungsmittel	Puffer-Konzentration
FeCl ₃	Chloridpuffer	0,44 mol/l
TiOSO ₄ *H ₂ O	Schwefelsäure	0,88 mol/l
MnSO ₄	Phosphatpuffer	0,44 mol/l
CoCl ₂	Phosphatpuffer	0,44 mol/l
K ₂ Cr ₂ O ₇	Phosphatpuffer	0,44 mol/l
K ₂ CrO ₄	Carbonatpuffer	0,44 mol/l
K ₂ MoO ₄	Carbonatpuffer	0,44 mol/l
K ₂ MoO ₄	Phosphatpuffer	0,44 mol/l
K ₂ WO ₄	Carbonatpuffer	0,44 mol/l

Tabelle 12: Ergebnisse der Umsetzungen mit FeCl₃ als Katalysator in Chloridpuffer.

Dauer	Konz. 5-KGA	Konz. TA	Konz. OA	Konz. GA	pH
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
0	50	0	0	0	3,7
3	50	0	0	0	3,4

Tabelle 13: Ergebnisse der Umsetzungen mit TiOSO₄*H₂O als Katalysator in Schwefelsäure.

Dauer	Konz. 5-KGA	Konz. TA	Konz. OA	Konz. GA	pH
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
0	50	0	0	0	0,3
3	50	0	0	0	0,3

Tabelle 14: Ergebnisse der Umsetzungen mit MnSO₄ als Katalysator in Phosphatpuffer.

Dauer	Konz. 5-KGA	Konz. TA	Konz. OA	Konz. GA	pH
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	
0	50	0	0	0	3,3
3	50	0	0	0	3,4

Tabelle 15: Ergebnisse der Umsetzungen mit CoCl_2 als Katalysator in Phosphatpuffer.

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	3,3
3	50	0	0	0	3,4

Tabelle 16: Ergebnisse der Umsetzungen mit $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ als Katalysator in Phosphatpuffer.

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	3,3
3	50	0	0	0	3,4

Tabelle 17: Ergebnisse der Umsetzungen mit K_2CrO_4 als Katalysator in Carbonatpuffer (Abbildung 17).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
3	0	19	6	15	10,2

Tabelle 18: Ergebnisse der Umsetzungen mit K_2MoO_4 als Katalysator in Carbonatpuffer (Abbildung 17).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
3	0	32	7	27	10,3

Tabelle 19: Ergebnisse der Umsetzungen mit K_2MoO_4 als Katalysator in Phosphatpuffer (Abbildung 17).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,4
3	15	18	10	18	7,9

Tabelle 20: Ergebnisse der Umsetzungen mit K_2WO_4 als Katalysator in Carbonatpuffer (Abbildung 17).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,2
3	0	35	9	33	10,3

3.2.9 Umsetzungen unter Variation der Temperatur

1000 μ l einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 200 μ l einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Carbonatpuffer (0,50 mol/l) auf 10,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Umsetzung erfolgte bei 27°C, 40°C und 50°C. Die Reaktionsdauer beträgt 1 Tag bei 180 Upm.

Tabelle 21: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer bei 27°C (Abbildung 18).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
1	17	18	5	11	10,0

Tabelle 22: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer bei 40°C (Abbildung 18).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
1	6	24	13	30	9,8

Tabelle 23: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer bei 50°C (Abbildung 18).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
1	5	24	12	28	9,8

3.2.10 Umsetzungen unter Ultraschall-Einfluss

1000 µl einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und 200 µl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Carbonatpuffer (0,50 mol/l) auf 10,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Die Umsetzungen werden wegen der starken Erwärmung der Lösungen in einem wassergekühlten Reaktionsgefäß auf 27°C temperiert. Die Lösung wird nun 6 h über eine Sonde Ultraschall einer Leistung von 100 W ausgesetzt. Alle 60 min werden Proben entnommen und chromatographisch analysiert.

Tabelle 24: Ergebnisse der Umsetzungen unter Ultraschall-Einfluss in Carbonatpuffer in Gegenwart von Vanadat (Abbildung 20).

Dauer [h]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
6	33	3	2	4	9,9

Tabelle 25: Ergebnisse der Umsetzungen unter Ultraschall-Einfluss in Carbonatpuffer in Abwesenheit von Vanadat (Abbildung 20).

Dauer [h]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,0
6	40	3	1	2	10,0

Tabelle 26: Ergebnisse der Umsetzungen unter Ultraschall-Einfluss in Phosphatpuffer in Gegenwart von Vanadat (Abbildung 20).

Dauer [h]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
6	39	2	2	3	8,7

Tabelle 27: Ergebnisse der Umsetzungen unter Ultraschall-Einfluss in Phosphatpuffer in Abwesenheit von Vanadat (Abbildung 20).

Dauer [h]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
6	44	2	1	1	8,7

3.2.11 Umsetzung unter Variation der Vanadat-Konzentration

500 µl einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) und das entsprechende Volumen (siehe Tabelle 28) einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,100 mol/l) werden mit 2,20 µl Phosphatpuffer (1,00 mol/l) versetzt und mit Aqua bidest. auf 5,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an 5-Ketogluconsäure und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 8 Tage bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 28: Volumina der Vanadat-Stammlösung, daraus resultierende Vanadat-Konzentrationen und TA-Konzentration nach acht Tagen bei der Umsetzungen unter Verwendung von verschiedenen Vanadat-Konzentrationen (Abbildung 21).

