

Schwefel-Isotopenaustausch und Disproportionierung bei Thiosulfat in chemischen und mikrobiellen Systemen

Diplomarbeit am Max-Planck-Institut
für Marine Mikrobiologie, Bremen

Jan Kaiser
Universität Bremen
5. November 1998

Mein Auge war aufs hohe Meer gezogen ...

(Faust, 2. Teil, IV. Akt)

Gutachter

Prof. Dr. Wolfgang Balzer, Fachbereich Biologie/Chemie, Universität Bremen

Prof. Dr. Bo Barker Jørgensen, Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, Bremen,
und Fachbereich Geowissenschaften, Universität Bremen

0 Inhaltsverzeichnis

0	Inhaltsverzeichnis	5
1	Zusammenfassung	8
2	Einleitung und Grundlagen	9
2.1	Bedeutung von Thiosulfat im Schwefelkreislauf der Sedimente	9
2.2	Struktur von Thiosulfat	12
2.3	Biochemie der Thiosulfatdisproportionierung	12
3	Synthese von $^{35}\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	15
3.1	Chemische Charakterisierung und radiochemische Synthese	15
3.1.1	Bildung von Thiosulfat aus Schwefel und Sulfit	15
3.1.2	Saure Zersetzung von Thiosulfat	16
3.1.3	Säurekonstanten	17
3.1.4	Redoxchemie	18
3.1.5	Methoden zur Darstellung von ^{35}S -Verbindungen	19
3.1.6	Alternative Darstellungsmethoden für $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	20
3.2	Material und Methoden	21
3.2.1	Reinheit der Ausgangsstoffe	21
3.2.2	Auflösung von elementarem Schwefel in wäßriger Sulfitlösung in der Siedehitze	22
3.2.3	Homogenisierung einer organischen Schwefellösung und einer wäßrigen Sulfitlösung mit Methanol	23
3.2.4	Synthese im Ultraschallbad	24
3.2.5	Aufreinigung des dargestellten Thiosulfats	24
3.2.6	Thiosulfat- und Tetrathionat-HPLC	25
3.2.7	Sulfit-HPLC	26
3.2.8	Schwefel-HPLC	28
3.2.9	Sulfat-Ionenchromatographie	28
3.2.10	Sulfidbestimmung (Methylenblau-Methode)	29
3.2.11	Radioaktivitätsmessungen	30
3.2.12	Untersuchung der Lagerungsstabilität einer Sulfitlösung	31

3.3	Resultate	32
3.3.1	Reinheit der Ausgangsstoffe	32
3.3.2	Auflösung von elementarem Schwefel in wäßriger Sulfitlösung in der Siedehitze	34
3.3.3	Homogenisierung einer organischen Schwefellösung und einer wäßrigen Sulfitlösung mit Methanol	37
3.3.4	Synthese im Ultraschallbad	37
3.3.5	Aufreinigung des dargestellten Thiosulfats	37
3.3.6	Thiosulfat- und Tetrathionat-HPLC	39
3.3.7	Untersuchung der Lagerungsstabilität einer Sulfitlösung	40
3.4	Diskussion	41
3.4.1	Reinheit der Ausgangsstoffe	41
3.4.2	Auflösung von elementarem Schwefel in wäßriger Sulfitlösung in der Siedehitze	42
3.4.3	Homogenisierung einer organischen Schwefellösung und einer wäßrigen Sulfitlösung mit Methanol	43
3.4.4	Herstellung im Ultraschallbad	44
3.4.5	Aufreinigung des dargestellten Thiosulfats	44
3.4.6	Thiosulfat- und Tetrathionat-HPLC	44
4	Austauschexperimente	45
4.1	Isotopenaustauschreaktionen zwischen Thiosulfat und anderen Schwefelverbindungen in wäßriger Lösung	45
4.2	Verwendung von Polysulfid	49
4.3	Material und Methoden	50
4.3.1	Vorversuche	53
4.3.2	Kontrollen	54
4.3.3	Austauschexperiment 0: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C	55
4.3.4	Austauschexperiment 1: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C	55
4.3.5	Austauschexperiment 2: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 80 °C	56
4.3.6	Austauschexperiment 3: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 80 °C	57
4.3.7	Austauschexperiment 4: $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C und 80 °C	57
4.3.8	Trennung von Zinksulfid und Thiosulfat	58
4.3.9	Auftrennung der Sulfan- und Sulfonat-Schwefelatome im Thiosulfat	60
4.4	Resultate	61
4.4.1	Vorversuche	62
4.4.2	Kontrollen	63
4.4.3	Austauschexperiment 0: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C	68
4.4.4	Austauschexperiment 1: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C	68
4.4.5	Austauschexperiment 2: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 80 °C	72
4.4.6	Austauschexperiment 3: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 80 °C	75
4.4.7	Austauschexperiment 4: $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C und 80 °C	77
4.4.8	Trennung von Zinksulfid und Thiosulfat	81
4.4.9	Auftrennung der Sulfan- und Sulfonat-Schwefelatome im Thiosulfat	82
4.5	Diskussion	84
4.5.1	Sulfidbestimmung (Methylenblau-Methode)	84
4.5.2	Filtrierbarkeit des Zinksulfid-/Schwefel-Niederschlags	86
4.5.3	Austauschexperimente	86
4.5.4	Kinetische Abschätzung des zu erwartenden Isotopenaustauschs – Vergleich mit den Experimenten	88

5	Ausblick	97
	5.1 Weitere Untersuchungen	97
	5.2 Danksagungen	97
6	Literaturverzeichnis	99
7	Tabellenverzeichnis	108
8	Abbildungsverzeichnis	109

1 Zusammenfassung

Mit dieser Arbeit wurde ein Verfahren zur Synthese radioaktiven Thiosulfats etabliert. Die Markierung mit ^{35}S kann sich dabei sowohl am äußeren (Sulfan-) als auch am inneren (Sulfonat-) Schwefelatom befinden. Die Ausgangsprodukte $^{35}\text{S}^0$ und $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_3$ sind kommerziell erhältlich.

Die Reinheiten der dargestellten Verbindungen wurde per HPLC chemisch und radiochemisch untersucht. Sie lagen für das am äußeren Schwefel markierte Molekül ohne besondere Aufreinigungsschritte bei 92 bis 96 %. Beim am inneren Schwefel markierten Molekül lagen die radiochemischen Reinheiten nur um 10 %, weil das Ausgangsprodukt stark mit Sulfat (ca. 75 %) und einer nicht zu identifizierenden Verbindung verunreinigt war (ca. 13 %).

Mit dem am äußeren Schwefelatom markierten Thiosulfat wurden Versuche zum Isotopenaustausch mit Hydrogensulfid/Schwefelwasserstoff und mit Polysulfid/Hydrogensulfid/Schwefelwasserstoff in anoxischem, deionisiertem Wasser durchgeführt. Probleme gab es bei der Wahl eines geeigneten Reaktionsgefäßes, weil sich die ursprünglich vorgesehenen gasdichten Glasspritzen mit Teflondichtungen als ungeeignet herausstellten.

Dazu waren Methoden zur Trennung von Thiosulfat und Sulfid und zur Trennung des äußeren und inneren Schwefelatoms im Thiosulfat zu entwickeln, um die Aktivitäten der einzelnen Fraktionen zu bestimmen. Die erste Trennung wurde durch Fällung mit Zinksalzen, die zweite durch Zersetzung mit Silbernitrat und anschließender Auflösung des Silbersulfidniederschlags in Kaliumcyanid-Lösung bewerkstelligt.

Mit Hydrogensulfid/Schwefelwasserstoff allein fand weder bei 20 °C noch bei 80 °C ein Isotopenaustausch statt. War zusätzlich Polysulfid anwesend, konnte bei 80 °C ein langsamer Austausch festgestellt werden.

Der experimentell gefundene Austausch wurde mit theoretisch zu erwartenden und in einem natürlichen Sediment gefundenen Werten verglichen. Das Ausmaß war zu gering, um einen Isotopenaustausch, wie er für Thiosulfat mit anderen reduzierten Schwefelverbindungen in Sedimenten postuliert wurde, rein chemisch zu erklären.

In einem hypersalinen Teich mit hohen Konzentrationen reduzierter Schwefelverbindungen wurden Untersuchungen zur Rolle von Thiosulfat im Schwefelkreislauf der Wassersäule vorgenommen.

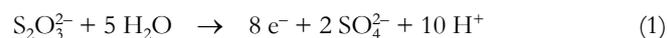
2 Einleitung und Grundlagen

2.1 Bedeutung von Thiosulfat im Schwefelkreislauf der Sedimente

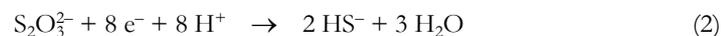
Thiosulfat, $S_2O_3^{2-}$, ist ein vergleichsweise reaktives Zwischenprodukt des natürlichen Schwefel-Redoxkreislaufs der Sedimente [CANFIELD & THAMDRUP 1996, THAMDRUP ET AL. 1994, ELSGAARD & JØRGENSEN 1992, JØRGENSEN & BAK 1991, FOSSING & JØRGENSEN 1990a, JØRGENSEN 1990a, JØRGENSEN 1990b]. In der Wassersäule tritt es wegen seiner Kurzlebigkeit meist nur in geringen Konzentrationen auf ($<1 \mu\text{mol/l}$, verglichen mit der dominierenden Schwefelverbindung im Meerwasser, SO_4^{2-} , deren mittlere Konzentration bei 28 mmol/kg liegt [LIBES 1992, S.683]).

Es kann drei miteinander konkurrierende Redoxreaktionen eingehen:

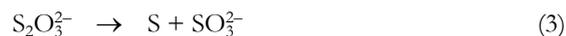
1. Chemische oder bakterielle Oxidation, z. B. zu Sulfat:



2. Bakterielle Reduktion, z. B. zu Hydrogensulfid:



3. Bakterielle Disproportionierung, z. B. zu Schwefel und Sulfit (endergonisch) oder Hydrogensulfid und Sulfat (exergonisch):



Als Oxidationsprodukte kommen auch Polythionate (vor allem Tri-, Tetra- und Pentathionat) und Sulfit in Frage, als Reduktionsprodukte auch noch H_2S und – indirekt – Schwefel und Polysulfide.

Da Thiosulfat gegen eine rein chemische Oxidation kinetisch relativ inert ist (vgl. 3.1.4), spielt die bakterielle Oxidation wahrscheinlich eine größere Rolle. Als Elektronenakzeptoren in Reaktion (1) können zum Beispiel O_2 , NO_3^- Manganoxide und (in geringerem Maße) Eisenoxyhydroxide fungieren [ELSGAARD & JØRGENSEN 1992, CANFIELD & THAMDRUP 1996], als Elektronendonator in Reaktion (2) agiert meist organischer Kohlenstoff (C_{org}), seltener H_2 [SINGLETON 1993].

Bei der 1987 zuerst beschriebenen Disproportionierung [BAK & CYPIONKA 1987, BAK & PFENNIG 1987] werden gemäß Reaktion (4) Sulfat und Sulfid in äquimolaren Mengen gebildet. Es gibt aber Hinweise, daß Reaktion (3) durch sulfatreduzierende Bakterien katalysiert wird [CYPIONKA ET AL. 1998]. Die Produkte Schwefel und Sulfid sollen dann in einem zweiten Schritt weitere Disproportionierungsreaktionen zu Sulfat und Sulfid eingehen.

Die relativen Anteile von Oxidation, Reduktion und Disproportionierung variieren mit der Tiefe und dem Redoxzustand des Sediments. Disproportionierung kann im Übergangsbereich zwischen oxischer und suboxischer Zone mehr als 60 % des Thiosulfat-Umsatzes ausmachen. In den tieferen anoxischen Sedimentschichten nimmt die Reduktion langsam überhand [JØRGENSEN & BAK 1991, FOSSING & JØRGENSEN 1990].

Die drei Prozesse lassen sich durch parallele Inkubation je einer Sediment- bzw. Mikrobenmattenprobe [JØRGENSEN & BAK 1991, FOSSING & JØRGENSEN 1990, JØRGENSEN 1990a, JØRGENSEN 1990b bzw. JØRGENSEN 1994] mit am äußeren bzw. inneren Schwefelatom markierten Thiosulfat quantifizieren (zur Bezeichnungsweise vgl. den folgenden Abschnitt 2.2). Dabei wird ausgenutzt, daß die Bildung radioaktiven Sulfats beim Umsatz außen markierten Thiosulfats nur durch komplette Oxidation des Moleküls, die Bildung radioaktiven Sulfids beim Umsatz innen markierten Thiosulfats nur durch komplette Reduktion möglich ist. Die Differenz zum ebenfalls zu messenden Gesamtumsatz entspricht dann der Disproportionierung, vorausgesetzt, beide Thiosulfatformen werden gleich schnell metabolisiert.

Nicht immer scheint diese Grundvoraussetzung aber erfüllt zu sein, obwohl man kaum einen großen Unterschied für den Umsatz der beiden unterschiedlich markierten Verbindungen erwarten dürfte:

HENRIK FOSSING [unveröffentlichte Ergebnisse] hat im September 1991 ein solches Experiment mit Sedimentproben aus dem Kattegat/Ostsee durchgeführt, in der Art, wie es in FOSSING & JØRGENSEN (1990b) beschrieben wurde. Er fand innerhalb eines Tages einen wesentlich größeren Umsatz an außen markiertem Thiosulfat als an innen markiertem (Abbildung 2-1a). Er nahm an, daß ein Isotopenaustausch zwischen Thiosulfat und anderen reduzierten Schwefelverbindungen diese Beobachtung erklären könnte. Bemerkenswert sind auch die hohen *in situ*-Konzentrationen an Sulfid und Thiosulfat (Abbildung 2-1b).

Zu untersuchen, ob ein solcher Austausch unter kontrollierten Laborbedingungen stattfindet und ob damit eine solche Diskrepanz zwischen den Metabolisierungsraten der beiden Thiosulfatformen erklärt werden kann, sollte ein Ziel dieser Arbeit sein.

Dazu sollte zunächst ein Verfahren etabliert werden, um radioaktives Thiosulfat herzustellen. Nur sehr kleine Eduktmengen im mg-Bereich durften eingesetzt werden, um eine möglichst hohe spezifische Aktivität im Endprodukt zu erreichen.

Geeignete Trennungs- und Quantifizierungsmethoden für die verschiedenen Schwefelspezies waren gleichfalls zu entwickeln oder anzupassen. Danach konnten die Isotopenaustauschexperimente zwischen Sulfid und Thiosulfat sowie zwischen Polysulfid, Sulfid und (außen) markiertem Thiosulfat durchgeführt werden.

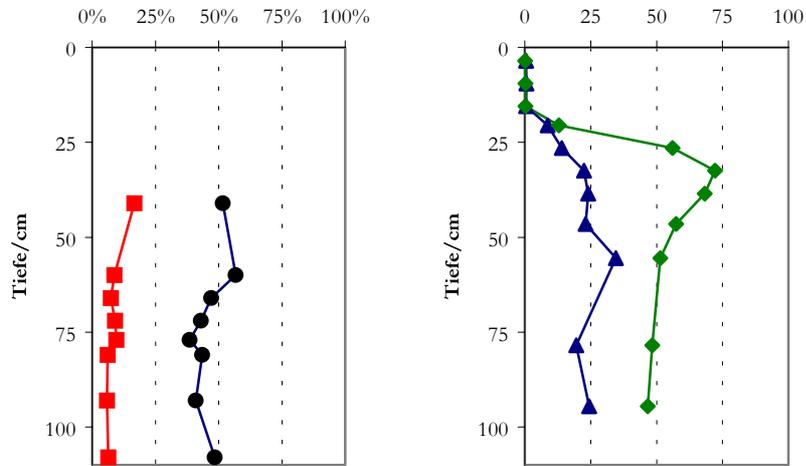


Abbildung 2-1a (links): Umsatz an innen (■) und außen (●) markiertem Thiosulfat (ausgedrückt als Anteil am gesamten wiedergefundenen ^{35}S) [nach HENRIK FOSSING]
 Abbildung 2-1b (rechts): Konzentrationen von Sulfit (▲) und Thiosulfat (◆), jeweils in $\mu\text{mol/l}$ [nach HENRIK FOSSING]

Während eines letzten Abschnitts sollten die hergestellten Thiosulfat-Tracer für Inkubationen zur Quantifizierung der relativen Anteile der genannten drei Redoxreaktionen im sogenannten „Solar Lake“ (Sinai/Ägypten) eingesetzt werden. Dazu war auch am inneren Schwefelatom markiertes Thiosulfat notwendig.

Letzteres waren wahrscheinlich die ersten Versuche dieser Art zum Thiosulfatumsatz in der Wassersäule. Erwartet wurden ähnliche Prozesse wie sie in Mikrobematten und Sedimenten auftreten, nur auf einer anderen Größenskala.

Der 4 bis 6 m tiefe „Solar Lake“ liegt etwa zwanzig Kilometer südlich vom Grenzübergang Taba/Eilat nach Israel. Er ist an drei Seiten von Felswänden umgeben und nur zum Golf von Akaba (Teil des Roten Meers) hin offen. Der Teich ist durch Landhebung entstanden und nun durch eine 60 m breite Kiesbarriere vom Meer getrennt. Durch diese sickert Seewasser ein, das kontinuierlich verdunstet und eine relativ salzarme, oberflächennahe Schicht bildet (Salinität: 70 ‰). Der Teich weist eine ausgeprägte Stratifizierung auf. In der Tiefe steigt die Salinität auf 180 bis 190 ‰ [COHEN ET AL. 1977]. Die Thiosulfatkonzentrationen in der Wassersäule können bis $300 \mu\text{mol/l}$, die Sulfidkonzentrationen $1,7 \text{ mmol/l}$ erreichen [JØRGENSEN ET AL. 1979, persönliche Mitteilung von JAKOB ZOPFI, MPI Bremen].

Die Sedimente am Ufer des Teichs bestehen aus bis zu 1 m dicken Bakterienmatten, deren Schwefelkreislauf von JØRGENSEN & COHEN (1977) untersucht wurde. Aus diesen Bakterienmatten wurde das erste marine thiosulfatdisproportionierende Bakterium isoliert, *Desulfovibro oxyclinae* [KREKELER ET AL. 1997].

In der Chemokline der Wassersäule finden sich Cyanobakterien, die zwischen anoxygener Photosynthese mit Elementarschwefelbildung morgens und oxygener Photosynthese am Nachmittag umschalten können [JØRGENSEN ET AL. 1979].

Das Redoxverhalten des Thiosulfats in der Wassersäule sollte durch Entnahme von Wasserproben aus unterschiedlichen Tiefen, Versetzen mit Tracer und Inkubationen im Teich unter *in situ*-Bedingungen für unterschiedliche Zeitdauern untersucht werden.

Für die Abtrennung des Thiosulfats vom Sulfat waren Derivatisierungen mit 2,2'-Dithiobis(5-nitropyridin) (DTNP) geplant [THAMDRUP ET AL. 1994], konnten bis jetzt jedoch aufgrund von methodischen Problemen nicht durchgeführt werden.

2.2 Struktur von Thiosulfat

Die Struktur von Thiosulfat (Abbildung 2-2) gleicht der des Sulfats, mit dem Unterschied, daß eines der Sauerstoffatome durch ein Schwefelatom ersetzt ist. Thiosulfat enthält damit zwei chemisch nichtäquivalente Schwefelatome, was auch in der systematischen Bezeichnung Monosulfansulfonat zum Ausdruck kommt.