Volumen [μ l]	V-Konz. [mmol/l]	TA-Konz. [mmol/l]
5,0	0,05	3
10,0	0,1	7
50,0	0,5	27
10,0	1,0	33
150	1,5	31
200	2,0	25

3.2.12 Umsetzungen unter Sauerstoffausschluss

Alle Lösungen werden vor der Verwendung ca. 5 min mit Stickstoff gespült. In einem 10 ml Maßkolben werden ca. 8 ml des Puffers (0,5 mol/l) gegeben und mit Stickstoff ca. 1 min gespült. Dann gibt man nacheinander 200 μ l einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) und 1000 μ l einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,500 mol/l) dazu. Bei dem Kontrollversuch wird statt des Vanadats das gleiche Volumen Aqua bidest. verwendet. Der Maßkolben wird nun mit dem Puffer auf 10,0 ml aufgefüllt.

Die Lösung wird sofort im Stickstoffgegenstrom in einen 50 ml Zweihalsspitzkolben überführt. Der Kolben wird dreimal evakuiert und mit Stickstoff gespült. Dann wird im Stickstoffgegenstrom eine Probe zur Bestimmung des pH-Werts und zur chromatographischen Untersuchung entnommen.

Konzentrationen in der Lösung: 50 mmol/l 5-Ketogluconsäure, 1 mmol/l bzw. kein Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l Puffer.

Dann wird eine 200 μ l Probe für die pH-Wert-Bestimmung und die chromatographische Analyse im Stickstoffgegenstrom entnommen. Die Umsetzung erfolgt dann unter Rühren über den entsprechenden Zeitraum (siehe Tabelle) unter Stickstoffatmosphäre. Es werden täglich im Stickstoffgegenstrom Proben von 200 μ l zur Bestimmung der Konzentration an 5-KGA, TA, OA und GA entnommen.

Tabelle 29: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Phosphatpuffer in Gegenwart von Vanadat unter Sauerstoffausschluss (Abbildung 22).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
1	40	0	1	0	10,1
2	33	0	1	0	10,1
3	28	0	1	1	10,0
4	24	0	1	1	9,9
5	21	0	1	2	9,7
6	19	0	2	3	9,5
7	19	0	2	3	9,5
8	18	0	2	3	9,5
9*	9	6	18	11	7,6

*an Luft

Tabelle 30: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Phosphatpuffer in Abwesenheit von Vanadat unter Sauerstoffausschluss (Abbildung 22).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
1	38	0	1	0	10,1
2	31	0	1	0	10,1
3	27	0	1	0	10,1
4	23	0	1	0	10,1
5	20	0	1	0	10,1
6	18	0	1	0	10,1
7	17	0	1	1	10,0
8	16	0	1	1	10,0
9*	15	10	2	2	9,2

*an Luft

Tabelle 31: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer in Gegenwart von Vanadat unter Sauerstoffausschluss (Abbildung 25).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
1	29	0	1	0	10,1
2	21	0	1	0	10,1
3	17	0	1	1	10,1
4	15	0	1	0	10,1
5	13	0	1	0	10,1
6	13	0	1	1	10,1
7	12	0	1	1	10,1
8	12	0	1	1	10,1
9*	7	10	4	7	10,1

*an Luft

Tabelle 32: Ergebnisse der Umsetzungen unter Verwendung von Carbonatpuffer in Abwesenheit von Vanadat unter Sauerstoffausschluss (Abbildung 25).

Dauer [d]	Konz. 5-KGA [mmol/l]	Konz. TA [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	0	10,1
1	29	0	1	1	10,1
2	20	0	1	1	10,1
3	16	0	1	1	10,1
4	14	0	1	1	10,1
5	13	0	1	1	10,1
6	12	0	1	1	10,1
7	12	0	1	1	10,1
8	11	0	1	1	10,1
9*	5	8			10,1

*an Luft

3.3 NMR-spektroskopische Untersuchungen

3.3.1 ^{13}C -NMR-Spektroskopie

3.3.1.1 Untersuchung der Wechselwirkung von Vanadat mit Carbonat

In einen 1 ml Maßkolben werden der Reihe nach 0,5 ml Aqua bidest., 200 μl einer Kaliumhydrogencarbonat-Lösung (1,00 mol/l) und die der gewünschten Konzentration entsprechende Menge einer Natriumvanadat-Lösung (1,00 mol/l) gegeben. Nachdem 100 μl D_2O zugegeben worden sind, wird der Kolben mit Aqua bidest. auf 1 ml aufgefüllt. Anschließend wird der pH-Wert der Lösung bestimmt. Verwendete Volumina, die daraus resultierenden Konzentrationen sowie die pH-Werte können Tabelle 33 entnommen werden.

Tabelle 33: Volumina der verwendeten Stammlösungen und Endkonzentrationen in den Lösungen für die ^{13}C NMR-Untersuchungen des Einflusses von Vanadat auf Carbonat, sowie deren pH-Werte.

Carbonat-Volumen [μl]	Carbonat-Konzentration [mol/l]	Vanadat-Volumen [μl]	Vanadat-Konzentration [mol/l]	pH
200	0,20	0	0	8,4
200	0,20	10	0,01	8,9
200	0,20	100	0,10	8,5
200	0,20	200	0,20	8,4
200	0,20	400	0,40	8,5

Tabelle 34: Chemische Verschiebung des Carbonats im ^{13}C -NMR bei Gegenwart verschiedener Vanadat-Konzentrationen.

c(KHCO_3) [mol/l]	c(NaVO_3) [mol/l]	pH	Chem. Verschiebung [ppm]	Chem. Verschiebung [Hz]
0,20	0	8,4	163,04	8204,6
0,20	0,01	8,9	163,49	8227,2
0,20	0,10	8,5	163,72	8238,8
0,20	0,20	8,4	163,75	8240,3
0,20	0,40	8,5	164,12	8258,9

3.3.1.2 Einfluss von Carbonat auf 5-Ketogluconsäure

In einen 1 ml Maßkolben werden der Reihe nach 0,5 ml Aqua bidest., 500 μ l einer Kaliumhydrogencarbonat-Lösung (2,00 mol/l) und 200 μ l einer 5-Ketogluconsäure-Lösung (0,50 mol/l) gegeben. Nachdem 100 μ l D₂O dazugegeben worden sind, wird der Kolben mit Aqua bidest. auf 1 ml aufgefüllt. Anschließend wird der pH-Wert der Lösung bestimmt. Die Lösung hat pH 10,0.

Zum Vergleich wird in gleicher Weise eine Lösung ohne Kaliumhydrogencarbonat-Lösung hergestellt. Diese wird mit Kaliumhydroxid-Lösung auf pH 10,0 eingestellt.

Daraus ergeben sich die folgenden Konzentrationen:

Kaliumhydrogencarbonat: 1,0 mol/l bzw. kein Kaliumhydrogencarbonat
 5-Ketogluconsäure: 0,5 mol/l

Tabelle 35: Zuordnung der Signale basierend auf [14] und [9]. Zur Bezeichnung der einzelnen Formen siehe Abbildung 29.

	ohne Carbonat			mit Carbonat		
	α -Form	β -Form	keto-Form	α -Form	β -Form	keto-Form
C1:	177,0	176,7	-	-	176,6	-
C2:	83,7	79,8	73,3	-	79,9	73,2
C3:	80,2	77,0	73,4	77,7	77,0	73,3
C4:	77,5	76,7	76,5	77,3	76,5	76,1
C5:	103,9	103,8	-	-	-	-
C6:	63,1	64,5	-	63,4	64,6	65,2

3.3.2 ⁵¹V-NMR-Spektroskopie

3.3.2.1 Einfluss von Phosphat, Arsenat und Carbonat auf die Bildung von Methanol-Vanadat-Estern

Die Spektren werden auf einem Gerät der Fa. Bruker, Modell Advanced DRX 500 mit einer Messfrequenz von 113,48 MHz aufgenommen. Die Messungen erfolgen in 5 mm NMR-Röhrchen ohne die Zugabe eines Logmittels.

In einem 5,0 ml Maßkolben werden nacheinander 500 μ l HEPES-Puffer (0,20 mol/l), 1500 μ l des entsprechenden Puffers und 400 μ l Ammoniumvanadat-Lösung (0,05 mol/l)

gegeben. Bei den Messungen mit Methanol werden nun noch 1500 μl Methanol dazu gegeben. Die Ionenstärke wird durch Zugabe der entsprechenden Menge Kaliumchlorid-Lösung (0,5 mol/l) auf 0,5 mol/l eingestellt. Dann wird mit Aqua bidest. auf 5,0 ml aufgefüllt und der pH-Wert gemessen.

Daraus ergeben sich die folgenden Konzentrationen:

Ammoniumvanadat:	4 mmol/l
HEPES:	20 mmol/l
Puffer:	150 mmol/l
Methanol:	7,4 mol/l

Außerdem wird eine Lösung ohne Puffer und eine ohne Puffer und ohne Methanol mit den ansonsten gleichen Konzentrationen hergestellt und als Referenz vermessen.

Tabelle 36: pH-Werte der ^{51}V -NMR-Lösungen

ohne Methanol		mit Methanol	
Vanadat	pH 8,5	Vanadat	pH 8,3
Vanadat mit Phosphat	pH 8,5	Vanadat mit Phosphat	pH 8,9
Vanadat mit Arsenat	pH 8,7	Vanadat mit Arsenat	pH 9,0
Vanadat mit Arsenat	pH 9,2	Vanadat mit Arsenat	pH 8,9

Tabelle 37: Zuordnungen der ^{51}V -NMR-Signale zur Untersuchung des Einflusses von Phosphat, Arsenat und Carbonat auf die Bildung von Methanol-Vanadat-Estern laut [51] (Abbildung 32).

Spektrum	δ [ppm]	Zuordnung
Vanadat	-547,9	V_1
	-568,4	V_2
	-575,7	V_4
	-583,0	V_5
Vanadat mit Methanol	-543,1	VM_2
	-547,2	VM
	-553,9	V_1
	-563,0	$\frac{1}{2}V_2M / V_2M_2$
	-570,6	V_2
	-575,1	V_4
	-581,4	V_5
Vanadat mit Phosphat	-558,6	$VP \rightleftharpoons V_1 + P$ (hochfeldverschoben gegenüber „ungestörtem“ V_1)
	-570,1	$VP \rightleftharpoons V_2 + P$
	-577,4	V_4
	-584,7	V_5
Vanadat mit Phosphat und Methanol	-561,4	$VP \rightleftharpoons V_1 + P, VP \rightleftharpoons V_2 + P$
	-576,3	V_4
	-582,0	V_5
Vanadat mit Arsenat	-549,1	$V_{As} \rightleftharpoons V_1$
	-567,8	$V_{As} \rightleftharpoons V_2$
	-576,3	V_4
	-584,6	V_5
Vanadat mit Arsenat und Methanol	-553,1	$V_{As} \rightleftharpoons VM/VM_2 \rightleftharpoons V_1 (As \rightleftharpoons AsM \rightleftharpoons V_{AsM})$
	-563,5	V_2M/V_2M_2
	-570,7	V_2
	-577,8	V_4
	-584,7	V_5
Vanadat mit Carbonat und Methanol	-547,8	VCM
	-557,5	$VC \rightleftharpoons V_1 + C \text{ und/oder } VC \rightleftharpoons V_2 + C$
	-567,5	V_2
	-573,4	$VC \rightleftharpoons V_4 \text{ und/oder } VCM \rightleftharpoons V_4 + M$
	-575,5	V_4
Vanadat mit Carbonat	-551,5	VC
	-566,8	V_2
	-576,7	V_4