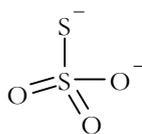


Abbildung 2-2: Struktur des Thiosulfat-Ions

Nach den formalen Regeln zur Bestimmung der Oxidationsstufen [vgl. etwa RIEDEL 1990, S. 319] kommt unter der Annahme einer S-S-Einfachbindung dem äußeren Sulfan-Schwefelatom die Oxidationsstufe $-I$, dem inneren Sulfonat-Schwefelatom die Oxidationsstufe $+V$ zu. Dies konnte durch XANES¹-Spektroskopie bestätigt werden [VAIRAVAMURTHY ET AL. 1993]. Die früher vertretene Meinung [SCHMIDT 1972], daß den Schwefelatomen die Oxidationsstufen $-II$ und $+VI$ in Analogie zum Sulfat zuzuweisen sind, muß daher genauso zurückgewiesen werden wie der Schluß, daß aufgrund von Überlegungen zum Doppelbindungscharakter der S-S-Bindung die Oxidationsstufen 0 und $+IV$ betragen müssen [KONOPIK 1953]. Tatsächlich beträgt die Mulliken-Atomladung des äußeren Schwefelatoms im Thiosulfatdianion $-0,4$, im Monoanion $-0,3$ [MEYER ET AL. 1976], die S-S-Bindungslängen liegen mit 198 pm zwischen dem für eine Einfachbindung (205 pm) und dem für eine Doppelbindung (188 pm) erwarteten Wert [MIASKIEWICZ & STEUDEL 1992]. Die Oxidationsstufe des äußeren Schwefelatoms läge damit zwischen $-I$ und 0 .

2.3 Biochemie der Thiosulfatdisproportionierung

Thiosulfat ist ein Zwischenprodukt bei der dissimilatorischen Sulfatreduktion² [WIDDEL & HANSEN 1991] und kann auch direkt von den meisten Sulfatreduzierern als Substrat verwendet werden. Thiosulfat entsteht ebenfalls bei der biologischen oder chemischen Oxidation von Sulfid/Polysulfid/Schwefel. Es kann weiter zu Tetrathionat oder Sulfat oxidiert werden [KELLY ET AL. 1997].

¹ X-Ray Absorption Near-Edge Structure

² Reduktion zu H_2S , im Gegensatz zur assimilatorischen Sulfatreduktion, bei der organische Schwefelverbindungen aufgebaut werden

Die dritte Weg des Thiosulfatmetabolismus ist die sogenannte „Disproportionierung“ (zur Korrektheit dieses Terminus vgl. 3.1.1) zu Sulfat und Sulfid. Sie wird von den gleichen Enzymen katalysiert wie die Sulfatreduktion [CYPIONKA 1995]. Laborversuche zeigen, daß 8 von 19 untersuchten Stämmen von Sulfatreduzierern auch Thiosulfat disproportionieren können [KRÄMER & CYPIONKA 1989]. Einige Thiosulfat-Disproportionierer (z. B. *Desulfovibrio sulfodismutans* [BAK & PFENNIG 1987], *Desulfocapsa thiozymogenes* [JANSSEN ET AL. 1996], *Desulfovibrio oxyclinae* [KREKELER ET AL. 1997] oder *Desulfocapsa sulfoexigens* [FINSTER ET AL. 1998]) können diese Reaktion als alleinige Energiequelle zum Wachstum nutzen. Sie sind auch in der Lage, unter Disproportionierung von Sulfit oder manchmal Elementar-Schwefel zu wachsen. Andere von ihnen (wie *Desulfobulbus propionicus*) disproportionieren zwar Thiosulfat, aber ohne zu wachsen.

Die Enzymatik der Sulfatreduktion ist schon sehr gut untersucht [Übersichten z. B. in AKAGI 1995, PECK 1993, FISCHER 1984], hauptsächlich an Arten der Gattungen *Desulfovibrio* und *Desulfotomaculum*, aber die Interpretation der Daten ist alles andere als einfach. Insbesondere zur Bisulfitreduktion (Reaktion 6 in Tabelle 2-1) werden derzeit zwei unterschiedliche Mechanismen diskutiert: Der eine beinhaltet einen 6-Elektronen-Reduktionsschritt von Sulfit (bzw. Bisulfit) zu Sulfid [PECK & LEGALL 1982], während der andere über die Zwischenprodukte Trithionat und Thiosulfat abläuft [AKAGI 1981]. Bei der Thiosulfatdisproportionierung spielt die Bisulfit-Reduktase möglicherweise auch eine Rolle [CYPIONKA ET AL. 1998].

Der Energiegewinn bei der Thiosulfatdisproportionierung unter Standardbedingungen³ und pH=7 ist mit $\Delta_R G^\circ = -21,9$ kJ/mol [BAK & CYPIONKA 1987] nur sehr gering. Um die tatsächlichen bioenergetischen Verhältnisse *in vivo* (im Bakterium) berechnen zu können, muß man die Substratkonzentrationen kennen.

Nr.	Enzym	Reaktion	$\Delta_R G^\circ$ in kJ/mol
1	Thiosulfat-Reduktase	$S_2O_3^{2-} + H_2 \rightarrow HSO_3^- + HS^-$	-2,1
2	APS-Reduktase	$HSO_3^- + AMP + H^+ \rightarrow APS + H_2$	+68,8
3	Pyrophosphatase	$2 P_i \rightarrow PP_i + H_2O$	+21,9
4	ATP-Sulfurylase	$APS + PP_i \rightarrow SO_4^{2-} + 2 H^+ + ATP$	-46,0
5	ADP-Sulfurylase	$APS + P_i \rightarrow SO_4^{2-} + 2 H^+ + ADP_3^-$	-55,9
6	Bisulfit-Reduktase	$HSO_3^- + 3 H_2 \rightarrow HS^- + 3 H_2O$	-171,1
7	Bisulfit-Oxidoreduktase	$HSO_3^- + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + H_2 + H^+$	-19,7
8	Rhodanese⁴	$S_2O_3^{2-} \rightarrow SO_3^{2-} + S$	+26,8
9	Schwefel-Reduktase	$S + H_2 \rightarrow HS^- + H^+$	-28,0
10	ATPase	$ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_i$	-31,8
11	Adenylat-Kinase	$ATP + AMP \rightarrow 2 ADP$	+0
12	(nicht biologisch)	$ATP + 2 H_2O \rightarrow AMP + 2 P_i$	-63,6

Tabelle 2-1: Änderungen der freien Enthalpien bei Reaktionen, die im Zusammenhang mit der Thiosulfat- und Sulfitdisproportionierung diskutiert wurden

³ (chemische) Aktivitäten (außer H^+) $a_i=1$, $T=298,15$ K, $p=101325$ Pa. Es geht in dieser Arbeit jeweils aus dem Zusammenhang hervor, ob es sich um chemische (\hat{A}) oder radiochemische (\hat{A}) Aktivitäten handelt, und wird nicht besonders unterschieden.

⁴ eine Thiosulfat-Schwefel-Transferase. Rhodanese speziell überträgt ein Schwefelatom aus Thiosulfat auf ein Cyanid-Molekül unter Bildung von Thiocyanat („Rhodanid“) [BURTON & AKAGI 1971].

KRÄMER & CYPIONKA (1989) schlossen, daß Bakterien die frei werdende Energie durch Substratkettenphosphorylierung über ATP-Sulfurylase in Form von ATP (Adenosin-5'-phosphosulfat) speichern können. Dabei soll Sulfat aus APS (Adenosin-5'-phosphosulfat) in Umkehrung des Sulfataktivierungsweges bei der Sulfatreduktion gebildet werden.

In ihrer Studie betrachteten die Autoren die folgenden Enzyme und Reaktionen mit ihren jeweiligen Änderungen der freien Enthalpie (Tabelle 2-1). Die letzten beiden Zeilen wurde von mir ergänzt [nach THAUER ET AL. 1977], wobei sich Reaktion 12 aus den Reaktionen 10 und 11 berechnen läßt.

Die Disproportionierungsreaktion erfordert – anders als die Sulfatreduktion – einen umgekehrten Elektronentransport (d. h. von einem höheren Redoxpotential auf ein niedrigeres), weil das Redoxpotential der von Nr. 1 abgeleiteten Halbreaktion (Reduktion von Thiosulfat) tiefer liegt (-403 mV) als das der von der APS-Reduktase freigesetzten Elektronen (-59 mV).

Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß die Reaktionen 1 bis 4 an der Thiosulfatdisproportionierung beteiligt sind, nicht jedoch 5, 7, 8 und 9. Das heißt, daß zwei endergone Schritte überwunden werden müssen. Zieht man die Energiebilanz aus den Reaktionen 1 bis 4, so kommt man auf $\Delta_R G^{\circ} = +42,4$ kJ/mol. Das bedeutet, daß – um netto Energie zu gewinnen – ein Teil der durch ATP-Sulfurylase als ATP gespeicherten Energie wieder in die Bildung energiereicher Phosphorsäureesterbindungen hineinsteckt werden muß. Grob geschätzt (ohne Berücksichtigung der tatsächlichen $\Delta_R G^{\circ}$ -Werte bei *in vivo*-Konzentrationen und der thermodynamischen Effizienz der Energieumwandlung) kann man im Mittel nur etwa $0,34$ mol ATP ($= -21,9 / -63,6$) pro mol Thiosulfatumsatz erwarten.

3 Synthese von $^{35}\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

Zunächst werden in diesem Kapitel einige Grundlagen zur Thermodynamik und Reaktivität von Thiosulfat in Beziehung zu anderen Schwefelverbindungen dargestellt. Dann sollen Material und Methoden zur Darstellung und Produktanalyse beschrieben werden. Zum Schluß werden die Ergebnisse der Versuche präsentiert und diskutiert.

In den Produkten der Thiosulfat-Synthesen wurden die Konzentrationen der folgenden Schwefel-Verbindungen gemessen: $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , S^0 und $\Sigma\text{H}_2\text{S}^5$. Für die ersten fünf Verbindungen wurden dazu chromatographische Trennmethode verwendet. Es wurde kein Methodenvergleich vorgenommen, obwohl es zum Beispiel möglich wäre, Thiosulfat sowohl durch UV-Detektion, ionenchromatographisch oder auch als Biman-Derivat nachzuweisen.

In einigen wenigen Fällen wurde auch die korrekte Position des ^{35}S -Atoms im Endprodukt überprüft. Die notwendige Methodik dazu ist unter 4.3.9 dargestellt.

3.1 Chemische Charakterisierung und radiochemische Synthese

3.1.1 Bildung von Thiosulfat aus Schwefel und Sulfit

Die Bildungsreaktion von Thiosulfat aus Sulfit und Schwefel (5) wird meist als Komproportionierung bezeichnet, der Zerfall als Disproportionierung [JØRGENSEN 1990a, 1990b]. Dies impliziert, wenn man von der allgemeinen Definition des Begriffs „Disproportionierung“ [z. B. HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 227] ausgeht, daß man den Schwefelatomen im Thiosulfatmolekül eine mittlere Oxidationsstufe von +II zuweist. Tatsächlich sollte man aber nach den Erläuterungen in 2.2 von einer gleichzeitigen Oxidation und Reduktion sprechen, denn schon die Ausgangsoxidationsstufen im Thiosulfat sind unterschiedlich.

⁵ $\Sigma\text{H}_2\text{S}$ wird als Abkürzung für $\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^- + \text{S}^{2-}$ und die Bezeichnung „Sulfidlösung“ unabhängig von der tatsächlichen Speziation verwendet.

Mechanistisch stellt die Reaktion zwischen Sulfit und elementarem Schwefel (*cyclo*-Octaschwefel, S₈) zu Thiosulfat eine bimolekulare nukleophile Substitution (S_N2) dar [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 482]. Der nukleophile Angriff von SO₃²⁻ auf S₈ führt unter Ringöffnung zu einem Octasulfansulfonat S₈SO₃²⁻, das durch weitere nukleophile Angriffe am jeweils zur SO₃²⁻-Gruppe β-ständigen Schwefelatom zu Heptasulfansulfonat, Hexasulfansulfonat usw. bis zu Monosulfansulfonat (=Thiosulfat) abgebaut wird. MEYER ET AL. (1976) stimmen diesem Mechanismus zu, sehen jedoch aufgrund von Berechnungen der Ladungsverteilung mit einem erweiterten Hückel-Modell im basischen Medium die Sulfangruppe der Polysulfansulfonate, S_nSO₃²⁻, (und nicht das Sulfit-Molekül) als Nukleophil an. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion ist die Ringöffnung, während die Polysulfansulfonate nicht isolierbare Zwischenprodukte sind.

Die Reaktion zwischen Sulfit und Schwefel ist eine Gleichgewichtsreaktion, die in alkalischer Lösung wie folgt formuliert werden muß (der pK_s-Wert des HSO₃⁻/SO₃²⁻-Paars liegt nach Tabelle 3-1 bei 7,2):



Die freie Bildungsenthalpie für das Sulfiton beträgt -486,6 kJ/mol [STUMM & MORGAN 1996], für das Thiosulfation -513,4 kJ/mol [MEL ET AL. 1956]. Daraus errechnet sich die freie Reaktionsenthalpie unter Standardbedingungen zu Δ_RG°=-26,8 kJ/mol. Die Gleichgewichtskonstante K beträgt dann 4,96·10⁴.

Um die Gleichgewichtskonstante der Reaktion bei 100 °C (398,15 K) – entsprechend der siedenden Reaktionslösung – zu berechnen, muß die molare Reaktionsentropie Δ_RS bekannt sein. Diese beträgt +60 J K⁻¹ mol⁻¹, berechnet aus den partiellen molaren Entropien von α-S₈ (+31,8 J K⁻¹ mol⁻¹), SO₃²⁻ (-29 J K⁻¹ mol⁻¹) und S₂O₃²⁻ (+62,8 J K⁻¹ mol⁻¹). Unter Annahme einer temperaturunabhängigen Reaktionsenthalpie (Δ_RH) und -entropie (Δ_RS) ergibt sich damit Δ_RG(100 °C) nach Gleichung (6) zu -20,8 kJ/mol, K(100 °C) beträgt 536.

$$\Delta_R G(T_2) = \Delta_R G(T_1) + \int \Delta_R S \, dT \quad (6)$$

Man erkennt auf diese Weise, daß das Gleichgewicht bei beiden Temperaturen weit auf der rechten Seite liegt. Trotzdem läuft die Reaktion aus kinetischen Gründen (vor allem wegen des kaum löslichen Schwefels) bei Raumtemperatur in wäßriger Lösung nur sehr langsam ab. Wie die Darstellung bei 20 °C innerhalb weniger Sekunden aber doch gelingt, ist unter 3.2.3 beschrieben.

3.1.2 Saure Zersetzung von Thiosulfat

Anders als bei der Thiosulfat-Bildung in neutraler und leicht alkalischer Lösung liegen die Verhältnisse in saurer Lösung, weil das Sulfiton dann durch Bildung von Schwefeldioxid aus dem Gleichgewicht gezogen wird:



Beim Ansäuern von Thiosulfatlösungen erfolgt in Umkehrung von Reaktion (5) ein Schwefelkettenaufbau, der zu *cyclo*-Hexaschwefel, *cyclo*-Heptaschwefel und *cyclo*-Octaschwefel führt. Falls das gebildete SO₂ nicht entweichen kann, man also im ge-

geschlossenen System arbeitet, entstehen auch Polythionsäuren und Polythionate [DAVIS 1958, HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 521]. Der tatsächliche Mechanismus ist bimolekular wie AGARWALA ET AL. (1965) und XU & SCHOONEN (1995) zeigen konnten:



Über die saure Zersetzung von Thiosulfat wurden lange viele Vermutungen angestellt [vgl. etwa GIL & BEATO 1923, BASSETT & DURANT 1927, JANICKIS 1937, DAVIS 1958]. Inzwischen ist geklärt, daß die Reaktion komplexe Mechanismen und Gleichgewichte nach sich zieht und je nach Konzentrationsbereich, Temperatur und pH-Wert in verschiedene Richtungen laufen kann [GOROKHOVSKAYA & VOROBEVA 1985, MEYER ET AL. 1980, GMELIN-INSTITUT 1960, S. 875-894]. Oberhalb von pH 4 sind sauerstofffreie Lösungen stabil. In stärker sauren Lösungen dominieren elementarer Schwefel (S_8 , S_7 und S_6) und Hydrogensulfit (bzw. Schwefeldioxid bei hinreichender Säurezugabe) als Zerfallsprodukte; Nebenprodukte des Zerfalls sind Tri-, Tetra- und höhere Polythionate, die unter stark sauren Bedingungen, in hoch konzentrierten Lösungen oder in Gegenwart von Katalysatoren jedoch zu Hauptprodukten werden können. Auch Schwefelwasserstoff, Polysulfide und Sulfat können entstehen. Als Zwischenprodukte treten bei geeigneten Reaktionsverhältnissen hydrophile Schwefel-Sole⁶ auf [STEUDEL ET AL. 1988]. Unter speziellen Bedingungen (z. B. langsames Eintropfen verdünnter Thiosulfat-Lösungen in siedende Salzsäure) entstehen nach Reaktion (9) Sulfat und H_2S :



In stark verdünnten Thiosulfatlösungen oder bei kontinuierlicher Entfernung des SO_2 aus der Lösung tritt kaum Polythionatbildung auf, die Reaktion geht hauptsächlich zu Schwefel und Schwefeldioxid.

3.1.3 Säurekonstanten

Die Säurekonstanten (pK_s) verschiedener Schwefel-Sauerstoffsäuren sind in Tabelle 3-1 zusammengestellt (H_2SO_3 existiert dabei in wäßriger Lösung, wenn überhaupt, nur in sehr geringer Konzentration, wird hier jedoch als Kurzschreibweise für das hydratisierte Schwefeldioxid verwendet [vgl. HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 505]). Man sieht, daß Thiosulfat und Sulfat im neutralen Bereich als Dianion, Sulfit im Gleichgewicht von Monoanion und Dianion vorliegen und Sulfid im Gleichgewicht von HS^- und H_2S .

Säure	$\text{pK}_{s,1}$	$\text{pK}_{s,2}$	Referenz
$\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3/\text{HS}_2\text{O}_3^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	0,6	1,7	GMELIN-INSTITUT (1960), S. 873
$\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HSO}_4^-/\text{SO}_4^{2-}$	-3,0	2,0	HOLLEMAN & WIBERG (1985), S. 241
„ H_2SO_3 “/ $\text{HSO}_3^-/\text{SO}_3^{2-}$	1,8	7,2	STUMM & MORGAN (1996), S. 1001
$\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-/\text{S}^{2-}$	7,1	≈ 17	STUMM & MORGAN (1996), S. 96

Tabelle 3-1: Säurekonstanten von Schwefel-Sauerstoffsäuren und Schwefelwasserstoff

⁶ genannt *Raffo*-Sole, in Wasser micellenähnliche Struktur mit hydrophobem Kern aus Schwefelketten und anionischer Oberfläche aus Polythionaten

3.1.4 Redoxchemie

Mit Sauerstoff reagiert Thiosulfat nur relativ langsam: Lösungen von Thiosulfat wurden für 4 Monate bei pH=7 belüftet mit weniger als 10 % Änderung der Konzentration [COTTON, M. L., SPIRA, P. & WHEELAND, K. G., Noranda Research Centre, Pointe Claire, Québec, Canada, persönliche Mitteilung an ROLIA & CHAKRABARTI 1982]. XU & SCHOONEN (1995) fanden erst im Sauren (pH≤5) verstärkte Oxidation und konnten dies auch durch Überlegungen zu den beteiligten Grenzorbitalen des Sauerstoffs und Thiosulfat begründen.

In Tabelle 3-2 sind die Normalpotentiale E° einiger Schwefelverbindungen angegeben. Sie wurden für saure, neutrale und alkalische Lösungen berechnet.