3.3.2.2 Einfluss von Phosphat auf Vanadat als Funktion des pH-Werts

Vorbereitung der Proben ohne Phosphat

In einem 50 ml Maßkolben werden 1000 μl einer 50 mmol/l Ammoniumvanadat-Lösung gegeben und mit ca. 30 ml Aqua bidest. aufgefüllt. Dann wird der pH-Wert mit verdünnter Kaliumhydroxid-Lösung auf den gewünschten Wert eingestellt. Nun wird der Maßkolben auf 50 ml aufgefüllt und der pH-Wert wird kontrolliert.

Tabelle 38: Konzentrationen und pH-Werte der ^{51}V -NMR-Proben ohne Phosphatzusatz zur Untersuchung des Einflusses von Phosphat auf Vanadat.

Vanadium-Konz. [mmol/l]	pH
1	1,7
1	3,2
1	6,0
1	8,1
1	10,0

Vorbereitung der Proben mit Phosphat

In einem 50 ml Maßkolben werden 1000 μl einer 0,050 mol/l Ammoniumvanadat-Lösung gegeben. Dann werden zuerst 30,0 ml Aqua bidest. und danach 10,0 ml der Phosphat-Lösung (0,50 mol/l) des entsprechenden pH-Werts dazugegeben. Nachdem der Kolben auf 50,0 ml aufgefüllt worden ist, wird der pH-Wert kontrolliert. Die pH-Werte der Puffer werden nach den, bei den Proben ohne Phosphatzusatz, erhaltenen Werten ausgewählt.

Tabelle 39: Konzentrationen und pH-Werte der ^{51}V -NMR-Proben mit Phosphatzusatz zur Untersuchung des Einflusses von Phosphat auf Vanadat

Vanadium-Konz. [mmol/l]	Phosphat-Konz. [mol/l]	pH
1,0	0,20	1,7
1,0	0,20	3,2
1,0	0,20	6,0
1,0	0,20	8,1
1,0	0,20	10,0

Tabelle 40: Zuordnung der Signale der ^{51}V -NMR-Spektren mit und ohne Phosphat bei verschiedenen pH-Werten (Abbildung 36).

ohne Phosphat				mit Phosphat			
pH	δ [ppm]	Zuordnung	Ref.	pH	δ [ppm]	Zuordnung ^a	Ref.
1,8	-543	VO_2^+	[51][47]	1,7	-556	$\text{VO}_2^+\text{-P}_x$	[51][47]
3,2	-508	$\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{2-}$	[51][47]	3,2	-564	P-V	[51]
	-526	$\text{H}_2\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{2-}$	[51][47]				
6,0	-560	H_2VO_4^-	[51][47]	6,0	-587	$\text{H}_2\text{PVO}_7^{2-}$	[51]
	-572	$\text{H}_2\text{V}_2\text{O}_7^{2-}$	[51][47]				
	-577	$\text{V}_4\text{O}_{12}^{4-}$	[51][47]				
8,2	-553	$\text{H}_2\text{VO}_4^- / \text{HVO}_4^{2-}$	[51][47]	8,1	-563	$\text{HVO}_4^{2-} / \text{H}_2\text{V}_2\text{O}_7^{2-}$	[51][47]
	-571	$\text{H}_2\text{V}_2\text{O}_7^{2-}$	[51][47]		-576	$\text{V}_4\text{O}_{12}^{4-} / \text{HPVO}_7^{3-}$	[51][47]
	-577	$\text{V}_4\text{O}_{12}^{4-}$	[51][47]				
9,8	-537	HVO_4^{2-}	[51][47]	10,0	-539	HVO_4^{2-}	[51][47]

^a Abkürzungen: P-V = Phospho-vanadat mit unbekanntem P/V-Verhältnis

3.4 Weitere Untersuchungen zum Mechanismus

3.4.1 Umsetzungen von Glycolaldehyd

500 μl einer Glycolaldehyd-Lösung (0,500 mol/l) und 100 μl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Carbonatpuffer (0,50 mol/l) auf 5,0 ml aufgefüllt. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an Glycolaldehyd, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt 1 Tag bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 41: Ergebnisse der Umsetzungen von Glycolaldehyd (Abbildung 42).

Dauer	Konz. OA	Konz. GA	pH
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	
0	0	0	10,1
1	2	13	10,1

3.4.2 Umsetzung von Tetrulose

An Luft:

500 µl einer Tetrulose-Lösung (0,50 mol/l) und 100 µl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) werden mit Carbonatpuffer (0,50 mol/l) auf 5,0 ml aufgefüllt. Parallel wird eine Probe ohne Vanadat hergestellt, bei der statt des Vanadats 100 µl Aqua bidest. verwendet wird. Daraus ergeben sich Konzentrationen von 0,050 mol/l an Tetrulose, 0,001 mol/l an Ammoniumvanadat bzw. kein Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l an Puffer. Die Reaktionsdauer beträgt drei Tage bei 27°C und 180 Upm.

Tabelle 42: Ergebnisse der Umsetzung von Tetrulose an der Luft (Abbildung 46).

Dauer [d]	mit Vanadat				ohne Vanadat			
	Konz. TET [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH	Konz. TET [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH
0	50	0	0	8,2	50	0	0	8,2
1	0	6	15	9,3	7	0	5	9,4
2	0	8	17	-	2	0	7	-
3	0	8	18	9,7	0	0	7	9,7

Inert:

Alle Lösungen werden vor der Verwendung ca. 5 min mit Stickstoff gespült. In einem 10 ml Maßkolben werden ca. 8 ml Carbonatpuffer (0,5 mol/l) gegeben und mit Stickstoff ca. 1 min gespült. Dann gibt man nacheinander 200 µl einer Ammoniumvanadat-Lösung (0,050 mol/l) und 1000 µl einer Tetrulose-Lösung (0,500 mol/l) dazu. Bei dem Kontrollversuch wird statt des Vanadats das gleiche Volumen Aqua bidest. verwendet. Der Maßkolben wird nun mit dem Puffer auf 10,0 ml aufgefüllt.

Die Lösung wird sofort im Stickstoffgegenstrom in einen 50 ml Zweihalsspitzkolben überführt. Der Kolben wird mehrfach abwechselnd evakuiert und mit Stickstoff gespült. Dann wird im Stickstoffgegenstrom eine Probe zur Bestimmung des pH-Werts und zur chromatographischen Untersuchung entnommen.

Konzentrationen in der Lösung: 50 mmol/l Tetrulose, 1 mmol/l bzw. kein Ammoniumvanadat und 0,44 mol/l Carbonatpuffer.

Dann wird eine 200 µl Probe für die pH-Wert-Bestimmung und die chromatographische Analyse im Stickstoffgegenstrom entnommen. Die Umsetzung erfolgt dann unter Rühren über einen Zeitraum von vier Tagen unter Stickstoffatmosphäre. Es werden täglich im

Stickstoffgegenstrom Proben von 200 μ l zur Bestimmung der Konzentration an 5-KGA, TA, OA und GA entnommen.

*Tabelle 43: Ergebnisse der Umsetzung von Tetrulose unter Sauerstoff-Ausschluss
(Abbildung 47).*

Dauer [d]	mit Vanadat				ohne Vanadat			
	Konz. TET [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	pH	Konz. TET [mmol/l]	Konz. OA [mmol/l]	Konz. GA [mmol/l]	PH
0	50	0	0	8,4	50	0	0	8,4
1	31	0	2	8,5	37	0	2	8,6
2	19	0	2	8,6	32	0	3	8,7
3	15	0	4	8,7	30	0	2	8,8
4	13	0	3	8,7	28	0	2	8,8

4. Anhang

Tabelle 44: Werte zu Abbildung 5

	TA- Ausbeute [%]	5-KGA- Verbrauch [%]	Selektivität [%]	OA- Ausbeute [%]	GA- Ausbeute [%]
pH 1,4 (VP)	35	56	63	45	21
pH 2,0 (VP)	30	78	39	46	20
pH 3,5 (VP)	22	85	26	68	34
pH 7,1 (VP)	23	91	25	86	18
pH 8,1 (VP)	27	93	29	106	35
pH 9,0 (VP)	27	92	30	100	41
pH 10,2 (VP)	24	100	24	88	41
pH 8,1 (P)	10	36	27	10	12
pH 9,1 (P)	25	52	49	12	19
pH 10,3 (P)	25	71	35	9	15

Tabelle 45: Werte zu Abbildung 6

Dauer [d]	5-KGA [mmol/l]	TA [mmol/l]	OA [mmol/l]	GA [mmol/l]
0	50	0	0	0
1	5	6	26	16
2	3	8	33	16
3	2	9	35	17
4	1	10	38	18
5	1	10	39	18
6	0	10	39	18
7	0	11	42	20
8	0	12	44	20

Tabelle 46: Werte zu Abbildung 7

Dauer [d]	5-KGA [mmol/l]	TA [mmol/l]	OA [mmol/l]	GA [mmol/l]
0	50	0	0	0
1	31	5	2	2
2	26	7	2	3
3	23	8	3	4
4	21	9	3	4
5	19	10	3	5
6	17	11	4	6
7	16	12	4	7
8	15	13	5	8

Tabelle 47: Werte zu Abbildung 8

	TA- Ausbeute [%]	5-KGA- Verbrauch [%]	Selektivität [%]	OA- Ausbeute [%]	GA- Ausbeute [%]
pH 8,7 (VA)	16	77	21	88	29
pH 8,7 (A)	4	38	9	6	7
pH 8,1 (VP)	27	92	30	100	41
pH 8,1 (P)	25	52	49	12	19

Tabelle 48: Werte zu Abbildung 9

	TA- Ausbeute [%]	5-KGA- Verbrauch [%]	Selektivität [%]	OA- Ausbeute [%]	GA- Ausbeute [%]
pH 8,2 (VC)	59	84	70	28	53
pH 9,0 (VC)	73	86	84	22	58
pH 10,0 (VC)	69	95	73	17	48
pH 13,0 (VC)	18	51	35	9	20
pH 8,2 (C)	29	61	48	7	14
pH 9,0 (C)	31	60	51	10	18
pH 10,0 (C)	33	77	43	8	16
pH 13,0 (C)	20	59	34	10	19

Tabelle 49: Werte zu Abbildung 11

Dauer [d]	5-KGA [mmol/l]	TA [mmol/l]	OA [mmol/l]	GA [mmol/l]
0	50	0	0	0
1	17	18	6	11
2	2	30	8	20
3	3	31	8	21
4	2	33	8	23
5	3	36	9	24
6	3	34	8	24
7	2	35	9	25
8	3	35	9	24