Oxidationsstufen	Redoxpaar pH=0	Normalpotential E° (V)	Redoxpaar pH=7	Normalpotential E° (V)	Redoxpaar pH=14	Normalpotential E° (V)
VI/IV	$\text{SO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{SO}_3$	+0,16	$\text{SO}_4^{2-}/\text{HSO}_3^-$	-0,52	$\text{SO}_4^{2-}/\text{SO}_3^{2-}$	-0,94
IV/II	$\text{H}_2\text{SO}_3/\text{HS}_2\text{O}_3^-$	+0,41	$\text{HSO}_3^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	+0,02	$\text{SO}_3^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	-0,59
II/0	$\text{HS}_2\text{O}_3^-/\text{S}_8$	+0,49	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}/\text{S}_8$	-0,11	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}/\text{S}_8$	-0,73
0/-II	$\text{S}_8/\text{H}_2\text{S}$	+0,14	S_8/HS^-	-0,27	S_8/HS^-	-0,48

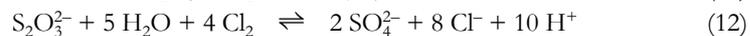
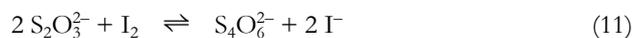
Tabelle 3-2: Normalpotentiale E° von Sulfat, Sulfit, Thiosulfat, Schwefel und Sulfid⁷

Diese Daten verdeutlichen, daß Thiosulfat in saurer Lösung in Schwefel und schweflige Säure/Schwefeldioxid ($\Delta E^\circ = +0,08$ V) *dis*proportionieren sollte. In neutralem oder alkalischem Medium erfolgt dagegen *Kom*proportionierung von Sulfit und Schwefel ($\Delta E^\circ = -0,13$ V bzw. $-0,14$ V). Dagegen könnte Thiosulfat in allen Fällen zu Sulfat und Sulfid *dis*proportionieren ($\Delta E^\circ = +0,03$ V, $+0,06$ V bzw. $+0,16$ V):



Diese Reaktion findet aus kinetischen Gründen anscheinend meist nicht statt (außer bei Reaktionen mit konzentrierten Laugen bei hohen Temperaturen oder mit konzentrierten Säuren oder bei mikrobieller Katalyse, vgl. 2.1, 2.3 und 3.1.2).

In neutraler Lösung reagiert Thiosulfat mit schwachen Oxidationsmitteln (z. B. Jod) zu Tetrathionat; $E^\circ(\text{S}_4\text{O}_6^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) = +0,17$ V, mit starken (z. B. Chlor⁸) zu Sulfat; $E^\circ(\text{SO}_4^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) = -0,5$ V:

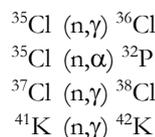


⁷ eigene Berechnungen aus thermodynamischen Daten in [THAUER ET AL. 1977]

⁸ daher der Trivialname „Antichlor“ für Thiosulfat

3.1.5 Methoden zur Darstellung von ^{35}S -Verbindungen

Radioaktiver Schwefel wird heutzutage durch Beschuß aufgereinigter KCl-Targets mit Neutronen gewonnen: $^{35}\text{Cl} (n,p) ^{35}\text{S}$. Nebenprozesse sind:



Verschiedene Darstellungsmethoden radioaktiver Schwefelverbindungen wurden von HERBER (1962) zusammengefaßt. DE LA GUERRONNIÈRE & HENRY (1958) geben ausführliche Versuchsbeschreibungen mit Skizzen und einem Foto der verwendeten Apparaturen.

Da das Target wegen der Rückstoßenergie des Kerns schon oxidiert ist, kann daraus durch wäßrige Aufarbeitung trägerfreie $\text{H}_2^{35}\text{SO}_4$ gewonnen werden. Sie dient als Ausgangsprodukt der Synthese von $^{35}\text{SO}_2$. Bei Bestrahlung mit thermischen anstelle von schnellen Neutronen entsteht kein ^{32}P ($t_{\text{H}}=14,3$ d). Die ^{42}K - und ^{38}Cl -Verunreinigungen ($t_{\text{H}}=12,4$ h bzw. $t_{\text{H}}=37$ min) verschwinden während einer ein- bis zweiwöchigen Abklingphase [ULF JACOBSEN (23.5.1996), RISØ, ROSKILDE, DÄNEMARK, persönliche Mitteilung an HENRIK FOSSING, damals MPI Bremen]. Nach einem Kationenaustausch gegen H^+ und nach der Entfernung des ^{36}Cl ($t_{\text{H}}=3,0 \cdot 10^5$ a) als H^{36}Cl durch Eindampfen mit H_2O_2 bis fast zur Trockene (zur Oxidation organischer Verunreinigungen) entsteht ein $\text{H}_2^{35}\text{SO}_4$ -Endprodukt mit jeweils weniger als 0,01 % Verunreinigungen durch ^{36}Cl oder ^{32}P .

Alternativ läßt sich das Target auch reduktiv mit naszierender HI (aus KI und NaH_2PO_2 in H_3PO_4) aufarbeiten. Das entstehende H_2^{35}S kann z. B. in einer NaOH- (als H^{35}S^-) oder einer Cd^{2+} -Falle (als Cd^{35}S) absorbiert oder direkt in einer Jodlösung mit 2 mol/l HCl als $^{35}\text{S}^0$ ausgefällt werden.

$^{35}\text{SO}_2$ gewinnt man durch reduktive Verbrennung von $\text{Ba}^{35}\text{SO}_4$ mit rotem Phosphor im getrockneten Sauerstoffstrom (Zündung über Widerstandsdraht, Ausfrieren des $^{35}\text{SO}_2$ in Kühlfalle mit flüssigem N_2 , Ausbeuten: 70 bis 97 %, <0,1 % Verunreinigung durch $^{35}\text{SO}_3$) [JOHNSON & HUSTON 1950]. Auch aus ^{35}S kann $^{35}\text{SO}_2$ hergestellt werden und zwar durch Verbrennung von ^{35}S mit O_2 [AMES & WILLARD 1951], was aber eher zu Verunreinigungen mit $^{35}\text{SO}_3$ führt. Das $^{35}\text{SO}_2$ wird dann in Natronlauge-Fallen als $\text{H}^{35}\text{SO}_3^-$ oder $^{35}\text{SO}_3^{2-}$ aufgefangen.

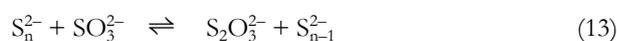
$^{35}\text{HS}^-$ entsteht durch Reduktion von $\text{Ba}^{35}\text{SO}_4$ bei 900 bis 1000 °C mit Kohlenstoff oder Wasserstoff [WELLS 1916, ATEN ET AL. 1956] oder durch Reduktion von ^{35}S mit Cr^{2+} in verdünnter HCl [FOSSING & JØRGENSEN 1990].

ANDERSEN (1936) und VOGÉ (1939) stellten ^{35}S direkt durch Neutronenbeschuß von CCl_4 , Versetzen mit nicht aktivem Schwefel-Trägermaterial und anschließendes Abdampfen des organischen Lösungsmittels her. Wahrscheinliche Nebenprodukte sind CSCl_2 , S_2Cl_2 , SCl_2 , SCCl_4 und SCl_4 , die aber entweder flüchtig sind oder in flüchtige Produkte zerfallen. AMES & WILLARD (1951) nutzten auch ^{34}S (zu 4,2 % in natürlichem Schwefel enthalten) zur ^{35}S -Gewinnung ($^{34}\text{S} (n,\gamma) ^{35}\text{S}$ -Prozeß) und führten zusätzlich eine Konversion von hochmolekularem μ -S zur löslichen λ -S-Form sowie eine Umkristallisation aus Toluol durch.

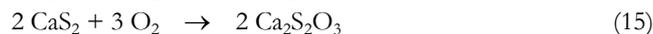
Welche von den aufgezählten Darstellungsweisen für $^{35}\text{SO}_2$ und ^{35}S bei *Amersham* angewandt wird, ist mir nicht bekannt. Jedoch wurde das Verfahren zur Darstellung von radioaktivem Thiosulfat veröffentlicht [KELLY & WOOD 1994]. Es benutzt die gleichen Ausgangssubstanzen für das am äußeren Schwefelatom markierte Thiosulfat wie in den hier vorgestellten Synthesen, verwendet jedoch $^{35}\text{SO}_2$ anstelle von Sulfit für das innen markierte Thiosulfatmolekül (letzteres wohl aus Gründen der Produktreinheit wie unter 3.4.5 erörtert).

3.1.6 Alternative Darstellungsmethoden für $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

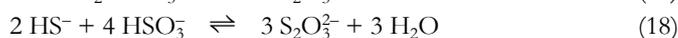
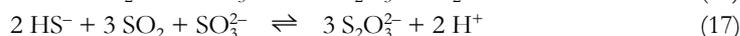
Andere Darstellungsmöglichkeiten [BEAN 1997, BARBERÁ ET AL. 1994] gehen beispielsweise von flüssigem oder festem Schwefel, Natriumhydroxid, Natriumhydrogensulfit-Lösungen und Schwefeldioxid aus, lassen sich aber jeweils auf Reaktion (5) zurückführen. Polysulfidlösungen reagieren ähnlich mit Sulfit:



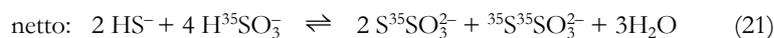
Die Luftoxidation von Polysulfiden wurde als industrieller Prozeß genutzt:



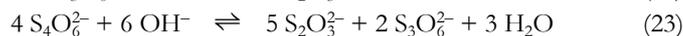
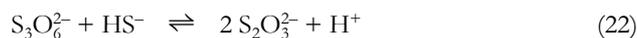
Sulfide reagieren mit Schwefeldioxid, Sulfit oder Hydrogensulfit:



Die Reaktionen (16) bis (18) sind nicht zur Darstellung innen markierten Thiosulfats geeignet, weil sie in Umkehrung der Säurehydrolyse (7) zu einem Produkt führen, bei dem sich ein Viertel der in Form von S(+IV) eingesetzten Aktivität im äußeren Schwefelatom wiederfindet [für die Stöchiometrie der Reaktion vgl. HEUNISCH 1976]:



Die vorstehenden Reaktionen werden kommerziell eingesetzt. Daneben entstehen Thiosulfate auch bei der Zersetzung von Polythionaten in alkalischer Lösung



oder bei der alkalischen Hydrolyse von Schwefel bei hohen Temperaturen:



3.2 Material und Methoden

3.2.1 Reinheit der Ausgangsstoffe

Die eingesetzten Ausgangsstoffe Schwefel und Natriumsulfit wurden in den jeweils höchsten am Markt verfügbaren Reinheiten eingesetzt: Schwefel (*Fluka*) $\geq 99.999\%$; Natriumsulfit (*Sigma*) in der Qualität *Sigmaultra* $\geq 98\%$ (tatsächliche Reinheit laut Batchanalyse: $99,67\%$). Die Reinheit der von *Amersham Buchler* (und dem Geschäftsnachfolger *Amersham Pharmacia Biotech*) gekauften Radiotracer (Schwefel und „Natriumhydrogensulfit“, das irrtümlicherweise anstelle von Natriumsulfit geliefert worden war) wurden per HPLC und fraktionierter Messung der Aktivität im Eluat gemessen.

Alle Lösungen mit oxidationsempfindlichen Substanzen wurden mit deionisiertem, gereinigtem (*Optilab Standard Water Systems, Membra-Pure*)⁹ und stickstoffgesättigtem (durch dreißigminütiges Durchblasen von N_2 zur Entfernung gelösten Sauerstoffs) Wasser angesetzt. Auch sonst wurde nur deionisiertes und gereinigtes Wasser verwendet. Die Reinheit des verwendeten Stickstoffs (*Messer Griesheim*) war vom Grad 4,0 ($99,99\%$) oder 4,6 ($99,996\%$) mit einem Anteil von ≤ 50 ppmv Sauerstoff.

Schwefel, ^{35}S , in Toluol

Die Schwefellösung wurde mit einer nominellen Aktivität von 370 MBq in 86 μl Toluol geliefert (spezifische Aktivität: 18,5 bis 92,5 GBq/mmol, Kalibrierdatum: 15.2.98). Die gemessene Aktivität betrug nur 319 MBq. Die Lösung wurde mit 32 mg Schwefel in 3 ml Toluol verdünnt (Stamm-1: 1 mmol Schwefel, 325 mmol/l).

Da ein Teil des Toluols der Schwefel-Stammlösung (Stamm-1) nach Verwendung für Synthese Nr. 9/V109 (3.2.2) durch den Deckel des Aufbewahrungsgefäßes verdunstet war¹⁰, mußten die verbliebenen 1162 μl der Lösung in ein anderes Gefäß transferiert werden. Außerdem wurde das erste Gefäß mit insgesamt 2 ml Toluol ausgespült, so daß das neue Gesamtvolumen 3162 μl betrug (Stamm-5). 2 μl davon wurden mit Methanol auf 10 ml verdünnt. 1 ml von Stamm-5 wurde mit 1 ml eines 250 $\mu mol/l$ Schwefel-Standards (in Methanol) verdünnt. Von dieser Lösung wurden je 20 μl injiziert und die Fraktionen über jeweils 0,5 Minuten gesammelt.

„Natriumhydrogensulfit“, $NaH^{35}SO_3$

Es ist interessant zu bemerken, daß Natriumhydrogensulfit nicht als Festsubstanz bekannt ist [BARBERÁ ET AL. 1994, FALBE & REGITZ 1995], jedoch von *Amersham* in angeblich dieser Form vertrieben wird. Das Datenblatt mit der Produktspezifikation behauptet zudem zur chemischen Identität:

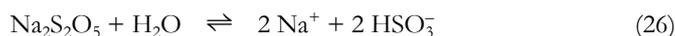
The infra-red spectrum is consistent with the proposed structure.

⁹ Im Text wird dieses deionisierte und gereinigte Wasser kurz als Wasser bezeichnet.

¹⁰ Die Lieferflasche einschließlich Deckel wurde zunächst für Stamm-1 weiter verwendet. Allerdings war dieser Deckel gegen die von 86 μl auf 3086 μl vergrößerte Toluolmenge nicht dicht genug. Das entwichene Toluol zersetzte das Styropor der Umverpackung.

Vergleicht man die Infrarot-Spektren [NYQUIST & KAGEL 1997, S. 260, 264] von $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, Na_2SO_3 und Na_2SO_4 , so scheint eine eindeutige Identifikation jeder Reinverbindung möglich zu sein, bei einer Mischung ergeben sich jedoch viele Peaküberlappungen.

Falls das Produkt durch Eindampfen oder Gefriertrocknung einer NaHSO_3 -Lösung hergestellt wurde, dürfte es sich um Natriumdisulfit, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, handeln ($M=190,11$ g/mol). Wenn man das tatsächliche Produkt $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ in Wasser löst, erhält man wieder NaHSO_3 :



Allerdings ist die Konzentration etwas höher als wenn man NaHSO_3 ($M=104,06$ g/mol) als Produkt erwartet ($2 \cdot 104,06 / 190,11 = 1,095$ mal höher). Da aber der genaue Ampulleninhalt nicht bekannt war, bin ich bei meinen stöchiometrischen Berechnungen von NaHSO_3 ausgegangen.

Der „ $\text{NaH}^{35}\text{SO}_3$ “-Tracer wurde in etwa 5 ml N_2 -gesättigtem Wasser gelöst und direkt in den Ionenchromatographen injiziert. Der Eluent wurde für diese Art Versuche mit He gesättigt, um einer Oxidation des Analyten vorzubeugen.

3.2.2 Auflösung von elementarem Schwefel in wäßriger Sulfitlösung in der Siedehitze

Elementarer Schwefel reagiert im heterogenen Gemisch mit einer wäßrigen Sulfitlösung zu Thiosulfat [WATSON & RAJAGOPALAN 1925]. Die Autoren fanden um so höhere Umsätze, je mehr Wasser sie verwendeten (d. h., je verdünnter die Lösungen waren), je höher der Schwefelüberschuß war, je höher die Temperatur lag, je schneller gerührt wurde und je länger die Reaktion dauerte. Ein wenig Natriumsulfid (1 % der Sulfitmenge) katalysierte die Reaktion.

Die Lösung wurde daher zum Sieden erhitzt und zwei bis vier Stunden unter Rühren und Rückfluß gekocht – bzw. so lange, bis nahezu aller Schwefel in Lösung gegangen war.

Zunächst wurde in (nichtradioaktiven) Vorexperimenten versucht, eine geeignete Arbeitsweise zur Natriumthiosulfatdarstellung zu finden (vgl. Tabelle 3-6, Synthesen Nr. 1 bis 6).

Später wurde im allgemeinen nach dem folgenden Protokoll zur Synthese außen markierten Thiosulfats verfahren. Die Synthese innen markierten Thiosulfats aus radioaktivem „Natriumhydrogensulfit“ erforderte leichte Abwandlungen.

Am Ende der Synthesen wurden die Aktivitäten der Produkte gemessen und einer fraktionierenden Ionenchromatographie unterworfen, um die radiochemische Reinheit zu bestimmen. Gleichzeitig kann durch Messung der Thiosulfat- und der Sulfat-Konzentrationen die chemische Reinheit analysiert werden.

Außen markiertes Thiosulfat, $^{35}\text{SSO}_3^{2-}$

Bei der Synthese von außen markiertem Thiosulfat (Tabelle 3-7, Synthese Nr. 7) wurde zuerst die berechnete Menge Natriumsulfit in einen trockenen Rundkolben eingewogen und ein Magnetrührstäbchen dazugelegt. Ein Aliquot der radioaktiven Schwefel-Stammlösung wurde dazupipettiert, und das Toluol vorsichtig im Stickstoffstrom verdampft, so daß ein feinkristalliner Schwefelbodensatz blieb. Während weiter Stickstoff durch den Kolben geleitet wurde, wurden einige ml stickstoff- oder

heliumgesättigtes Wasser dazu eingewogen. Dann wurde ein 25 cm-Rückflußkühler (NS 14-Schliff) auf den Hals des Kolbens aufgesetzt. Alle Verbindungen waren mit Siliconfett geschmiert. Das ganze System wurde noch einmal gründlich mit Stickstoff gespült und oben mit einem Glasstopfen verschlossen. Das Ölbad wurde auf eine Temperatur von 115 bis 120 °C gebracht und die Lösung für 2 bis 4 Stunden sieden gelassen.

Der pH-Wert der beinahe klaren Reaktionslösung lag am Ende der Reaktionen zwischen 6 und 7 (*Merckoquant* Universalindikatorstreifen). Sie wurde über einen 0,22 µm- oder 0,45 µm-Filter filtriert, um überschüssigen Schwefel zu entfernen. Das fertige Produkt wurde als Lösung in Polyethylen-Szintillations-Vials tiefgefroren bzw. in Glasgefäßen im Kühlschrank aufbewahrt. Um eine dauerhafte, stabile Aufbewahrung zu bewerkstelligen, müßte das Endprodukt lyophilisiert (=gefriergetrocknet) werden, jedoch war das vorhandene Gerät nicht für radioaktive Einsätze vorgesehen.

Innen markiertes Thiosulfat, S³⁵SO₃²⁻

Für die Synthesen des innen markierten Thiosulfats (Tabelle 3-7, Nr. 8 bis 10) wurde zunächst eine Natronlauge-Lösung in N₂-gesättigtem Wasser (zum Austreiben von CO₂ und zur Vermeidung späterer Oxidation der Reaktionslösung) angesetzt. Die Konzentration wurde durch Titration mit 10 mmol/l Salzsäure (*Merck Titrisol*) gegen Phenolphthalein (*Sigma*) zu 7,3 mmol/l bestimmt. Eine Kontrolltitration gegen Tashiro (*Riedel-de Haën*) ergab einen Mehrverbrauch von 2 %, was eine geringe Verunreinigung mit Carbonat anzeigt.

In einem Kolben wurde eine nicht-radioaktive Schwefel-Lösung in Toluol in der stöchiometrischen Menge (Synthese Nr. 8) oder im Überschuß (Synthesen Nr. 9 und 10) eingewogen. Das Toluol wurde im Stickstoffstrom verdampft.