Tabelle 50: Werte zu Abbildung 12

Dauer	5-KGA	TA	OA	GA
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]
0	50	0	0	0
1	17	10	2	4
2	13	13	3	5
3	11	15	3	6
4	10	16	3	7
5	11	16	4	7
6	10	16	4	7
7	11	16	4	7
8	11	17	4	8

Tabelle 51: Werte zu Abbildung 13

	TA- Ausbeute	5-KGA- Verbrauch	Selektivität	OA- Ausbeute	GA- Ausbeute
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
0,01 mol/l	4	14	26	4	8
0,05 mol/l	20	60	33	13	29
0,10 mol/l	40	84	48	16	43
0,20 mol/l	59	95	63	16	61
0,44 mol/l	69	95	73	17	48

Tabelle 52: Werte zu Abbildung 15

	TA- Ausbeute	5-KGA- Verbrauch	Selektivität	OA- Ausbeute	GA- Ausbeute
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
TRIS pH 8,0	11	23	46	1	30
TRIS pH 9,0	29	38	76	6	23
TRICIN pH 7,9	5	6	77	3	7
TRICIN pH 9,1	46	50	91	8	26
HEPES pH 8,1	25	55	45	38	17
HEPES pH 9,1	37	75	49	54	43
MOPS pH 8,1	14	40	36	25	17
MOPS pH 9,1	33	50	66	31	36

Tabelle 53: Werte zu Abbildung 17

	TA- Ausbeute [%]	5-KGA- Verbrauch [%]	Selektivität [%]	OA- Ausbeute [%]	GA- Ausbeute [%]
V pH 10,0 (C)	69	95	73	17	48
Cr pH 10,3 (C)	51	100	51	14	38
Mo pH 10,3 (C)	64	100	64	18	33
W pH 10,3 (C)	47	100	47	20	49
V pH 10,0 (P)	25	99	25	74	26
Mo pH 10,3 (P)	36	71	51	21	35

Tabelle 54: Werte zu Abbildung 18

	TA- Ausbeute [%]	5-KGA- Verbrauch [%]	Selektivität [%]	OA- Ausbeute [%]	GA- Ausbeute [%]
27°C (VC)	37	67	55	11	23
40°C (VC)	48	89	54	25	60
50°C (VC)	48	90	53	23	56

Tabelle 55: Werte zu Abbildung 20

	TA- Ausbeute [%]	5-KGA- Verbrauch [%]	Selektivität [%]	OA- Ausbeute [%]	GA- Ausbeute [%]
pH 10,0 (C,V,U)	7	34	16	5	8
pH 10,0 (C,U)	7	21	33	3	3
pH 10,1 (P,V,U)	4	23	17	3	5
pH 10,1 (P,U)	4	11	34	2	2
pH 10,0 (C,V)	17	25	66	6	11
pH 10,0 (C)	14	25	57	3	5
pH 9,9 (P,V)	9	32	30	9	16
pH 9,9 (P)	7	19	35	2	2

Tabelle 56: Werte zu Abbildung 21

V [mmol/l]	TA [mmol/l]
0,05	3
0,1	7
0,5	27
1,0	33
1,5	31
2,0	25

Tabelle 57: Werte zu Abbildung 22

	TA	5-KGA	OA	GA
	[%]	[%]	[%]	[%]
VPI	0	18	2	3
PI	0	16	1	1
VPL	6	9	18	12
PL	4	14	2	2

Tabelle 58: Werte zu Abbildung 24

	TA-Ausbeute	OA-Ausbeute	GA-Ausbeute
	[%]	[%]	[%]
PV 1	12	52	32
PV 2	15	65	32
PVI 1	12	36	24
PVI 2	15	50	26
P 1	10	4	3
P 2	13	5	5
PI 1	7	4	5
PI 2	9	6	5

Tabelle 59: Werte zu Abbildung 25

Dauer	5-KGA (V,C)	5-KGA (C)
[d]	[mmol/l]	[mmol/l]
0	50	50
1	29	29
2	21	20
3	17	16
4	15	14
5	13	13
6	13	12
7	12	12
8	12	11

Tabelle 60: Werte zu Abbildung 26

	TA	5-KGA	OA	GA
	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]	[mmol/l]
VCI	0	12	1	1
CI	0	11	1	1
VC	10	7	6	11
C	8	5	4	7

Tabelle 61: Werte zu Abbildung 27

	TA-Ausbeute	OA-Ausbeute	GA-Ausbeute
	[%]	[%]	[%]
VC 1 d	37	11	23
VC 2 d	59	15	41
VCI 1 d	19	12	23
CVI 2 d	28	16	35
C 1 d	20	4	7
C 2 d	27	6	11
CI 1 d	16	8	13
CI 2 d	21	10	17

Tabelle 62: Werte zu Abbildung 42

	OA-Ausbeute	GA-Ausbeute
	[%]	[%]
GAL	2	13
5-KGA	5	11

Tabelle 63: Werte zu Abbildung 46

Dauer [d]	Mit Vanadat			Ohne Vanadat		
	TET [mmol/l]	OA [mmol/l]	GA [mmol/l]	TET (K) [mmol/l]	OA (K) [mmol/l]	GA (K) [mmol/l]
0	50	0	0	50	0	0
1	0	6	15	7	0	5
2	0	8	17	2	0	7
3	0	8	18	0	0	7

K = Kontrolle ohne Vanadat

Tabelle 64: Werte zu Abbildung 47

Dauer [d]	Mit Vanadat			Ohne Vanadat		
	TET [mmol/l]	OA [mmol/l]	GA [mmol/l]	TET (K) [mmol/l]	OA (K) [mmol/l]	GA (K) [mmol/l]
0	50	0	0	50	0	0
1	31	0	2	37	0	2
2	19	0	2	32	0	3
3	15	1	4	30	0	2
4	13	0	3	28	0	2