Die Ampullen mit dem radioaktiven „NaH³⁵SO₃“ wurden unter einem Kunststofftrichter geöffnet, unter dem durch ausströmenden Stickstoff eine sauerstoffarme Atmosphäre geschaffen wurde. Der Inhalt wurde in einem Teil der für die Reaktion verwendeten Natronlauge-Lösung aufgelöst. Dabei entsteht Natriumsulfit. Diese Natriumsulfitlösung wurde in den vorher vorbereiteten Kolben mit kristallinem Schwefel überführt.

Das weitere Verfahren ist identisch mit dem für außen markiertes Thiosulfat (vgl. den vorherigen Abschnitt).

3.2.3 Homogenisierung einer organischen Schwefellösung und einer wäßrigen Sulfitlösung mit Methanol

Thiosulfat kann auch in homogener Lösung aus den gleichen Ausgangsprodukten wie unter 3.2.1 angegeben synthetisiert werden [SCHMIDT & TALSKY 1959].

Dazu löste man beispielsweise etwa 10 mg Schwefel in 1 ml Dichlormethan (312 mmol S⁰, 312 mmol/l) und gab dazu 1 ml einer frisch hergestellten 4 %igen (w/v) Sulfitlösung (317 mmol SO₃²⁻, 317 mmol/l). Die Konzentration der Sulfitlösung sollte nicht zu niedrig sein, weil ansonsten die Oxidation zu Sulfat zu schnell vonstatten geht, auch wenn man stickstoffgesättigtes Wasser benutzt. Zu diesem Zweiphasengemisch wurden weitere 6 ml N₂-gesättigtes Wasser gegeben und sofort alles durch Zugabe von 45 ml Methanol homogenisiert. Die Lösung trübte sich dabei kurz und wurde gelblich durch ausfallenden Schwefel, klärte sich dann aber innerhalb weniger Sekunden völlig. In der Lösung waren danach nur noch wenige kristalline Schwefelnadeln zu erkennen, die durch Filtration über einen 0,22 µm-*Millipore*-Membranfilter entfernt wurden. Man

kann auch erst 45 ml Methanol und dann 6 ml Wasser zugeben. Dabei bildete sich zuerst eine weißlich getrübe Suspension (wahrscheinlich durch ausgefallenes Natriumthiosulfat und/oder -sulfit), die nach Zugabe des Wassers klar wird.

Diese Umsetzung erfolgte innerhalb sehr kurzer Zeit und mit vergleichbarer Ausbeute wie das vierstündige Sieden unter Rückfluß.

Die Lösung wurde nach der Reaktion fast bis zur Trockene eingedampft, um alle organischen Lösungsmittel zu entfernen. Das zurückbleibende Salz wurde in Wasser wieder aufgenommen.

Synthesen Nr. 11 und 12 (Tabelle 3-7) wurden nach diesem Verfahren vorgenommen.

3.2.4 Synthese im Ultraschallbad

WAWRZYCZEK ET AL. (1956) konnten Thiosulfat aus Schwefel und Sulfit in einem Ultraschallbad darstellen. Sie verwendeten eine Frequenz von 500 kHz bei einer Leistungsdichte von 8 W/cm², was über den Werten laborüblicher Geräte liegt (hier: 1 W/cm²). Die Ausbeute stieg proportional mit der Beschallungszeit an.

Im Prinzip scheint dies ein sehr elegantes Verfahren zu sein, weil es ohne Erhitzen (und Rückflußkühler) auskommt. Im Gegensatz zu anderen Arbeitsgruppen, die thermische Effekte (Erwärmung der Lösung) für die Ursache der Reaktion halten, machten die polnischen Autoren die Bildung von Radikalen in der Lösung für den Ablauf verantwortlich.

Ich verwendete ein *Omnilab 1300*-Gerät (Typ T780), das von der Firma *Jürgens* vertrieben wird und die in Tabelle 3-3 aufgelisteten Kenndaten aufwies. Der Reaktionsansatz war ansonsten identisch mit dem für eine unter 3.2.2 beschriebene Synthese.

Parameter	Wert
Oszillatorfrequenz	35 kHz
Netzspannung	220 V
Stromstärke	1,45 A
Leistungsaufnahme	320 W
Länge	300 mm
Breite	240 mm
Höhe	200 mm
Volumen	12,75 l
HF-Dauer-Spitzenleistung	2 · 600 W

Tabelle 3-3: Kenndaten des Ultraschallbads

3.2.5 Aufreinigung des dargestellten Thiosulfats

In JANDER & BLASIUS (1990, S. 125), wird vorgeschlagen, die Natriumthiosulfatlösung durch fraktionierte Kristallisation zu reinigen. Wegen der hohen Löslichkeit von 79,4 g Na₂S₂O₃·5 H₂O (dem primären Kristallisationsprodukt) in 100 ml Wasser bei 0 °C und 291 g bei 45 °C, wurde auf diese Reinigungsmethode verzichtet. Ansonsten hätte man unter Ausbeuteverlust einen Teil der Thiosulfatmutterlauge verwerfen müssen, um den Einschluß von Fremdsalzen bei der Ausfällung durch zu starkes Eindampfen der Lösung zu vermeiden. Dies wurde auch unter dem Aspekt, daß die eingesetzten radioaktiven Schwefelverbindungen relativ teuer sind, als unvorteilhaft empfunden.

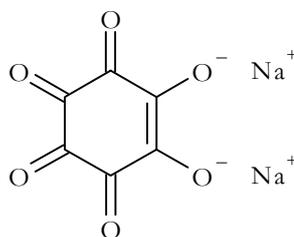


Abbildung 3-1: Natrium-Rhodizonat

Die Reinheit des außen markierten Thiosulfats war auch ohne Aufreinigung hoch genug, um direkt oder nach entsprechender Verdünnung eingesetzt zu werden. Beim innen markierten Thiosulfat waren sowohl Verunreinigungen durch Sulfat als auch durch eine unbekannte Verbindung zu beseitigen. Die Sulfatverunreinigung wurde – wie von KELLY & WOOD (1994) beschrieben – durch Fällung mit Bariumthiosulfat als Bariumsulfat entfernt. Dazu wurde die Reaktionslösung solange mit BaS_2O_3 (*Aldrich*) versetzt, bis Natrium-Rhodizonat ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{O}_6$, *Fluka*, Abbildung 3-1) eine positive Farb-reaktion (intensive Rotfärbung) gab (Tüpfeln eines Tropfens Probelösung auf einem Filterpapier mit einem Tropfen frisch bereiteter 0,2 %iger (w/v) wässriger Reagenzlösung). Durch Verwendung von gesättigter Bariumthiosulfatlösung (ca. 8 mmol/l [LIDE 1994, S. 4-42]) vermeidet man die Ausfällung von $\text{Ba}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Überschüssiges Barium wurde dann mit einer verdünnten Sulfatlösung entfernt, bis die Farbreaktion wieder negativ war.

3.2.6 Thiosulfat- und Tetrathionat-HPLC

Thiosulfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) und Tetrathionat ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) wurden auf 20 mm- oder 60 mm-Polystyrol/Divinylbenzol-Anionensäulen (hoher Quervernetzungsgrad: 24 %, Probensäule der Firma *Sykam*, Typ IBJ A 3, zur Nitrit-/Nitratbestimmung konzipiert) bei Raumtemperatur getrennt und durch einen UV/VIS-Detektor (*Sykam UV/VIS S3200*, UV-Lampenausstattung) bei 216 nm nachgewiesen. Sulfit absorbiert ebenfalls bei dieser Wellenlänge, während eine Sulfatlösung noch völlig UV-durchlässig ist. Als Eluent wurde eine 10 %ige (v/v) wässrige Methanollösung mit einer Natriumchlorid-Konzentration von 80 oder 100 mmol/l verwendet [in Anlehnung an die von BAK ET AL. (1993) veröffentlichte Methode, die ein salines Acetonitril-Methanol-Gemisch als Eluenten verwendet]. Der Eluent wurde durch einen 0,22 μm -*Millipore*-Membranfilter filtriert und vor der Benutzung etwa 20 Minuten lang mit Helium (Reinheit: 5,0, entsprechend 99,999 %) gesättigt, um eine ruhigere Basislinie zu erhalten. Die Entfernung gelöster Gase führt zu einer gleichmäßigeren Strömung. Außerdem werden Störungen durch Sauerstoff vermieden (Absorption im Ultravioletten, Oxidation). Die Durchflußrate betrug 1,0 ml/min.

Thiosulfat- und Tetrathionatstammösungen der Konzentration 10 mmol/l wurden immer frisch vor der Messung in Wasser angesetzt. Die Arbeitsstandards wurden daraus durch Verdünnung in Konzentrationen von 25, 50, 100, 200 und 400 $\mu\text{mol/l}$ hergestellt.

Als Injektionsventile dienen die Typen *Rheodyne 7125* (Edelstahl) oder *Rheodyne 9125* (PEEK¹¹, typidentisch *Sykam S5110* und *S5111*). Bei dem standardmäßig verwen-

¹¹ PEEK: Polyetheretherketon, ein hochdruckbeständiger Kunststoff

deten Injektionsvolumen von 10 µl betrug die untere Nachweisgrenze für Thiosulfat 1 µmol/l (10 pmol).

Sowohl Thiosulfat als auch Tetrathionat haben die Tendenz, mit dem oben genannten Eluenten breite Peaks auszubilden. Zur Optimierung der Methode wurden verschiedene Säulenlängen (20 mm, 60 mm und 250 mm), Salzkonzentrationen (80 und 160 mmol/l) und Alkohole (Methanol, Isopropanol) ausprobiert.

Vor Beginn der eigentlichen Messungen waren lange Säulen-Äquilibrierungszeiten notwendig. Manchmal dauerte es bis zu 2 Stunden, bis konstante Peakhöhen erreicht wurden.

An der Pumpe (*Sykam S1121*) muß die relative Kompressibilität des Eluenten eingestellt werden, um bei höheren Drücken einen gleichmäßigen Fluß zu gewährleisten. Sie beträgt 1,0 für Wasser (willkürliche Normierung) und 0,63 für reines Methanol, also 0,96 für eine 10 %ige wäßrige Methanollösung (lineare Näherung). Der Druck lag allerdings bei der am häufigsten verwendeten 60 mm-Säule mit 1,6 bis 2,2 Mpa (entsprechend 16 bis 22 bar) vergleichsweise niedrig.

Die Peakintegration wurde auf einem Integrator *Hewlett-Packard 3395* vorgenommen. Es wurde die Peakfläche ausgewertet, weil sie höhere Korrelationskoeffizienten bei der Kalibrierung ergab als die Auswertung der Peakhöhen.

3.2.7 Sulfit-HPLC

Ionenchromatographie

Sulfit kann wie Sulfat per Ionenchromatographie bestimmt werden, jedoch besteht dann die Gefahr, daß die Verbindung auf der Säule oxidiert wird. Zur Konservierung einer Probe kann wäßrige Formaldehydlösung verwendet werden, denn das Formaldehydacetale bildet mit Bisulfit ein bei neutralem oder saurem pH stabiles Additionsprodukt (Hydroxymethansulfonat, $\text{H}_2\text{C}(\text{OH})\text{SO}_3^-$) [MOSES ET AL. 1984]. Bei einem ionenchromatographischen Verfahren mit alkalischem Eluenten kehrt sich die Reaktion wieder um, was die Messung der Sulfit-Konzentration erlaubt. Bei dem von uns verwendeten sauren Eluenten bleibt das Hydroxymethansulfonat jedoch stabil. Versuche zur ionenchromatographischen Messung der Konzentration dieses Monoanions scheiterten an mangelnder Reproduzierbarkeit [persönliche Mitteilung von KIRSTEN NEUMANN & TIM FERDELMAN, MPI Bremen].

Biman-Methode

Auch die gesamte Probenbehandlung vorher birgt immer die Gefahr, daß das Sulfit schon auf dem Weg zur HPLC oxidiert wird und Artefakte (in diesem Falle Sulfat) gemessen werden. Deshalb habe ich es meist vorgezogen, Sulfit mit Monobrombiman (Abbildung 3-2) zu derivatisieren und das Derivat durch das relativ empfindliche Verfahren der Fluoreszenzdetektion nachzuweisen. Diese Methode funktioniert auch mit anderen „thiolähnlichen“ Schwefelverbindungen, wie Thiosulfat, Sulfid, Polysulfiden und organischen Thiolen [RETHMEIER ET AL. 1997].

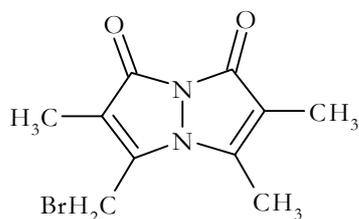


Abbildung 3-2: Struktur von Monobrombiman [KOSOWER & KOSOWER 1995]

Ein typischer Ansatz, wie er für die Proben der Sulfit-Stabilitätsuntersuchung (3.2.12) angewandt wurde, bestand aus 25 µl Probe (15,9 mmol/l, Endkonzentration 0,72 mmol/l), 475 µl HEPES-Puffer (53,3 mmol/l [4-(2-Hydroxyethyl)-piperazino]-ethansulfonsäure, 5,33 mmol/l EDTA, Endkonzentrationen 46 mmol/l bzw. 4,6 mmol/l) und 50 µl Monobrombiman-Lösung in Acetonitril (48 mmol/l, Endkonzentration 4,36 mmol/l). Die Derivatisierung wurde im Dunkeln durchgeführt und nach 30 Minuten durch Zugabe von 100 µl Methansulfonsäure (260 mmol/l, Endkonzentration 40 mmol/l) gestoppt.

Die Bimanderivate wurden auf einem *Sykam*-System (*S2000*-Steuerungseinheit und *S1100*-Pumpe) mit einer *Merk* *LiChroCART*-Umkehrphasensäule (*LiChrospher 60 RP-select B*, 125 mm x 4,0 mm, 5 µm) gemessen. Die Säule wurde in einem *Sykam*-Säulenofen auf 35 °C thermostatisiert. Die Durchflußrate betrug 1,0 ml/min. Als Detektor wurde ein *Waters 470*-Fluoreszenzdetektor (Anregungswellenlänge: 380 nm, Emissionswellenlänge: 480 nm) verwendet. Die Injektion der Probe wurde über einen *Waters 715 ULTRA WISP*-Autosampler vorgenommen. Im allgemeinen wurden 20 bis 30 µl injiziert. Als Eluent wurde ein Gradientensystem aus folgenden Komponenten verwendet:

- (A) 0,25 % Essigsäure, pH=3,55 (mit 5 mol/l NaOH eingestellt)
- (B) 100 % Methanol

Eine Messung dauerte 40 min. Die Retentionszeiten sind in Tabelle 3-4 zusammengefaßt. Die Peakintegrationen wurden auf einem Integrator des Typs *Henlett-Packard 3395* vorgenommen.

Schwefel- verbindung	Retentions- zeit/min
Sulfit	2,38
Thiosulfat	5,08
Polysulfid	23,80
Sulfid	24,55

Tabelle 3-4: Biman-Methode: Retentionszeiten thiolähnlicher Verbindungen¹²

¹² nach RETHMEIER ET AL. (1997). Die tatsächlichen Werte weichen wenig davon ab.

3.2.8 Schwefel-HPLC

Schwefel wurde ebenfalls durch Umkehrphasen-HPLC (Reversed Phase-, RP-HPLC) aufgetrennt und per UV-Detektion durch einen UV/VIS-Detektor (*Sykam UV/VIS 53200*, UV-Lampenausstattung) bei 265 nm oder durch einen UV-Detektor (*Waters 410* mit festem 254 nm-Filter) bei 254 nm gemessen.

Bei der Säule handelte es sich um eine *Knauer Vertex (Zorbax-ODS)*, 125 mm x 4,0 mm, 5 μ m). Sie wurde vor Beginn der eigentlichen Messungen 40 Minuten äquilibriert. Als Eluent diente entweder reines Methanol oder eine 85 %ige (v/v) methanolische Lösung mit einem 15 %igen (v/v) Anteil an 0,25 %iger (w/v) wäßriger Natriumacetatlösung (pH=3,5). Das Zumischen eines Gegenions hatte den Vorteil, daß eventuell störende ionische Probenkomponenten sofort wieder von der Säule heruntergewaschen werden. Verwendet wurde ein *Sykam*-Pumpensystem (*S1100*) bei einer Durchflußrate von 1,0 ml/min (relative Kompressibilität 0,63 für reines Methanol bzw. 0,69 für 85 % Methanol). Das Injektionsvolumen betrug 20 μ l, die Retentionszeit bei 100 % Methanol 3,7 Minuten, bei 85 % Methanol 10,6 Minuten, weil die Wechselwirkungen zwischen Analyt und mobiler Phase schwächer (bzw. die Sorptionsenthalpien für den Übergang von der mobilen in die stationäre Phase, $\Delta_{m \rightarrow s}H$, negativer) werden [MÖCKEL 1984].

Die Datenaufnahme geschah entweder mit Hilfe eines Computers (Software *Maxima 820*, Version 3.3, 1987, *Dynamic Solutions/Millipore*) oder eines Integrators *Hewlett-Packard 3395*.

3.2.9 Sulfat-Ionenchromatographie

Sulfat ließ sich auf einer geeigneten Anionenaustauschersäule (*Waters IC-Pak Anion*, 50 mm x 4,6 mm) per Ionenchromatographie ohne Suppressorsäule auftrennen und – wie auch gleichzeitig alle anderen Anionen – durch einen Leitfähigkeitsdetektor (*Waters 430*) nachweisen. Diese Einsäulen-Technik nutzt die geringen Unterschiede in der Leitfähigkeit zwischen den Ionen der eluierten Probe und den vorherrschenden Eluentionen aus [SKOOG & LEARY 1996, S. 709]. Die vorliegende Methode ist im wesentlichen von GLATZ & GIRARD (1982) beschrieben worden.

Als Eluent wurde ein Isophthalsäurepuffer¹³ der Konzentration 1 mmol/l in einem Gemisch aus 10 % (v/v) Methanol und 90 % (v/v) Wasser verwendet. Der pH wurde mit einer heiß gesättigten Natriumtetraborat-Lösung (fällt beim Abkühlen auf Raumtemperatur wieder aus) auf ca. 4,75 eingestellt, was knapp über der zweiten Dissoziationskonstanten von Isophthalsäure liegt¹⁴. Die Durchflußrate betrug auch hier 1,0 ml/min, während der Druck dann bei 500 psi (entsprechend etwa 33 bar) lag (*Waters 510*-Pumpe). Die Basislinie (Untergrundleitfähigkeit) lag, je nachdem wie genau der pH-Wert und die Konzentration des Eluenten waren, zwischen 131 und 147 μ S. Bei nicht-radioaktiven Proben wurde ein *Waters 712 WTSP*-Autosampler benutzt, um ein Probenvolumen von im allgemeinen 50 μ l zu injizieren. Ansonsten wurde ein *Rheodyne 7125*-Ventil verwendet, damit radioaktive Kontaminationen auf einen möglichst kleinen Bereich begrenzt werden.

Die Auswertung der Chromatogramme geschah mit Hilfe eines Computers (Software: *Maxima 820*) über die Peakflächen.

¹³ Benzol-1,3-dicarbonsäure

¹⁴ $pK_{s,1}=3,5$ und $pK_{s,2}=4,5$ [GLATZ & GIRARD 1982]

Neben Sulfat ließen sich mit dieser Methode auch Chlorid und Thiosulfat, sowie – falls der Eluent vorher mit Helium begast worden war und danach weiter unter Helium aufbewahrt wurde – auch Hydrogensulfid und Sulfid bestimmen. Die Kalibrationen wurden jedoch nur für Sulfat durchgeführt.

3.2.10 Sulfidbestimmung (Methylenblau-Methode)

Sulfid (d. h. $\Sigma\text{H}_2\text{S}$) wurde durch Zinkchlorid (Austauschexperimente) oder Zinkacetat (Solar Lake-Proben) als Zinksulfid ausgefällt. Zinksulfid reagiert in salzsaurer Lösung (Endkonzentration: ca. 0,5 mol/l) nach Freisetzung von H_2S mit N,N-Dimethyl-1,4-Phenylendiamin-Sulfat in Anwesenheit von Fe^{3+} -Ionen zum Phenothiazinfarbstoff Methylenblau [CLINE 1969].

Zur Herstellung einer Sulfidlösung wurde ein einzelner Kristall Natriumsulfid-Nonahydrat ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $M=240,18\text{ g/mol}$) genommen, durch Abspülen mit N_2 -gesättigtem Wasser von Oxidationsprodukten befreit, mit einem *Kleenex*-Tuch getrocknet und eingewogen.

Das bei den Austauschexperimenten mit Zinkchlorid ausgefällte Zinksulfid wurde zur Messung resuspendiert (per Vortexer und/oder Ultraschall) und gegebenenfalls verdünnt. Nach Zugabe des Diamin-Reagenzes (im Verhältnis 8:100 zur Probe) wurde das Reaktionsgefäß (Meßkolben oder *Eppendorf*-Cup) zur Durchmischung nur einmal umgedreht, um den H_2S -Verlust in die Gasphase zu minimieren. Die Entwicklung der Farbe dauert ca. eine halbe Stunde, doch hält sich die farbige Lösung im Dunkeln bis zu 24 Stunden. Die Hauptabsorptionsbande des Methylenblau-Kations (Abbildung 3-3 zeigt eine mögliche mesomere Grenzstruktur) liegt um 670 nm bei $\text{pH}=0,35$. Seine Konzentration wurde in 1 cm-Einmalküvetten (Makro- oder Halbmikromaßstab, d. h. mit Volumina von 1,5 oder 2,5 ml) mit einem Shimadzu UV-160A-Spektrometer gegen den Zinkchlorid- bzw. Zinkacetat-Blank gemessen (Blank-Extinktion zwischen 0,059 und 0,063). Die untere Nachweisgrenze betrug ca. $0,1\text{ }\mu\text{mol/l}$ (entsprechend einer Extinktion von 0,003), das Ende des linearen Bereichs (Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes) bei 30 bis $40\text{ }\mu\text{mol/l}$ (entsprechend einer Extinktion von 0,8 bis 1,0).

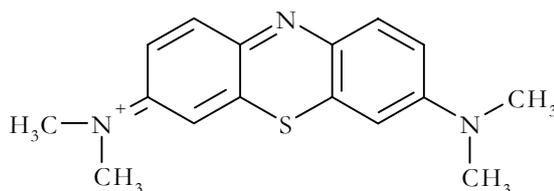


Abbildung 3-3: Grenzstruktur des Methylenblau-Kations

Die Kalibration geschah analog der Messung unbekannter Lösungen gegen eine Zinksulfid-Suspension, deren Gehalt zuvor durch Oxidation mit Jod und Rücktitration des überschüssigen Jods mit Thiosulfat bestimmt worden war.

Die Anwesenheit von Thiosulfat macht sich in einer Verzögerung der Farbentwicklung bemerkbar: Die anfängliche Rosafärbung trat verspätet auf, während der Übergang zum Blau genauso schnell wie in einer reinen Sulfidlösung erfolgte. An den gemessenen Sulfidkonzentrationen änderte sich jedoch nichts.

In 4.5.1 ist ein Vergleich angestellt worden zwischen den gravimetrisch erwarteten Sulfidkonzentrationen und den tatsächlich photometrisch gemessenen.

3.2.11 Radioaktivitätsmessungen

Die Aktivität des ^{35}S in den Proben wurde auf einem Flüssigszintillationszähler 2500 TR *TriCarb* der Firma *Packard* in 6 ml- oder 20 ml-Polyethylen- oder in 20 ml-Glas-Szintillationsgefäßen gemessen. Dazu wurden die flüssigen Proben (im allgemeinen 1 ml, ggf. durch Zugabe von Wasser auf 1 ml gebracht) im Verhältnis 1:2 mit Szintillationscocktail *Packard Ultima Gold XR*¹⁵ gemischt, mit einem Vortexer homogenisiert und gemessen. Die Cellulosenitrat-/Celluloseacetat-Mischester-Filter wurden in je 10 ml Szintillationscocktail *Packard Filter-Count*¹⁶ gegeben, nach Auflösung (dauerte ca. 20 Minuten) geschüttelt und gemessen.

Bei den Szintillationen handelt es sich um kurze Lichtblitze, die entstehen, wenn energiereiche β^- -Teilchen aus dem radioaktiven ^{35}S durch Stoßprozesse die Lösungsmittelmoleküle anregen und diese ihre Anregungs-Energie auf den Szintillator übertragen, der seinerseits die Energie als Fluoreszenz-Lichtquant abstrahlt. Früher wurde dem Szintillationscocktail neben dem genannten primären Szintillator (in den verwendeten Cocktails: PPO, 2,5-Diphenyloxazol) ein sogenannter sekundärer Szintillator (hier: 1,4-Bis(2-Methylstyryl)benzol, bis-MSB) zugesetzt, der die Wellenlänge der emittierten Photonen aus dem früher relativ schwierig zu messenden Ultraviolett in den Bereich des sichtbaren Lichts verschiebt. Heutzutage verhelfen die sekundären Szintillatoren in stark gefärbten Proben zu einer effektiveren Energieübertragung von den β^- -Teilchen auf den Primärszintillator, so daß die Intensität der produzierten Lichtblitze direkt proportional zur Energie des β^- -Teilchens ist. Eine Störung dieser Energieübertragung bezeichnet man als *Quenchen* (im beschriebenen Fall als Farb-Quenchen). Quenchen kann auch durch Hydroxid-Ionen und Sauerstoff verursacht werden und zu reduzierten Zählraten führen, während Chemilumineszenz-Reaktionen eine zu hohe Radioaktivität vortäuschen können. Durch eine intelligente Zähltechnik mit Delay- und Koinzidenzschaltkreisen kann aber ein großer Teil der nicht durch Radioaktivität verursachten Lichtblitze eliminiert werden [KESSLER 1989].

Die Parameter für das Zählprotokoll sind in Tabelle 3-2 angegeben. Gegebenenfalls wurde die Zählzeit verlängert oder verkürzt.

Parameter	Wert
Zählregion	A (0–167 keV)
Zählzeit	≤10 min
Zählmodus	CPM
Quench-Indikator	$tSIE$
Lumineszenz-Korrektur	Ja
Koinzidenz-Zeit	20 ns
Vorzeitiges Abbruchkriterium	$2\sigma < 0,25\%$

Tabelle 3-5: Parameter für das Zählprotokoll auf dem *TRICARB TR 2500*

Als Quenchindikator wird vom Gerät ein $tSIE$ -Wert (=transformed Spectral Index of the External Standard) ausgegeben, wobei es sich bei dem externen Standard um eine ^{133}Ba -Quelle handelt. Je höher der Wert liegt, desto geringer ist die Beeinträchtigung der Messung durch Quencheffekte. In der Praxis ist es jedoch wichtiger, einen

¹⁵ auf Diisopropyl-naphthalin-Basis (DIN, 55 bis 60 %)

¹⁶ auf 1,2,4-Trimethylbenzol-Basis (Pseudocumol, 70 bis 80 %)

möglichst *einheitlichen* (anstelle eines möglichst *hohen*) Wertes anzustreben. Bei meinen Messungen lag er im allgemeinen zwischen 330 und 350. Als von uns benutzte, aus der Aufnahme von Quenchkurven (vgl. 4.4.7) abgeleitete Faustregel gilt, daß über einem $tSIE$ von 300 kein Quenching zu berücksichtigen ist.

Die Zählzählbeute von durchschnittlich 96,5 % für ^{14}C wird in regelmäßigen Abständen – abhängig vom Probendurchsatz – automatisch durch das Gerät bestimmt. Dazu wird ein externer ^{14}C -Standard benutzt, dessen Energiespektrum ($E_{max}=156$ keV) und damit auch dessen Zählzählbeute denen des ^{35}S vergleichbar sind. Da dieser Wert jedoch für alle Messungen gleich ist und sehr nahe an 100 % liegt, wurde er nicht als Korrekturfaktor in die Rechnungen einbezogen.

Dagegen wurden die Messungen, die an verschiedenen Tagen innerhalb eines Austauschexperiments gemacht wurden, auf ein einheitliches Referenzdatum zurückgerechnet, um dem Zerfall des Schwefels Rechnung zu tragen.

Um die Reinheit der verwendeten Lösungen zu bestimmen, wurden HPLC-Trennungen durchgeführt. Fraktionen von jeweils ca. 1 ml wurden mit einem Fraktionssammler im Abstand von meistens 1 min aufgefangen, mit Szintillationscocktail versetzt und die Aktivität gemessen. Thiosulfat und Sulfat wurden auf einem Ionenchromatographen getrennt. Der Thiosulfat-Peak zeigte oft einen langen Signalnachlauf (Tailing), der auch von JØRGENSEN (1990b) beobachtet wurde. Für die Berechnungen wurden nur die zentralen Peakbereiche herangezogen. Die restliche Hintergrundaktivität lag – je nach injizierter Gesamtaktivität – zwischen 1,2 und 12 %, wobei der niedrigere Wert für höhere Gesamtaktivitäten gilt.

3.2.12 Untersuchung der Lagerungsstabilität einer Sulfitlösung

Das radioaktive Natriumsulfit-Salz sollte ursprünglich ungeteilt in einer Ampulle mit 370 MBq Aktivität geliefert werden, weil dies deutlich billiger sein sollte als eine Lieferung in Einzelampullen à 50 MBq (der maximal zulässigen Aktivität pro Experiment). Wegen der hohen spezifischen Aktivität des Katalogproduktes (370 MBq hätten etwa 25 mg Natriumsulfit entsprechen) wäre es dann notwendig gewesen, daß Natriumsulfit aufzulösen und die Lösung in kleinere Portionen aufzuteilen. Um zu untersuchen, wieviel Verlust durch Sulfit-Oxidation bei diesem Portionierungsverfahren zu erwarten wäre, sollte es in einem Experiment mit nicht-radioaktivem Natriumsulfit simuliert werden.

Später erwies sich diese Untersuchung als unnötig, weil das Sulfit (bzw. „Hydrogensulfit“) doch ohne Mehrkosten in Einzelampullen geliefert werden konnte.

500 mg Na_2SO_3 (3,97 mmol) wurden in 250 ml N_2 -gesättigtem Wasser aufgelöst (15,9 mmol/l). Je 1,0 ml dieser Lösung wurden in 1,5 ml-*Eppendorf*-Cups gefüllt, die in einem Styroporstück steckten, welches wiederum in einem Dewar-Gefäß mit flüssigem Stickstoff schwamm. Die so schockgefrorene Lösung wurde danach bei -25 °C aufbewahrt. In unregelmäßigen zeitlichen Abständen wurde eine Probe aufgetaut und die Sulfit- und Sulfatkonzentrationen gemessen (Biman-Methode bzw. per Ionenchromatographie mit heliumgesättigtem Eluenten zur Vermeidung von Oxidation).

Die Ergebnisse sind in 3.3.7 zusammengefaßt.

3.3 Resultate

3.3.1 Reinheit der Ausgangsstoffe

Schwefel, ^{35}S , in Toluol

Zunächst wurde die Aktivität der Stammlösung (Stamm-5) nach mehrfachem Verdünnen bestimmt. Sie lag bei mehreren Versuchsreihen zwischen 40,9 und 53,6 % vom erwarteten Lieferwert von 370 MBq; der höchste Wert ist der mit der wahrscheinlich höchsten Zählhausbeute ($tSIE=504$, ansonsten 280 bis 350, vgl. 3.2.11). Jedoch tauchte bei der Fraktionierung nicht die gesamte Aktivität in den Schwefelpeaks auf, sondern nur ca. 57 % (Abbildung 3-4) bzw. 70 % (anderer Versuch, hier nicht gezeigt). Der Rest erschien größtenteils zu Beginn des Chromatogramms, wo auch einige andere Peaks zu detektieren waren, die von im UV absorbierenden ionischen Verbindungen (Thiosulfat?) herrühren könnten. Insbesondere bei 1,86 min lag ein relativ großer Peak, der aber kein Maximum an Aktivität mit sich brachte. Es könnte sich hierbei um Toluol handeln, dessen Endkonzentration in der Probe bei 1,9 mmol/l gelegen hat.

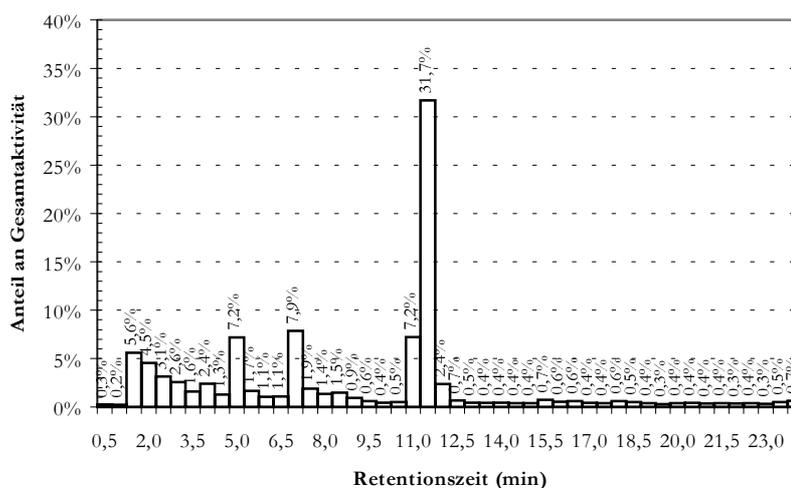


Abbildung 3-4: 20 μl Stamm-5, 1:1 verdünnt, Gesamtaktivität: 3865 CPM
Peaks: (wahrscheinlich) ionische Schwefelverbindungen (1,0-4,5 min) S_6 (4,5-5,0 min), S_7 (6,5-7,0 min), S_8 (10,5-12,0 min)

Der chromatographisch bestimmte Anteil an S_6 , S_7 und S_8 lag bei jeweils 0,4 %, 1,1 % und 98,6 %, was recht gut mit dem in der Literatur angegebenen Wert für eine wasserhaltige Lösung von *cyclo*-Octaschwefel in organischen Lösungsmitteln übereinstimmt (0,3 %, 0,8 %, 98,9 % [TEBBE ET AL. 1982]).

Die aus den Aktivitäten berechneten Verteilungen lagen jedoch bei 12,6 %, 13,8 % und 73,7 % (Abbildung 3-4) bzw. 7,3 %, 9,6 % und 83,1 % (nicht gezeigt), d. h. weder

In einem früheren Fraktionierungsexperiment (Synthese Nr. 9/V129), bei dem 2,75 mg Tracer in 910 μl 7,32 mmol/l NaOH gelöst worden waren (erwartet: 29 mmol/l), fanden sich etwas höhere Sulfitgehalte (HSO_3^- : 26,0 %, SO_4^{2-} : 73,4 %, SO_3^{2-} : 0,6 %). Dies liegt zum Teil an der höheren Ausgangskonzentration, zum Teil wohl auch an fortschreitenden Veränderungen der Probe (Radiolyse?).

77,6 % der erwarteten Lieferaktivität konnten in diesem Experiment wiedergefunden werden. Die chemische Bestimmung der Sulfat-Konzentration ergab 8,9 mmol/l (30,5 % der erwarteten Hydrogensulfitkonzentration), die der Hydrogensulfitkonzentration 640 $\mu\text{mol/l}$. Ein sehr kleiner Sulfitpeak war vorhanden, jedoch nicht auswertbar.

3.3.2 Auflösung von elementarem Schwefel in wäßriger Sulfitlösung in der Siedehitze

Die Ergebnisse der verschiedenen Synthesen, bei denen elementarer Schwefel in wäßriger Sulfitlösung gekocht wurde, sind in Tabelle 3-6 dargestellt. Die Mengen wurden zu Anfang schrittweise reduziert, um den Bedingungen der radiochemischen Synthesen näherzukommen. In Synthese Nr. 7 (Tabelle 3-7) wurde am äußeren Schwefelatom markiertes Thiosulfat synthetisiert. Nr. 1 bis 6 wurden nur mit nicht radioaktiven Ausgangsprodukten durchgeführt. Synthesen Nr. 8 bis 10 gaben innen markiertes Thiosulfat.

Das Endvolumen stimmte nicht immer mit der Summe aus Ausgangs- und Waschvolumina an Wasser überein, weil sich das eingesetzte Wasser zum Teil noch im Rückflußkühler befand und nicht zurückgewonnen werden konnte. Auch die Filter hielten trotz Durchblasens mit Stickstoff einen Teil des Wassers zurück.

Ausbeuten

Die Ausbeuten liegen bei den Synthesen von $\text{Na}_2^{35}\text{SSO}_3$ (ohne Synthese Nr. 5) zwischen 88 und 97 %, im Mittel bei 91 %.

Die niedrige Ausbeute bei Synthese Nr. 2 hat mehrere Ursachen. Zunächst war das Volumen des Rundkolbens mit 10 ml zu klein, da ein Teil des Elementarschwefels beim Kochen am oberen Rand hängenblieb. Durch zu große Hitzeentwicklung verdampfte außerdem das Wasser aus der Reaktionslösung und haftete am Rückflußkühler, so daß Schwefel und Natriumthiosulfat und Natriumsulfit ausfielen. Der Niederschlag wurde wieder in 5 ml Wasser aufgenommen. Die weißliche Trübung konnte durch Filtration (0,22 μm) entfernt werden. Insgesamt wirkte sich diese Prozedur nachteilig auf Ausbeute und Reinheit des Produkts aus. Trotz allem konnte im Endprodukt kein Tetrathionat nachgewiesen werden, d. h. daß neben Verlusten durch Adsorption an Gefäßwände hauptsächlich die Oxidation zu Sulfat Substanzverluste verursachte.

Die Wiederfindungsraten für ^{35}S -Aktivität liegen so niedrig, weil sie auf die nach den Lieferdaten zu erwartende Aktivität bezogen wurden. Legt man die tatsächlich gemessenen Raten zugrunde, kommt man auf Raten zwischen 81 % (Synthese Nr. 9) und 107 % (Synthese Nr. 7), im Mittel 90 %, was näher an dem Wert aus Synthese Nr. 12 liegt, wo die tatsächlich eingesetzte Aktivität der Schwefellösung bestimmt wurde.