K = Kontrolle ohne Vanadat

Tabelle 65: Werte zu Abbildung 48

	GA-Ausbeute	TET-Verbrauch	Selektivität	OA-Ausbeute
	[%]	[%]	[%]	[%]
pH 8,2 (V,C)	31	99	31	13
pH 8,2 (C)	10	86	12	1
pH 8,4 (V,C,I)	4	39	10	0
pH 8,4 (C,I)	4	26	15	0
pH 10 (V,C)	25	99	25	4
pH 10 (C)	14	99	14	1
pH 10 (V,C,I)	3	64	5	0
pH 10 (C,I)	2	59	4	0

Tabelle 66: Werte zu Abbildung 49

	GA-Ausbeute	Verbrauch	Selektivität	OA-Ausbeute
	[%]	[%]	[%]	[%]
pH 10 (T,V,C)	25	99	25	4
pH 10 (C)	14	99	14	1
pH 10 (K,V,C)	23	67	55	11
pH 10 (K,C)	7	66	30	4
pH 10 (T,V,C,I)	3	64	5	0
pH 10 (T,C,I)	2	59	4	0
pH 10 (K,V,C,I)	1	42	0	1
pH 10 (K,C,I)	1	42	0	1

5. Literaturverzeichnis

- [1] Amos, L. W.; Sawyer, D. T., *Inorg. Chem.* **11** (1972), S. 2692-2697.
- [2] Atkins, P. W., *Physikalische Chemie*, 1. Aufl., VCH, Weinheim 1987.
- [3] Barch, W. E., *J. Am. Chem. Soc.* **55** (1933), S. 3653-3658.
- [4] Bayer, E.; Koch, E.; Anderegg, G., *Angew. Chem.* **99** (1987) Nr. 6, S. 570-572.
- [5] Beyer, H.; Walter, W.; *Lehrbuch der Organischen Chemie*, 21. Auflage, Hirzel, Stuttgart 1988.
- [6] Buck, J. S.; Ide, W. S., *J. Am. Chem. Soc.* **53** (1931), S. 2350-2353.
- [7] Buck, J. S.; Ide, W. S., *J. Am. Chem. Soc.* **53** (1931), S. 2784-2787.
- [8] Butler, A.; Clague, M. J.; Meister, G. E., *Chem. Rev.* **94** (1994), S. 625-638.
- [9] Caldeira, M. M.; van Bekkum, H.; Peters, J. A., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1990), S. 2707-2711.
- [10] Centi, G.; Trifiro, F.; Ebner, J. R.; Franchetti, V. F., *Chem. Rev.* **88** (1988), S. 55-80.
- [11] Collins, G. C. S.; George, W. O., *J. Chem. Soc. (B)* (1971), S. 1352-1355.
- [12] Crans, D. C.; Bunch, R. L.; Theisen, L. A., *J. Am. Chem. Soc.* **111** (1989), S. 7597-7607.
- [13] Crans, D. C.; Shin, P. K., *J. Am. Chem. Soc.* **116** (1994), S. 1305-1315.
- [14] Crawford, T. C.; Andrews, G. C.; Faubl, H.; Chmurny, G. N., *J. Am. Chem. Soc.* **102** (1980) Nr. 7, S. 2220-2225.
- [15] Duke, C. C.; Macleod, J. K.; Williams, J. K., *Carbohydr. Res.* **95** (1981), S. 1-26.
- [16] Falbe, J.; Regitz, M., *Römpf-Chemie Lexikon*, 9. Aufl., Bd. 6, Thieme Verlag, Stuttgart 1992, S. 4609-4610.
- [17] Fichte, R.; Reteldorf, H.-J.; Ziehl, L., *Vanadium und Vanadium-Verbindungen*, in: *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie* (E. Batholome, E. Bieckert, H. Hellmann, H. Ley, M. Weigert und E. Weise, Hrsg.), 4. Aufl., Bd. 23, VCH, Weinheim 1982, S. 491-510.
- [18] Geraldès, C. F. G. C.; Castro, M. M. C. A., *J. Inorg. Biochem.* **35** (1989), S. 79-93.
- [19] Gresser, M. J.; Tracey, A. S., *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985), S. 4215-4220.
- [20] Gresser, M. J.; Tracey, A. S., *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986), S. 1935-1939.
- [21] Gresser, M. J.; Tracey, A. S.; Parkinson, K. M., *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986), S. 6229-6234.