Synthese Nr.		1	2	3	4	5	6
Datum		23.10.97	08.01.98	12.01.98	28.01.98	02.02.98	10.02.98
$m(\text{Na}_2\text{SO}_3)$	mg	3150	142,4	130,0	124,6	145	27,02
$n(\text{Na}_2\text{SO}_3)$	mmol	24,99	1,13	1,03	0,989	1,15	0,214
$c(\text{Na}_2\text{SO}_3)$	mmol/l	2500	225	206	98,9	115	40,9
$m(\text{S}_8)$	mg	800	35,9	32,8	64,2	36,7	6,87
$n(\frac{1}{8}\text{S}_8)$	mmol	24,95	1,12	1,02	2,00	1,14	0,214
$V(\text{H}_2\text{O})$	ml	10,0	5,03	5,0	9,91	10	5,24
Kolbenvol.	ml	50	10	25	25	50	25
Reaktionszeit	h	ca. 6	ca. 4	4	4	3+2	3,2
Filter	Typ μm	HVLP 0,45	GSWP 0,22	GSWP 0,22	GSWP 0,22	GSWP 0,22	GSWP 0,22
Waschen	ml	5	0	4	0	2	2
Endprodukt							
Volumen	ml	15	5,0	4,5	7,58	8,95	6,06
$c_{\text{Soll}}(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$	mmol/l	1663	224	227	130	128	35,4
$c_{\text{Ist}}(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$	mmol/l	1495	125	221	115	114	32,6
$c(\text{SO}_4^{2-})$	mmol/l	19	29	3,4	1,5	4,7	1,2
Ausbeute	%	89,9	55,8	97,2	88,2	88,9	92,4
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{SO}_4^{2-}$	%	90,4	68,8	98,7	89,4	92,5	95,6
Wiederfindg.							
SO_4^{2-} -Geh.	%	1,3	18,8	1,5	1,3	4,0	3,5

Tabelle 3-6: Ergebnisse der Thiosulfatsynthesen 1 bis 6

Verunreinigungen

Um auch Verunreinigungen durch Schwefel feststellen zu können, wurden Aliquote der Endprodukte aus den Synthesen Nr. 1 bis 3 durch ein apolares *Waters SepPak C₁₈* gedrückt und mit Chloroform wieder eluiert. Das Eluat wurde direkt auf die Säule gegeben. Die Schwefelkonzentration bei Synthese Nr. 1 betrug 78 $\mu\text{mol/l}$, bei Nr. 2 7 $\mu\text{mol/l}$, bei Nr. 3 war kein Schwefel nachweisbar. Dieser Trend reflektiert einerseits die Verwendung von 0,22 μm -Filtern (statt 0,45 μm) und andererseits die allgemein verbesserte Methodik. Obwohl die Konzentrationen zum Teil höher lagen als die Löslichkeit von Schwefel in reinem Wasser (0,16 $\mu\text{mol/l}$), betrugen sie doch höchstens 0,05 % der Thiosulfatkonzentration und waren damit vernachlässigbar gering.

Bei Synthese Nr. 7/V109 wurde der Schwefelgehalt auch durch Cyclohexanextraktion von 500 μl des einhundertfach verdünnten Endprodukts und Bestimmung der Aktivität des Extrakts gemessen. Nur 0,05 % der eingesetzten Aktivität wurden in der organischen Phase wiedergefunden, was auch hier auf einen sehr geringen Elementarschwefelgehalt hindeutet.

Position des ³⁵S-Atoms im Thiosulfat-Molekül

Bei der gleichen Synthese wurde auch untersucht, an welcher Stelle im Molekül das markierte Schwefelatom zu finden war. (93,6 \pm 1,4 %) der Gesamtaktivität fanden sich in der Ag₂S-Fraktion der Trennung nach dem „Cyanidverfahren“ (vgl. 4.3.9).

Synthese Nr.		7	8	9	10	11	12
Isotopenprotokoll Nr.		V 109	V 120	V 129	V 130		V 138
Datum		17.02.98	15.04.98	20.05.98	22.05.98	16.06.98	22.06.98
$m(\text{Na}_2\text{SO}_3)$	mg	19,80	—	—	—	40,24	9,57
$n(\text{Na}_2\text{SO}_3)$	mmol	0,157	—	—	—	0,319	0,298
$c(\text{Na}_2\text{SO}_3)$	mmol/l	39,3	—	—	—	—	—
$m(„\text{NaHSO}_3“)$	mg	—	2,2	2,75	5,50	—	—
$n(„\text{NaHSO}_3“)$	mmol	—	0,0211	0,0264	0,0529	—	—
$c(„\text{NaHSO}_3“)$	mmol/l	—	7,25	7,26	7,24	—	—
$n(\text{NaOH})$	mmol	—	0,0213	0,0264	0,0534	—	—
$m(\text{S}_8)$	mg	5,03	0,68	1,77	5,53	10,00	9,41
$n(\text{S}_8)$	mmol	0,157	0,0212	0,0552	0,1725	0,312	0,293
$V(\text{H}_2\text{O})$	ml	4	2,9	3,6	7,3	10	5
Kolbenvol.	ml	50	25	25	25	—	—
Reaktionszeit	h	2	2	4	4	—	—
Filter	Typ μm	GSWP 0,22	GSWP 0,22	GSWP 0,22	GSWP 0,22	—	<i>Sep-Pak Light</i>
Waschen	ml	2	2	4	3	—	—
Endprodukt							
Volumen	ml	5,443	2,882	5,388	9,402	10	5,076
$c_{\text{soil}}(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$	mmol/l	28,8	7,30	4,90	5,62	31,0	57,8
$c_{\text{st}}(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$	mmol/l	26,6	2,11	3,8 ^{17?}	7,28 [?]	28,7	55,5
$c(\text{SO}_4^{2-})$	mmol/l	0,29	3,29	1,1 ^{17?}	3,08 [?]	0,54	1,20
Ausbeute	%	92,2	28,9	78 [?]	130 [?]	92,6	96,0
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{SO}_4^{2-}$	%	93,3	73,8	100 [?]	184 [?]	94,3	98,1
Wiederfindg. SO_4^{2-} -Geh.	%	1,1	60,9	22 [?]	30 [?]	1,9	2,1
Eingesetzte Aktivität	MBq	49,8	30,1	28,5	56,1	—	22,0
Wiedergefundene Aktivität	MBq	28,5	20,4	17,9	37,6	—	18,3
Wiederfindg.	%	57,3	67,8	62,6	67,1	—	83,3
Radiochem. $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -Geh.	%	92,5	7,1	13,8	8,9	—	94,3
Radiochem. SO_4^{2-} -Geh.	%	5,0	78,9	72,4	76,7	—	3,4

Tabelle 3-7: Ergebnisse der Thiosulfatsynthesen 7 bis 12 (graue Unterlegung: innen markiertes Thiosulfat, —: nicht relevant, ?: Wert zweifelhaft aufgrund von Problemen bei der Peakauswertung)

¹⁷ graphisch ausgewertet, da Peakfile versehentlich gelöscht

3.3.3 Homogenisierung einer organischen Schwefellösung und einer wäßrigen Sulfitlösung mit Methanol

Ausbeuten

Synthesen Nr. 11 und 12 wurden nach dem unter 3.2.3 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Die Ausbeuten betragen 92,6 und 96,0 %.

Verunreinigungen

Die Verunreinigungen mit Sulfat (ca. 2 %) waren größtenteils wohl schon im Ausgangsprodukt Natriumsulfit enthalten (Tabelle 3-7). Auch die radiochemisch bestimmte Reinheit war hoch (94,3 % $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 3,4 % SO_4^{2-}), besser als die für das durch Kochen synthetisierte Produkt (92,5 % $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 5,0 % SO_4^{2-}).

Position des ^{35}S -Atoms im Thiosulfat-Molekül

Parallel zur Auftrennung des Thiosulfat-Filtrats in Austauschexperiment 4 wurde auch die korrekte Position des ^{35}S -Atoms in dem Produkt dieser Synthese untersucht. Dazu wurden 10 μl des Endprodukts mit 1990 μl Wasser verdünnt und mit 100 μl 30 mmol/l $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -Träger angereichert. Die sonstigen Prozeduren einschließlich Quenchkorrektur waren identisch mit denen für die Proben aus dem Austauschexperiment (vgl. 4.3.7 und 4.3.9).

Im Mittel fanden sich $(75,5 \pm 1,8)$ % der Gesamtaktivität im Ag_2S , $(20,2 \pm 1,2)$ % im Überstand wieder, wovon 3,4 Prozentpunkte Sulfat waren, d. h. 18 % der wiedergefundenen $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -Aktivität scheint im Sulfonat-Schwefel zu sein, was eher unwahrscheinlich erscheint, auch im Vergleich mit der hohen Reinheit des Produkts von Synthese Nr. 7/V109 (vgl. 3.3.2).

3.3.4 Synthese im Ultraschallbad

Bei Synthese 5 war zuerst versucht worden, die Reaktion durch Ultraschallbehandlung durchzuführen. Jedoch erwärmte sich das Ultraschallbad und die Lösung im Reaktionskolben im Bad so stark, daß die beobachtete Thiosulfatbildung auf thermische Effekte zurückgeführt werden muß, nicht auf eine direkte Wirkung der Schallwellen. Nach 3 h Behandlung im Ultraschallbad wurden daher noch 2 Stunden Kochen auf konventionelle Weise angeschlossen.

3.3.5 Aufreinigung des dargestellten Thiosulfats

Beim synthetisierten innen markierten Thiosulfat schien eine Verunreinigung mit einer unbekanntem Schwefel-Verbindung vorzuliegen, denn auch nach der Reaktion mit Schwefel war immer noch Aktivität zu Beginn des Laufs der fraktionierenden Ionenchromatographie festzustellen (hauptsächlich im Zeitraum 2 bis 3 min nach Start, ohne Berücksichtigung der Totzeiten von Säule und Schläuchen). Hier sollte eigentlich der HSO_3^- -Peak zu finden sein. Ansonsten waren nur Peaks für Thiosulfat- und Sulfat erwartet worden.

Beim „Hydrogensulfit“-Tracer sollte es von vornherein Vorbehalte hinsichtlich der Reinheit geben, da Natriumhydrogensulfit ja nicht als Feststoff – wie es angeblich von *Amersham* vertrieben wird (vgl. 3.2.1) – existiert.

Es wurden eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Identität des unbekanntes Peaks aufzuklären. Sulfat sollte durch BaS_2O_3 -Fällung, Sulfid durch Durchblasen von N_2 für ca. 30 min entfernt werden.

Alle reduzierten Schwefelverbindungen sollten mit neutraler H_2O_2 oxidiert werden. AgNO_3 diente zur Entfernung von Cl^- .

Die Ergebnisse der Identifikationsversuche sind in Tabelle 3-8 zusammengefaßt. Die Probenbehandlung ist jeweils nur qualitativ angegeben, weil auch die Auswertung nur qualitativ erfolgen soll.

In den Proben Nr. 3, 4 und 5 (Syntheseprodukte) finden sich jeweils vergleichbare Anteil des unbekanntes Peaks und von Sulfat. Etwa die Hälfte des 2-3 min-Peaks des Ausgangsprodukts „ $\text{NaH}^{35}\text{SO}_3$ “ (Probe Nr. 1) scheint tatsächlich Hydrogensulfit zu sein, wenn man die Ergebnisse der Synthesen und die Fraktionierung von Probe Nr. 1 betrachtet (bei Probe Nr. 2 ist anscheinend ein Teil des Hydrogensulfits oxidiert, wahrscheinlich eher nicht die unbekanntes Verbindung, vgl. weiter unten).

Bei der Fällung mit BaS_2O_3 nimmt – wie zu erwarten war – der Anteil der Sulfat-Aktivität ab, während die Relation des unbekanntes Peaks zum Thiosulfatpeak bei etwa 1,5 bleibt. Dazu ist das Mittel aus den Proben Nr. 3, 4 und 5 mit der Probe Nr. 6 zu vergleichen, weil die drei Syntheseprodukte zusammengegeben worden waren.

Bei einer neuen Verdünnung (Proben Nr. 10 und 11) fanden sich etwas höhere Anteile des unbekanntes Peaks, niedrigere für Sulfat, während der Thiosulfatanteil etwa gleich blieb. Das scheint eine mögliche Oxidation des unbekanntes Peaks in der verdünnten Lösung anzudeuten. Deshalb wurde versucht, die Probe komplett mit neutraler H_2O_2 -Lösung zu oxidieren. Die Verdünnungen waren jeweils notwendig, um wegen der hohen Chlorid-Konzentrationen¹⁸ die Ionenaustauschersäule nicht zu überladen.

Zuvor wurde eine Fraktionierung nach der Biman-Methode (Nr. 8) zur Messung thiolähnlicher Verbindungen vorgenommen. Es fand sich keine Aktivität im Bereich, wo sich der Sulfit-Peak hätte befinden müssen. 23 % waren Thiosulfat, der Rest wurde nach der Totzeit (ohne Retention) eluiert. Dabei muß es sich um den unbekanntes Peak und Sulfat gehandelt haben. Die unbekanntes Verbindung scheint also weder eine thiolähnliche Verbindung zu sein, noch apolaren Charakter zu haben, weil sie kaum von der Umkehrrsäule festgehalten wird.

Die unterschiedlichen Thiosulfatanteile, die nach der Ionenchromatographie (IC) und nach der Biman-Methode gemessen wurden, lassen sich wahrscheinlich durch die geringen Aktivitäten (Stoffmengen) erklären, die bei der IC injiziert werden konnten. Dadurch treten leicht Verfälschungen bei den Berechnungen durch einen hohen Aktivitätshintergrund auf.

¹⁸ Die gemischten Syntheseprodukte waren zwecks Verwendung am Solar Lake auf eine entsprechend hohe Salinität gebracht worden, damit sie beim Einspritzen in die Inkubationsflaschen mit dem Teichwasser nach unten sinken.

Nr.	Probe	Datum	Behandlung	Peak ab 2 min	SO ₄ ²⁻	S ₂ O ₃ ²⁻	A(injiziert)/ CPM
1	„NaH ³⁵ SO ₃ “	20.05.98	+NaOH	26,0%	73,4%	0,6%	72850050
2	„NaH ³⁵ SO ₃ “	17.06.98	pur	17,6%	80,3%	0,3%	1954190
3	S ³⁵ SO ₃ ²⁻	15.04.98	Synthese Nr. 8	13,7%	78,9%	7,1%	981896
4	S ³⁵ SO ₃ ²⁻	20.05.98	Synthese Nr. 9	13,8%	72,4%	13,8%	9860392
5	S ³⁵ SO ₃ ²⁻	22.05.98	Synthese Nr. 10	14,4%	76,7%	8,9%	150880
6	Nr. 3+4+5	22.05.98	+BaS ₂ O ₃	43,8%	27,2%	29,0%	2262928
7	Nr. 6	16.06.98	+N ₂ , +BaS ₂ O ₃	47,5%	10,5%	30,6%	20082
8	Nr. 6	23.06.98	Biman-HPLC	76,8%		23,0%	178453
9	Nr. 7	24.06.98	alte Verdünnung	42,9%	11,0%	29,8%	16122
10	Nr. 7	24.06.98	neue Verdünnung	56,3%	5,8%	30,9%	12575
11	Nr. 7	29.06.98	neue Verdünnung	58,7%	5,6%	29,8%	2294
12	Nr. 7	29.06.98	+H ₂ O ₂	67,4%	21,8%	4,0%	2123
13	Nr. 12	29.06.98	1:10 verdünnt	68,9%	23,2%	5,3%	228
14	Nr. 12	29.06.98	+AgNO ₃	65,4%	26,4%	4,7%	1746
15	Nr. 12	29.06.98	+mehr AgNO ₃	62,7%	25,0%	3,8%	825
16	Nr. 12	11.07.98	+BaCl ₂	93,1%	3,5%	1,8%	1756

Tabelle 3-8: Ergebnisse der Versuche zur Identifikation des unbekanntes Peaks im Produkt der Synthesen von innen markiertem Thiosulfat

Durch die Oxidation mit H₂O₂ ging die Aktivität des Thiosulfat-Peaks stark zurück (Nr. 12), was aber nur zum Teil durch einen entsprechenden Anstieg der Sulfat-Aktivität begleitet wurde. Auch die Aktivität im unbekanntes Peak schien anzusteigen, was die Vermutung aufkommen ließ, daß es sich zum Teil um Sulfat handelt. Die konnte jedoch durch Proben Nr. 13 (Verdünnung sollte etwaige Probleme mit einer Säulenüberladung reduzieren) und vor allem Nr. 16 ausgeschlossen werden, wo sich zeigte, daß Sulfat durch Ba²⁺ nahezu komplett ausgefällt wurde, nicht jedoch die unbekanntes Verbindung.

Es kann sich bei der unbekanntes Verbindung auch nicht um Cl⁻ handeln, wie die Fällungsversuche mit AgNO₃ (Nr. 14 und 15) zeigten und wie auch die Retentionszeit zeigt, die unter der Cl⁻-Retentionszeit von ca. 3,2 Minuten liegt.

Auch wegen des beobachteten Zerfallsgesetzes des unbekanntes Peaks (wie ³⁵S) konnte es sich nicht um eine eventuelle ³⁶Cl-Verunreinigung aus der Synthese des Tracers (vgl. 3.1.5) handeln, die eine wesentlich längere Halbwertszeit hätte haben müssen.

3.3.6 Thiosulfat- und Tetrathionat-HPLC

Im Experiment wurde ein etwa doppelt so hoher molarer Extinktionskoeffizient für Tetrathionat beobachtet wie für Thiosulfat – im Einklang mit Literaturangaben von 9,0 bzw. 3,7·10³ l cm⁻¹ mol⁻¹ [KELLY & WOOD 1994].

In Tabelle 4-1 werden die Retentionszeiten von Thiosulfat und Tetrathionat gegenübergestellt, die unter verschiedenen Bedingungen (Variation von Säulenlänge, Eluent, NaCl-Konzentration oder Durchflußrate) gemessen wurden. Bei 60 mm Säulenlänge betrug die Totzeit etwa 0,7 min.

Säulenlänge (mm)	Durchflußrate (ml/min)	Lösungsmittel	NaCl-Konzentration (mmol/l)	Thiosulfat-Retentionszeit (min)	Tetrathionat-Retentionszeit (min)
250	1	10 % MeOH	80	9,37	
250	1	10 % MeOH	140	3,09	
250	1	10 % iPrOH	80	6,43	
250	1	10 % iPrOH	200	1,88	
60	1	10 % MeOH	80	2,62	>60 ¹⁹
60	1	10 % MeOH	100	1,88	63,72
60	1	10 % MeOH	140	1,04	
60	1	10 % MeOH	200	0,82	20,30
60	1	10 % iPrOH	200	0,63	19,68
20	1	10 % MeOH	200	0,21	5,67
20	2	10 % MeOH	200		2,86
20	1	10 % iPrOH	200	0,21	4,11

Tabelle 3-9: Retentionszeitenvergleich $S_2O_3^{2-}/S_4O_6^{2-}$, jeweils 10 µl injiziert, Konzentration ca. 200 µmol/l

Bei einer NaCl-Konzentration von 200 mmol/l ist zwar die Retentionszeit für Tetrathionat mit ca. 20 min akzeptabel, jedoch wird Thiosulfat praktisch kaum mehr von anderen Ionen getrennt, da seine Retentionszeit dann mit ca. 0,8 min kaum über der Totzeit liegt. Es zeigt sich, daß Thiosulfat und Tetrathionat bei den verwendeten Säulen nicht in akzeptablen Zeiten parallel bestimmt werden können. Tetrathionat wurde deshalb – wenn überhaupt – auf der 20 mm-Säule gemessen.

3.3.7 Untersuchung der Lagerungsstabilität einer Sulfitlösung

Die gefrorene Sulfitlösung zeigte über den Zeitraum von 31 Tagen nur eine – im Rahmen der Meßgenauigkeit – geringfügige Abnahme der Sulfitkonzentration von 15 auf 14 mmol/l (Abbildung 3-6). Allerdings lag schon in der ersten Probe ein Sulfatanteil von etwa 5 % (mol/mol) vor. Hierbei könnte es sich um das Sulfat handeln, das trotz Verwendung heliumgesättigter Eluenten durch Oxidation auf der Säule entsteht, oder um Verunreinigungen des Ausgangsproduktes. Beim dritten Meßpunkt vergingen vom Auftauen der Probe bis zur Derivatisierung etwa 8 Stunden, was zu einem deutlichen Abfall des Sulfitgehalts geführt hat.

Die nach der Einwaage zu erwartende Sulfitkonzentration liegt bei 15,9 mmol/l, während die Summe aus Sulfat- und Sulfitkonzentrationen zum Zeitpunkt $t=0$ bei 15,8 mmol/l liegt.

¹⁹ Es wurde nicht länger als eine Stunde auf das Erscheinen des Peaks gewartet.

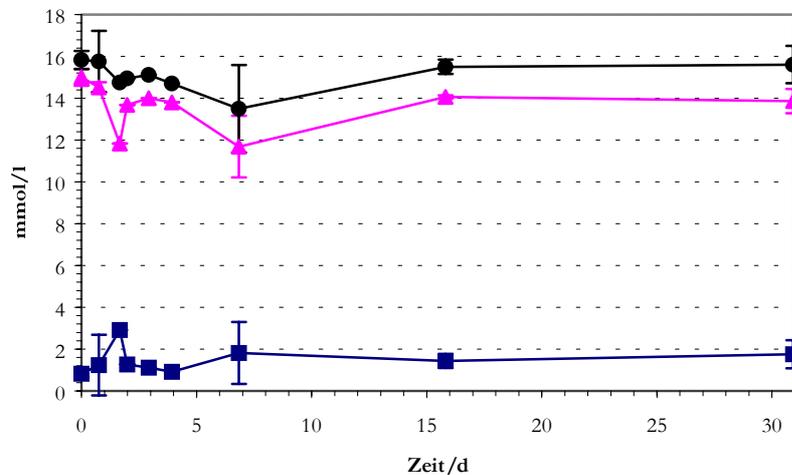


Abbildung 3-6: Sulfat-(■), Sulfit-(▲) und Summe (●) beider Konzentrationen über die Lagerungszeit von 31 Tagen

3.4 Diskussion

3.4.1 Reinheit der Ausgangsstoffe

Schwefel, ^{35}S , in Toluol

Die Schwefellösung scheint sowohl in ihrer Aktivität nicht mit der Soll-Liefermenge übereinzustimmen als auch durch ionische Schwefelverbindungen verunreinigt zu sein. Unter diesem Aspekt erstaunen die relativ guten Synthesergebnisse für außen markiertes Thiosulfat (vgl. Tabelle 3-7). Eventuell führte die Verdünnung der Lösung Stamm-5 zu Artefakten bei der fraktionierenden HPLC, die ein unreineres Produkt vortäuschten, als es tatsächlich war, oder der Toluolrest transportierte auch einen Teil des Elementarschwefels.

Die Ergebnisse der chemischen Analyse scheinen nicht so schlecht zu sein – als ob nur der radioaktive Schwefel den geschilderten Problemen unterliegt.

„Natriumhydrogensulfit“, $\text{NaH}^{35}\text{SO}_3$

Bei dem unbekannte Peak mit der langen Retentionszeit (44-48 min) könnte man vermuten, daß es sich um Polythionate handelt. Tetrathionat kann es nicht sein, weil dessen Retentionszeit bei über 60 Minuten liegt.

Möglicherweise ist es Dithionat, $\text{S}_2\text{O}_6^{2-}$, das durch Oxidation von Disulfit, $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, entstehen kann [SCHMIDT 1984]. Das $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ -Ion hat eine etwas unerwartete Struktur:

Es ist – anders als früher angenommen – nicht symmetrisch gebaut, sondern unsymmetrisch mit einer Schwefel-Schwefel-Bindung (Abbildung 3-7):

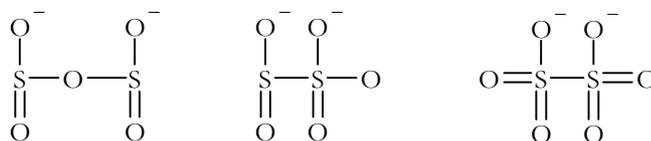


Abbildung 3-7: Strukturen des Disulfit-Ions (links: früher angenommene, falsche Struktur, Mitte: tatsächliche Struktur) und des Dithionat-Ions (rechts)

Dithionat ist eine starke Säure und sollte beim pH der Ionenchromatographie (ca. 4,7) als Dianion vorliegen. Dann ist es auch gegen Disproportionierung (zu Schwefel- und schwefliger Säure) relativ stabil [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 519].

Die Versuche zur Identifikation des unbekanntenen Peaks mit der Retentionszeit von 2-3 min werden unter 3.4.5 diskutiert.

3.4.2 Auflösung von elementarem Schwefel in wäßriger Sulfitlösung in der Siedehitze

Gewählte Darstellungsmethode für $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Die gewählte Darstellungsmethode von Thiosulfat aus elementarem Schwefel und Sulfit wurde für am geeignetsten gehalten, weil die Ausgangsstoffe in großer Reinheit und auch als radioaktiv markierte Substanzen erhältlich sind, kaum Nebenprodukte bei der Synthese auftreten und kommerzielle Überlegungen, wie sie bei großtechnischen Darstellungsverfahren bedeutsam sind, keine Rolle spielten.

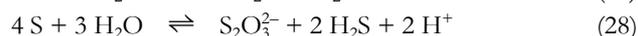
Experimentelle Erfahrungen

Beim ersten Experiment (23.10.97) stellte sich heraus, daß es schwierig ist, den feingepulverten Schwefel aus dem Keramik-Mörser in den Reaktionskolben zu überführen, weil er stark an dem großporigen Tonmaterial des Mörsers und des Pistills anhaftet. Ein Achat-Mörser brachte keine Verbesserung, weil sich der Schwefel beim Mörsern zudem elektrostatisch auflud, so daß die Einwaage noch schwieriger wurde. Eine Praktikumsvorschrift [FITZ 1993, S. 482] schlug vor, das Schwefelpulver mit Ethanol anzuteigen. Dieser Vorschlag wurde verworfen, um keine organischen Verunreinigungen in das Thiosulfat einzubringen, die bei späteren Experimenten mit Bakterienkulturen hätten stören können. Aus den gleichen Gründen wurde nicht versucht, den Schwefel durch oberflächenaktive Tenside (Spülmittel) löslicher zu machen, wie in einer anderen Darstellungsvorschrift vorgeschlagen wurde [JANDER & BLASIUS 1990, S. 125]. Unter kontrollierten Bedingungen (definierte Tensidzusammensetzung) wurde eine mehr als 5000fache Erhöhung der Löslichkeit von Schwefel in wäßriger Lösung beobachtet [STEUDEL & HOLDT 1988]. Dabei stieg die Löslichkeit von $\alpha\text{-S}_8$ von 5 $\mu\text{g}/\text{l}$ in reinem Wasser bei 20 °C auf 26500 $\mu\text{g}/\text{l}$ in einer gesättigten Lösung von Hexadecyl(trimethyl)ammoniumbromid ($\text{C}_{16}\text{H}_{33}(\text{CH}_3)_3\text{NBr}$) bei 22 °C.

Es wurde schließlich die unter 3.2.2 beschriebene Methode gewählt, das heißt, der im Kolben eingewogene Schwefel wurde in einem organischen Lösungsmittel (Toluol) aufgenommen und durch Abdampfen desselben im N_2 -Gasstrom wieder ausgefällt.

Das hat auch den Vorteil, daß man sehr feine Schwefelpartikel mit einer größeren Oberfläche erhält, die nach WATSON & RAJAGOPALAN (1925) zu einer Beschleunigung der Reaktion führen. Tatsächlich enthielt die Reaktionslösung nach ca. 2 Stunden kaum noch sichtbare Elementarschwefel-Partikel.

Die Reaktionslösungen rochen am Ende nach Schwefelwasserstoff, der entweder durch (endergone) Hydrolyse/Disproportionierung des Schwefels



oder (exergone) Zersetzung von Thiosulfat



entstanden sein könnte. Die Thiosulfat-Disproportionierung tritt bei 80 °C bis 100 °C ein [SCHMIDT 1984]. Das H₂S könnte auch das für die unten beschriebenen Verfärbungen notwendige Sulfid bereitgestellt haben. Die Schwefeldisproportionierung bei Temperaturen über 80 °C wurde von BELKIN ET AL. (1985) quantifiziert, die qualitativ auch die Bildung von Thiosulfat gemäß Reaktion (28) zeigen konnten.

Teilweise waren die Reaktionslösungen durch ausgeschiedenen Schwefel getrübt (zum Beispiel Synthese Nr. 2), der aber abfiltriert werden konnte. Manchmal verfärbten sie sich während der Synthesen auch blau (einige der Versuche zur Darstellung außen markierten Thiosulfats, z. B. Synthese Nr. 2) oder grün (Synthesen Nr. 8 bis 10). Eine Blaufärbung wurde beim Abkühlen der Reaktionslösungen auch von anderen Autoren beobachtet [BUNTROCK & NEUMANN 1966]. UYAMA ET AL. (1985) bemerkten eine blaue Färbung am Ende ihrer Austauschexperimente zwischen Thiosulfat und Sulfid bei über 100 °C und führten sie auf die Bildung des blau gefärbten Radikalanions Hypersulfid (oder Disulfid), S₂⁻, zurück [GIGGENBACH 1968, 1971]. Neuere Quellen [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 485] sehen das Hypersulfid als gelbgrün gefärbt an (vgl. 4.2). Jedoch könnte das angeblich blaue Trisulfid-Radikalanion, S₃⁻, für die Färbung verantwortlich sein [KING 1994, S. 3972, CLARK ET AL. 1983, CLARK & COBBOLD 1978]. Es entsteht etwa durch homolytische Spaltung von Hexasulfid:



Möglicherweise rührt daher die Grünfärbung während der Synthesen innen markierten Thiosulfats vom S₂⁻ her, oder die Färbung entstand durch eine unbekannt Verunreinigung des Ausgangsprodukts „NaH³⁵SO₃“. Eine Verunreinigung, gleich welcher Art, scheint auf jeden Fall vorzuliegen, weil immer ein gewisser Anteil der Aktivität des innen markierten Thiosulfats trotz mehrmaliger Aufreinigungsversuche am Anfang des Chromatogramms erschien (vgl. 3.3.5).

Bei fortschreitendem Sieden der Reaktionslösung verschwanden die Farben wieder, wahrscheinlich durch Abreaktion des Sulfids/Polysulfids mit Sulfit.

3.4.3 Homogenisierung einer organischen Schwefellösung und einer wäßrigen Sulfitlösung mit Methanol

Die Durchführung der Synthese in homogener Lösung scheint das schnellste Verfahren zur Darstellung von Thiosulfat zu sein. Sie gibt ausgezeichnete Ausbeuten

und hohe Reinheiten und ist auch für die Durchführung mit radioaktiven Verbindungen geeignet.

Die Ergebnisse zur Untersuchung der korrekten Position des ^{35}S -Atoms im Molekül müssen wohl auf methodische Probleme bei der Zersetzung zurückgeführt werden: Vielleicht ist doch ein Erhitzen erforderlich, um eine vollständige Fällung zu erzielen.

3.4.4 Herstellung im Ultraschallbad

Offensichtlich reicht ein herkömmliches Ultraschallbad zur Durchführung einer Thiosulfat-Synthese nicht aus. Höhere Frequenzen und Leistungsdichten sind erforderlich, wenn man eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit nicht nur durch thermische Effekte erreichen möchte.

3.4.5 Aufreinigung des dargestellten Thiosulfats

Die unbekannte Verbindung muß nach den Ergebnissen der durchgeführten Versuche (3.3.5) Schwefel beinhalten, polar und nicht-ionisch (oder eventuell monovalent) sein, darf nicht mit H_2O_2 zu Sulfat oxidiert werden und weder mit Cl^- noch mit Ba^{2+} reagieren. Sulfurylchlorid, SO_2Cl_2 , wäre eine solche Verbindung, wenn es nicht mit Wasser hydrolysieren würde (allerdings verläuft die Hydrolyse nur langsam ab [BUDAVARI ET AL. 1989], jedoch sollte man nach einigen Wochen eine komplette Hydrolyse erwarten können). Ein anderer Kandidat könnte Kohlenstoffdisulfid, CS_2 , sein. Es ist in Wasser mit 0,2 % (v/v) [FALBE & REGITZ 1995] zwar nur wenig löslich, was aber wenig von Bedeutung ist, wenn es sich um C^{35}S_2 hoher spezifischer Aktivität handelt. Es sollte aber wohl von H_2O_2 oxidiert werden und wird auf jeden Fall durch Stickstoff aus der Lösung ausgetrieben.

Wahrscheinlich setzt *Amersham* wegen dieser Verunreinigungsprobleme bei den Synthesen von innen markiertem Thiosulfat $^{35}\text{SO}_2$ anstelle des Sulfiten ein [KELLY & WOOD 1994]. Dazu wird das $^{35}\text{SO}_2$ in eine NaOH-Lösung einkondensiert, die dann direkt für die Synthese verwendet werden kann. Dann treten anscheinend weniger Probleme mit Verunreinigungen auf, denn früher von *Amersham* gekaufte $\text{S}^{35}\text{SO}_3^{2-}$ -Chargen kamen in radiochemischen Reinheiten von über 95 %, mit Sulfat als Hauptverunreinigung [vgl. z. B. JØRGENSEN 1990b]

ANDREAS WEBER (MPI Bremen, persönliche Mitteilung) fand in $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ -Tracer eine unbekannte Verbindung mit der gleichen Retentionszeit wie die hier untersuchte, jedoch lagen die Anteile an der Gesamtaktivität bei weniger als einem Prozent. Das hat trotzdem zu Blank-Problemen bei der Bestimmung von Sulfatreduktionsraten geführt.

3.4.6 Thiosulfat- und Tetrathionat-HPLC

Das in der Methode von BAK ET AL. (1993) verwendete Acetonitril im Eluenten (70 % Acetonitril, 10 % Methanol, 200 mmol/l NaCl) ist für eine Auftrennung von Thiosulfat und Tetrathionat in akzeptablen Zeiten notwendig. Ein salines Methanol-Wasser- oder Propanol-Wasser-Gemisch alleine ist nicht ausreichend.

4 Austauschexperimente

Zunächst wird eine Literaturübersicht gegeben über die schon untersuchten Isotopenaustauschreaktionen mit Thiosulfat. Dann werden die durchgeführten Experimente und die verwendeten Trennungsmethoden beschrieben. Zum Schluß folgt eine Diskussion der Resultate und ein Vergleich mit theoretisch zu erwartenden Fraktionierungsfaktoren.

Die Experimente sollten in Konzentrationsbereichen durchgeführt werden, die in der Nähe oder nicht weit über *in situ*-Konzentrationen liegen, wie sie in marinen Sulfatreduktionsgebieten gefunden werden. Es war deshalb sehr wichtig, Sauerstoff so gut wie möglich auszuschließen, weil schon geringe Konzentrationen zu merklichen Oxidationsraten führen würden.

4.1 Isotopenaustauschreaktionen zwischen Thiosulfat und anderen Schwefelverbindungen in wäßriger Lösung

Der Begriff der Isotopenaustauschreaktion wird bei STRANKS & WILKINS (1957) wie folgt definiert:

An exchange reaction occurs when atoms of a given element interchange between two or more chemical forms of this element.

Dies schließt den Austausch natürlicher Isotopen zwischen verschiedenen Verbindungen wie auch den Austausch radioaktiv markierter Atome mit ein.

Vom Schwefel kennt man derzeit (April 1998) 20 radioaktive und 4 stabile Isotope: ^{26}S bis ^{31}S unterliegen im wesentlichen einem Positronen- (β^+) -Zerfall zum entsprechenden Phosphor-Isobar mit Halbwertszeiten zwischen 10 ms (^{26}S) und 2,58 s (^{31}S). ^{32}S , ^{33}S , ^{34}S und ^{36}S sind stabile Isotope mit einer jeweiligen relativen Häufigkeit von 95,02 %, 0,75 %, 4,21 % und 0,02 %. Das Verhältnis von ^{34}S - zu ^{32}S -Anteil in einer

Probe wird für geochemische Untersuchungen herangezogen²⁰. Die neutronenreichen Isotope ³⁵S (Halbwertszeit $t_{1/2}=87,5$ d) sowie ³⁷S bis ⁴⁹S ($t_{1/2}$ maximal 2,83 h bei ³⁸S) gehen hauptsächlich Negatronen-(β^-)-Zerfall ein zum entsprechenden Chlor-Isobar [CHU ET AL. 1998, PFENNIG ET AL. 1995]. Nur ³⁵S ist aufgrund seiner Halbwertszeit für radiochemische Untersuchungen in der Zeitskala von Tagen geeignet. Die maximale Energie im kontinuierlichen β -Spektrum beträgt 167 keV [HERBER 1962], die durchschnittliche 48,6 keV [LEDERER ET AL. 1967]. Es handelt sich damit um einen weichen β -Strahler.

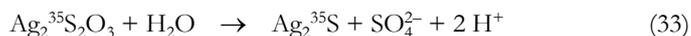
In dieser Arbeit wurde der Isotopenaustausch zwischen Thiosulfat und Sulfid sowie zwischen Thiosulfat und Polysulfid untersucht. Dazu wurde radioaktives Thiosulfat verwendet, bei dem das äußere Sulfan-Schwefelatom mit ³⁵S markiert war. Für die Disproportionierungsuntersuchungen am Solar Lake wurde auch am inneren Sulfonat-Schwefelatom markiertes Thiosulfat eingesetzt.

STRANKS & WILKINS (1957) und WAHL & BONNER (1951) haben die Literatur unter anderem auch zu Schwefel-Isotopenaustauschreaktionen von Thiosulfat durchgesehen.

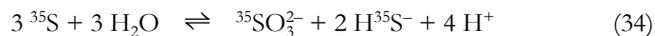
Demnach führte ANDERSEN (1936) die ersten Untersuchungen zur Nichtäquivalenz der beiden Schwefelatome in Thiosulfat durch. Er stellte ³⁵SSO₃²⁻ durch Lösung von aktivem Schwefel in der stöchiometrisch berechneten Menge Sulfid her und fällte daraus weißes Ag₂³⁵S₂O₃ mit Hilfe eines geringen Überschusses Silbernitrat aus²¹:



Das Silberthiosulfat hydrolysierte (schneller beim Erhitzen) unter charakteristischer Verfärbung („anorganischer Sonnenuntergang“ von weiß nach gelb, orange, braun und schließlich schwarz) zu Ag₂³⁵S und SO₄²⁻. Die gesamte Aktivität fand sich im Niederschlag wieder.



Demnach findet weder bei der Thiosulfatbildung noch bei der Zersetzung mit Silbernitrat ein **Austausch zwischen beiden Schwefelatomen** statt. Letzterer kommt jedoch in hoch erhitzten (241-273 °C) wäßrigen Thiosulfatlösungen vor [BUNTROCK & NEUMANN 1966], vermutlich durch Thiosulfatdisproportionierung in Umkehr von Reaktion (31), Schwefelhydrolyse (34) und anschließende Thiosulfatrückbildung:



²⁰ Unterschiede in der Schwefelisotopen-Zusammensetzung werden in der $\delta^{34}\text{S}$ -Notation (angegeben in ‰) ausgedrückt. R ist das Isotopenverhältnis ³⁴S/³²S. Als Standard bezieht man sich auf den Schwefel im Troilit (nahezu reines FeS) des Canyon-Diablo-Meteoriten.

$$\delta^{34}\text{S} = R_{\text{Probe}}/R_{\text{Standard}} - 1$$

²¹ Die Verwendung von Thiosulfat im Überschuß als Fixiersalz in der Fotografie nutzt dagegen seine Fähigkeit zur Bildung löslicher Silberkomplexe, $[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]^{3-}$, aus.