- [22] Haberstroh, H.-J.; Hustede, H., *Weinsäure* in: *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie* (E. Batholome, E. Bieckert, H. Hellmann, H. Ley, M. Weigert und E. Weise, Hrsg.), 4. Aufl., Bd. 24, VCH, Weinheim 1982, S. 431-437.
- [23] Isbell, H. S.; Holt, N. B., *J.Res. Bur. Stand.* **35** (1945), S. 433-438.
- [24] Kamlet, J., *Preparation of D-Tartaric Acid by Fermentation* US 2,314,83, 1943.
- [25] Kassaian, J.-M., *Tartaric Acid*, in: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (W. Gerhartz und B. Elvers, Hrsg.), 5. Aufl., Bd. A26, VCH, Weinheim 1995, S. 163-169.
- [26] Kiliani, H., *Ber.* **55** (1922), S. 2817-2826.
- [27] Klasen, R.; Bringer-Meyer, S.; Sahm, H., *Biotech. & Bioengin.* **40** (1992), S. 183-186.
- [28] Klasen, R.; Sahm, H. Matzerath, I.; Kläui, W. (Forschungszentrum Jülich GmbH), Verfahren zur Herstellung von Weinsäure, DE 4440191 C1, 1996.
- [29] Klasen, R.; Sahm, H. Matzerath, I.; Kläui, W. (Forschungszentrum Jülich GmbH), Method of Preparing Tartaric acid, US 5,763,656, 1997
- [30] Klasen, R.; Sahm, H. Matzerath, I.; Kläui, W. (Forschungszentrum Jülich GmbH), Verfahren zur Herstellung von Weinsäure, EP 0 790973 B1, 1999.
- [31] Kotera, U.; Kodama, T.; Minoda, Y.; Yamada, K., *Agr. Biol. Chem.* **36** (1972) Nr. 8, S. 1315-1325.
- [32] Lapworth, A., *J. Am. Soc.* **83** (1903), S. 995-1005.
- [33] Lehmann, J.; *Chemie der Kohlenhydrate*, 1. Aufl., Thieme, Stuttgart 1976
- [34] Ley, V. L.; Low, C. M. R., *Ultrasound in Synthesis*, in: *Reactivity and Structure - Concepts in Organic Chemistry*, Springer, Berlin Heidelberg New York 1989.
- [35] Liochev, S. I.; Fridovich, I., *Archives of Biochemistry and Biophysics* **291** (1991) Nr. 2, S. 379-382.
- [36] Mason, T. J., *Chemistry with Ultrasound*, in: *Critical Reports on Applied Chemistry* (Society of Chemical Industry, Hrsg.), 1. Aufl., Bd. 28, Elsevier Applied Science.
- [37] Mason, T. J., *Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry* (Royal Society of Chemistry, Hrsg.), 1. Aufl..
- [38] Matzerath, I.; Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 1993
- [39] Matzerath, I.; Kläui, W.; Klasen, R.; Sahm, H., *Inorg. Chim. Acta* **237** (1995) Nr. 1-2, S. 203-205.

- [40] McCandless, H. A.; Cearley, J. L.; Taheri, H. (Amoco Corp.), Process for the manufacture of maleic anhydride utilizing peroxides to improve catalytic activity, US 4,950,769 A, 1990; Chem. Abstr. 114(5).
- [41] McDaniel, M. P.; Johnson, M. M. (Phillips Petroleum Co.), Phosphate containing support for vanadium catalysts, US 4,397,761 A, 1983; Chem. Abstr. 99(20).
- [42] Monceaux, L.; Courtine, P., *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.* **28** (1991) Nr. 1, S. 233-251.
- [43] Mortimer, C. E., *Chemie: Das Basiswissen der Chemie*, 6. Aufl., Thieme, Stuttgart 1996.
- [44] Odell, A. F., Process of Producing Organic Acids, US 1,425,605, 1922.
- [45] O'Donnell, S., E.; Pope, M. T., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1976), S. 2290-2297.
- [46] Pasternack, R.; Brown, E. V., Preparation of D-Tartaric Acid, US 2,197,021, 1940.
- [47] Pettersson, L.; Andersson, I.; Hedman, B., *Chemica Scripta* **25** (1985), S. 309-317.
- [48] Rebelein, H., *Chem., Mikrobiol., Technol. Lebensm.* **2** (1973), S. 33-38.
- [49] Rehder, D., *Angew. Chem.* **103** (1991) Nr. 2, S. 152-172.
- [50] Rehder, D., *Magnetic Resonance Review* **9** (1984) Nr. 1-3, S. 125-237.
- [51] Rehder, D., Persönliche Mitteilung.
- [52] Rehder, D.; Holst, H.; Quaas, R.; Hinrichs, W.; Hahn, U.; Saenger, W., *J. Inorg. Biochem.* **37** (1989), S. 141-150.
- [53] Saito, K., *Phytochem.* **31** (1992) Nr. 4, S. 1219-1222.
- [54] Scheidt, W. R.; Collins, D. M.; Hoard, J. L., *J. Am. Chem. Soc.* **93** (1971), S. 3873-3877.
- [55] Scheidt, W. R.; Countryman, R.; Hoard, J. L., *J. Am. Chem. Soc.* **93** (1971), S. 3878-3882.
- [56] Schlesinger, K.; Meisel, M.; Ladwig, G.; Kubias, B.; Weinberger, R.; Seeboth, H. (Akademie der Wissenschaften der DDR), Vanadium phosphate oxidation catalysts for maleic anhydride manufacture, Ger. (East) 256659 A1, 1988; Chem. Abstr. 110(14).
- [57] Schwendt, P.; Petrovic, P.; Uskert, D., *Z. anorg. allg. Chem.* **466** (1980), S. 232-236.
- [58] Stetter, H.; Dämbkes, G., *Synthesis* (1977), S. 403-404.
- [59] Stetter, H.; Rämisch R. Y.; Kuhlmann, H., *Synthesis* (1976), S. 733-735.

- [60] Stoltzberg, S., Process for the Preparation of Tartaric Acid Values, US 2,380,196, 1945.
- [61] Stomberg, R., *Acta Chem. Scand.* **A 39** (1985), S. 725-731.
- [62] Tracey, A. S.; Gresser, M. J.; Galeffi, B., *Inorg. Chem.* **27** (1988), S. 157-161.
- [63] Tracey, A. S.; Gresser, , *Inorg. Chem.* **27** (1988), S. 1269-1275.
- [64] Tracey, A. S.; Gresser, M. J.; Parkinson, K. M., *Inorg. Chem.* **26** (1987), S. 629-638.
- [65] Yamada, K.; Minoda, Y.; Kodama, T.; Kotera, U., Novel Process of Producing L(+)-Tartaric Acid, US 3,585,109, 1971.