Bei der Zersetzung mit Salzsäure (35) dagegen fand ANDERSEN (1936) einen geringen Anteil (x , nicht weiter quantifiziert) der Aktivität im Schwefeldioxid wieder:



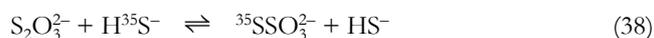
Das SO_2 wurde mit einem N_2 -Strom in alkalisches H_2O_2 übergetrieben. Er vermutete, daß der Isotopenaustausch in intermediär entstehenden Polythionaten vonstattengehe, was mir eher unwahrscheinlich erscheint, denn bei allen nachgewiesenen Bildungsreaktionen von Polythionaten behält das äußere Schwefelatom seinen reduzierten Charakter [GMELIN-INSTITUT 1960, S. 888-891]. Eventuell liegt hier Oxidation durch Spuren von Sauerstoff vor, oder Schwefel disproportioniert unter Bildung von Sulfoxylsäure, $\text{S}(\text{OH})_2$, deren Existenz als kurzlebiges Zwischenprodukt angenommen wird [BASSETT & DURANT 1927, HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 517]:



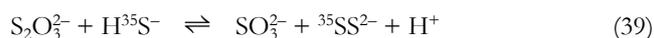
VOGE & LIBBY (1937) und VOGÉ (1939) nutzten den innerhalb von 23 Stunden ablaufenden Isotopenaustausch (37) zwischen **Sulfid und Thiosulfat** in 1 mol/l NaOH ($\text{pH}=14$) bei 100°C zur Darstellung markierten Thiosulfats aus. Nach 2 Stunden oder bei nur 57°C war kein Austausch festzustellen. Die Trennung von Sulfid und Thiosulfat wurde durch Fällung mit Bleiacetat vorgenommen.



Zwischen **Polysulfid und Thiosulfat** fand dagegen der Austausch bei 90 bis 100°C innerhalb einer Stunde statt, weshalb die Autoren neben einem Substitutionsmechanismus des Typs



auch einen Mechanismus vorschlugen, der Polysulfide (symbolisiert durch ${}^{35}\text{SS}^{2-}$) beinhaltet, von denen sie wußten, daß der Isotopenaustausch unter den Schwefelatomen der Polysulfidkette bei 100°C in weniger als 1 Stunde eintritt:



Die Gleichgewichtskonstante für die Thiosulfatbildung bei 100°C ist mit ca. 500 (Abschnitt 3.1.1) nicht sehr groß, so daß ein Teil des Thiosulfats dissoziiert vorliegt und leicht die vorstehende Reaktion (39) eingehen kann.

UYAMA ET AL. (1985) dagegen bemerkten bei Austauschexperimenten mit stabilen Isotopen zwischen 50 und 170°C auch schon bei 50°C einen Austausch. Allerdings sanken in ihrem Experiment im Laufe der Zeit die Sulfidkonzentrationen, so daß möglicherweise Veränderungen der Lösungszusammensetzung einen Austausch vortäuschen konnten. Eindeutiger zeigte sich der Austausch bei 100°C und darüber. Sie stellten sowohl inter- als auch intramolekularen Austausch fest, konnten aber mangels Kenntnis eines Zeitgesetzes für dieses System keine Geschwindigkeitskonstanten berechnen. Dies war erst CHU & OHMOTO (1991a, 1991b) möglich (vgl. 4.5.4). Der intramolekulare Austausch wurde durch Sulfid (wohl über die Bildung von Polysulfid)

katalysiert. Die Austausch-Halbwertszeiten²² für den intramolekularen Austausch betragen 15 Stunden bei 120 °C und 490 Stunden bei 100 °C.

FOSSING & JØRGENSEN (1990b) zeigten, daß der Isotopenaustausch zwischen **Sulfid, Schwefel und Polysulfid** sogar bei pH 7,6 und 20 °C in anoxischem Seewasser 1 Stunde oder weniger dauert. Die Austausch-Halbwertszeit für den Sulfid-Polysulfid-Austausch lag bei 1,8 min. Sie äußerten die Vermutung, daß Polysulfid nötig ist, um den Austausch zwischen Sulfid und Schwefel zu vermitteln.

Die von VOGÉ & LIBBY (1937) und VOGÉ (1939) entdeckten Austauschreaktionen zwischen Sulfid/Thiosulfat und Sulfid/Polysulfid/Thiosulfat wurden in der vorliegenden Arbeit auch bei 20 °C und 80 °C untersucht, allerdings mit am äußeren Schwefelatom markiertem Thiosulfat anstatt mit H³⁵S⁻.

Die gleichen Autoren fanden keinen Austausch zwischen **Sulfid und Sulfat** oder **Sulfit und Sulfat** bei 100 °C innerhalb von 36 Stunden. Auch UYAMA ET AL. (1985) fanden kaum Austausch zwischen Sulfid und Sulfat oder Thiosulfat und Sulfat bei 150 °C in bis zu 500 Stunden.

VOGÉ (1939) sowie AMES (1949) und AMES & WILLARD (1951) zeigten Isotopenaustausch zwischen **Sulfit und Thiosulfat** bei Temperaturen zwischen 60 und 100 °C. Z. B. lagen bei 89 °C und einem pH zwischen 5,9 und 12,8 die Austausch-Halbwertszeiten bei 10 bis 20 Minuten.

Die Austauschreaktion (Reaktionsgeschwindigkeit $R = k[\text{SO}_3^{2-}][\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]$) war erster Ordnung bezüglich Sulfit und Thiosulfat. Die Autoren schlossen deshalb einen Dissoziationsmechanismus von Thiosulfat zu Schwefel und Sulfit aus, weil dann nur die S₂O₃²⁻-Konzentration maßgebend für die Reaktionsgeschwindigkeit sein sollte, sondern nahmen einen symmetrischen aktivierten Komplex an (Abbildung 4-1), bei dem Sulfit- (oder Bisulfit-) und Thiosulfat-Moleküle miteinander kollidieren sollen.

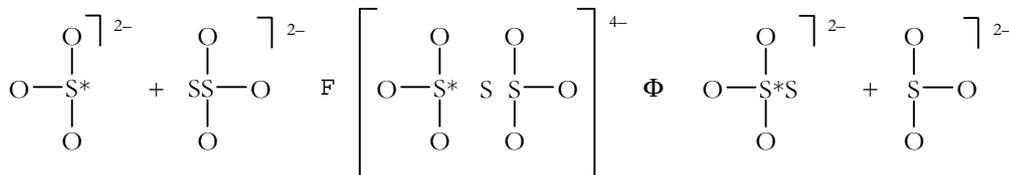


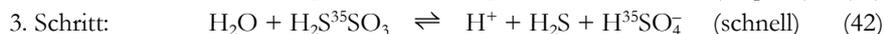
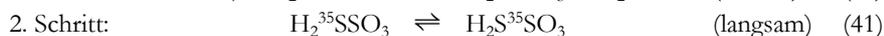
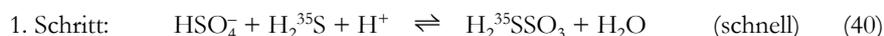
Abbildung 4-1: Modell für den Isotopenaustausch zwischen Thiosulfat und Sulfit

Im Kontrollexperiment (Thiosulfat allein) von AMES (1949) und AMES & WILLARD (1951) fand sich selbst nach fünfeinhalbstündigem Kochen bei 125 °C in einem zuge-schmolzenen Pyrexröhrchen kein Austausch, obwohl zur Trennung der beiden Schwefel-atome auch ein Verfahren der schon von ANDERSEN untersuchten sauren Zerset-zung mit Salzsäure verwendet wurde. Allerdings wandelten sie dessen Methode inso-fern ab, als sie die Reaktionslösung (21 ml) erst mit flüssigem N₂ einfroren, dann mit einigen Millilitern konzentrierter Salzsäure versetzten und 15 min auf 90 °C thermosta-tisierten, anstatt die Säure einfach bei Raumtemperatur zuzugeben. Außerdem verwen-deten sie eine spezielle Gasabsorptionssäule mit einer 60 cm langen Vigreuxkolonne.

Thiosulfat wurde auch als mögliches Intermediat des Sulfat-Sulfid-Isotopenaustauschs in hydrothermalen Systemen angesehen [OHMOTO & LASAGA 1982, UYAMA ET AL. 1985]. In einem dreistufigen Modell-Reaktionsschema sollte der

²² Das ist die Zeit, die benötigt wird, bis der Austausch zu 50 % komplett ist.

intramolekulare Austausch des Sulfan- mit dem Sulfonatschwefel (zweiter Schritt) der geschwindigkeitsbestimmende Schritt sein:



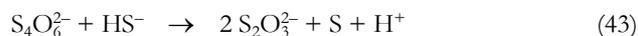
Die Existenz freier Thioschwefelsäure ($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$) unter diesen Bedingungen ist allerdings zu bezweifeln [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 519].

Keinen Isotopenaustausch zwischen **Sulfan- und Sulfonat-Schwefel von Tetrathionat bzw. Thiosulfat** in Reaktion (43) fanden HEIJDE (1953) und HEIJDE & ATEN (1952).

Der schnelle Isotopenaustausch zwischen **Sulfit, $^{35}\text{SO}_3^{2-}$, und Trithionat, $\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$** , wurde von FAVA & PAJARO (1954a, 1954b) zur Darstellung von $\text{O}_3\text{SS}^{35}\text{SO}_3^{2-}$ in konzentrierten Nitratlösungen bei pH-Werten zwischen 5,7 und 10 und Temperaturen von 25 bis 50 °C ausgenutzt.

4.2 Verwendung von Polysulfid

Für die Austauschexperimente, die Polysulfid enthalten sollten, machte ich mir die schnelle Reaktion von Tetrathionat mit Sulfid zu Thiosulfat und Schwefel (bzw. Polysulfiden im Sulfidüberschuß) zunutze [KLIMMEK ET AL. 1991]:



Der Schwefel entsteht dabei aus dem Sulfid-Schwefel. Die Reaktion läuft hauptsächlich in dieser Weise ab, zu 3 % entstehen jedoch Sulfit und elementarer Schwefel aus der Zersetzung von Tetrathionat, wie HEIJDE durch ^{35}S -Markierung zeigen konnte [HEIJDE & ATEN 1952, HEIJDE 1953]. Dies spielt im vorliegenden Fall aber keine Rolle, weil das Sulfit sofort mit Polysulfid zu Thiosulfat weiterreagiert [SCHMIDT & TALSKY 1959].

Pro mol Tetrathionat entstehen also 2 mol Thiosulfat und verschwinden 1 mol Sulfid. Außerdem wird ein Teil des Sulfids zur Lösung des Schwefels verbraucht [GERISCHER 1949, zitiert nach KLIMMEK ET AL. 1991]:

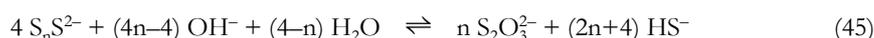


Die Kettenlänge n kann dabei Werte von 2 bis 7 erreichen, in Abhängigkeit vom pH der Lösung [GIGGENBACH 1972]. Unter neutralen Bedingungen ist das Pentasulfidion die häufigste Spezies. Bei niedrigeren pH-Werten werden die Ketten länger, HS^- wird gebildet. Neben den Dianionen können auch Monoanionradikale entstehen. Das blaue Trisulfid-Radikal, S_3^- , ist am stabilsten, gefolgt vom gelbgrünen S_2^- [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 485]. Solche Färbungen wurden von mir bei einigen Thiosulfat-Synthesen beobachtet (vgl. 3.4.2).

So konnte eine Lösung hergestellt werden, die Sulfid, Polysulfid und Thiosulfat enthält. Danach wurde die Lösung mit Thiosulfat-Tracer versetzt und zum Schluß mit konzentrierter Phosphorsäure der pH eingestellt. Dabei ist auf die pH- und Tempera-

tur-Abhängigkeit der Löslichkeit von Polysulfid in Sulfidlösungen zu achten [SCHAUDER & KRÖGER 1993]. Bei 20 °C und einem pH von 7,5 lösen sich 1 mmol/l Schwefel in einer 10 mmol/l Sulfidlösung ($\Sigma\text{H}_2\text{S}$), bei 80 °C kann die Lösung ihren Sättigungswert mit Schwefel erreichen (durchschnittliche Kettenlänge $\bar{n}=4,5$, d. h. 78 % S^0 -Anteil am Gesamtschwefelgehalt [STEUDEL 1989]).

Die in Austauschexperiment 4 verwendeten Lösungen sollten unter diesen Bedingungen thermodynamisch stabil sein [GIGGENBACH 1974a, 1974b]. Erst bei über 150 °C wurde eine Zersetzung wäßriger Polysulfidlösungen (pH=6 bis 8) auf einer Zeitskala von Stunden beobachtet [korrigierte Reaktionsgleichung]:



Die Aktivierungsenergien der Hin- und Rückreaktionen betragen 107 und 187 kJ/mol. Bei Raumtemperatur werden Polysulfid-Lösungen ab pH=8 metastabil und disproportionieren langsam zu Thiosulfat und Hydrogensulfid. LICHT & DAVIS (1997) zeigten ihren Zerfall bei 25 °C bis 85 °C auf der Zeitskala von Monaten bis Jahren, je nach pH- und Konzentrationsbereich.

4.3 Material und Methoden

Es war geplant, die Isotopenaustauschexperimente zwischen Sulfid/Thiosulfat und Sulfid/Polysulfid/Thiosulfat in einer gasdichten Spritze (*Henlett-Packard, HP*) mit *Luer-Lock*-Anschluß (Volumen: 25 ml) durchzuführen. Dies hat den großen Vorteil, daß die Spritzen so befüllt werden können, daß keine Gasphase mehr vorhanden ist. Dann kann auch kein Austausch von H_2S mehr zwischen der Flüssigkeit und der Gasphase stattfinden, der ansonsten korrekterweise in den Berechnungen berücksichtigt werden müßte. Außerdem besteht nicht die Gefahr, daß sich beim Inkubieren bei höheren Temperaturen in der Spritze große Binnendrucke aufbauen können. Als Verschuß sollte ein inertes Teflon-Zweiwegeventil (*Supelco*) verwendet werden, um in regelmäßigen Abständen Proben aus der Spritze entnehmen und sie dann wieder verschließen zu können.

Später wurden auch gasdichte Spritzen anderen Typs ausprobiert (*Supelco*, Volumen: 25 ml, Hersteller: *SGE*), bei denen der *Luer-Lock*-Anschluß fest mit dem Spritzenkörper verbunden war.

Nachdem sich jedoch herausgestellt hatte, daß am und im Teflon des Spritzenkolbens und des Ventilansatzes große Mengen Sauerstoff adsorbiert sind, wurde für die Experimente bei Raumtemperatur (20 °C) auf Fortuna-Glasspritzen (Volumen: 20 ml, mit paarweise austauschbaren Kolben) zurückgegriffen. Bei diesen bildet sich zwischen Kolben und Spritzengehäuse ein Wasserfilm, der den Zutritt von Luftsauerstoff wirksam unterbindet. Exemplare mit gut sitzenden Kolben blieben bei dem unten beschriebenen Schnelltest (4.3.1) bis zu 6 Wochen (Volumen: 20 ml) oder 8 Wochen (Volumen: 50 ml) farblos. Bei höheren Temperaturen (>50 °C) verdunstet jedoch schon eine deutliche Menge des Spritzeninhalts über diesen Wasserfilm, so daß auch diese Spritzen nicht mehr in Frage kamen.

Statt dessen wurden schließlich Serumflaschen (*Wheaton*, Borosilikatglas, Nominalvolumen: 10 ml, tatsächliches Nutzvolumen mit Gummistopfen. ca. 13 ml) mit schwarzen Butylgummistopfen (Dicke: ca. 1 cm) und Aluminiumkappe verwendet, die sich als inert und dicht genug erwiesen hatten.

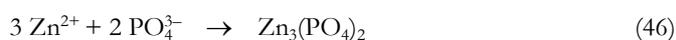
Der pH-Wert lag in allen Austauschexperimenten zwischen 7,0 und 7,7. Er wurde in den Austauschexperimenten 0 bis 2 mit konzentrierter Salzsäure (37 %, rauchend, 12 mol/l), bei 3 und 4 mit 85%iger (w/w) Phosphorsäure (14,8 mol/l) in einem gasundurchlässigen Polyethylen-, Handschuhsack“ (*Aldrich AtmosBag*, auch „Trockener Beutel“ genannt [BRAUER 1975, S: 80]) eingestellt. Die benötigte Säuremenge wurde wie unter 4.5.1 beschrieben abgeschätzt.

Die Sulfid-, Polysulfid- und die (markierten oder unmarkierten) Thiosulfatlösungen wurden im Handschuhsack in einer Stickstoffatmosphäre gemischt, und der pH-Wert mit Hilfe einer Glaselektrode (*Orion*) und einem vorher kalibrierten, digitalen pH-Meter (*Knick*) eingestellt. Es handelte sich um eine pH-Einstabmeßkette mit einer sogenannten „doppelpverbrückten (Bezugs-)Elektrode“, bei der zwischen Analytlösung und Bezugs-elektrode eine zweite Strombrücke zwischengeschaltet war. Ansonsten würden die Sulfidionen in der Analysenlösung mit dem Silber der Ag/AgCl-Bezugselektrode reagieren und langsam das Diaphragma verstopfen. Das würde zu einer deutlichen Drift der Meßwerte führen [SKOOG & LEARY 1996, S. 530].

Die so vorbereiteten Lösungen wurden in die Spritzen (durch das Ventil) bzw. Serumflaschen (mit einer *Eppendorf*-Pipette) abgefüllt, die Serumflaschen mit einer Crimpzange verschlossen. Vor dem Verschließen des letzten Gefäßes wurde noch einmal der pH-Wert überprüft. Er blieb gegenüber dem Ausgangswert unverändert, das heißt, es trat höchstwahrscheinlich keine Oxidation des Sulfids während der Zeit ein, in dem das Vorratsgefäß offen unter dem Handschuhsack stand.

Die Inkubationen wurden im Dunklen durchgeführt (Schrank oder Wasserbad mit Metalldeckel), um eine mögliche Zersetzung von Thiosulfat durch Licht auszuschließen, auch wenn diffuses Licht im Gegensatz zu direktem Sonnenlicht keinen Einfluß zu haben scheint [GMELIN-INSTITUT 1928, S. 622].

Bei den Spritzenexperimenten wurden bei der Probennahme die ersten 0,5 oder 1 ml verworfen, um das Totvolumen des Spritzenventils einschließlich Kanüle (zwischen 128 µl und 175 µl für die *HP*-Spritzen, größer für die Fortunaspitzen) zu kompensieren. Zur Fixierung des Sulfids wurden je 1 ml der Inkubationslösung durch das Teflonventil mit Hilfe einer Edelstahl-Einwegkanüle in ein *Eppendorf*-Cup gespritzt, das 1 ml 2 %ige (w/v) Zinkchloridlösung (150 mmol/l) enthielt. Die Endkonzentration an Zinkchlorid lag damit bei 75 mmol/l, was einem 200- bis 300fachen Überschuß bezüglich Sulfid entspricht (je nach Experiment). Ein Teil des Zn^{2+} wird bei pH=7 mit in zu Sulfid äquimolaren Konzentrationen vorliegendem Phosphat reagieren und weißes Zinkphosphat ausfällen [JANDER & BLASIUŠ 1990, S. 192] (Reaktion 46). Der Zn^{2+} -Überschuß ist auch dafür ausreichend.



Jede Kanüle wurde nur einmal verwendet, um Verfälschungen durch Reaktion des Sulfids mit dem Metall auszuschließen. Die fixierten Proben wurden bis zum Zeitpunkt der Analyse im Kühlschrank (4 °C) aufbewahrt.

Die Vorgehensweise bei den Serumflaschen unterschied sich von der bei den Spritzen darin, daß für jeden Probennahmezeitpunkt eine Flasche vorbereitet werden mußte. Die Abfüllung unter dem Handschuhsack dauerte entsprechend lange. Trotzdem schien zwischenzeitlich keine Oxidation aufzutreten, denn der pH-Wert der Lösungen blieb von der ersten bis zur letzten befüllten Flasche konstant.

Abbildung 4-2 gibt eine Übersicht über das Vorgehen zur Probenbehandlung. Es wird im einzelnen bei den jeweiligen Experimenten beschrieben. In Tabelle 4-1 ist eine Übersicht über die Bedingungen der verschiedenen Austauschexperimente gegeben. Die genaue Vorgehensweise wird auch hier beim jeweiligen Unterpunkt beschrieben.

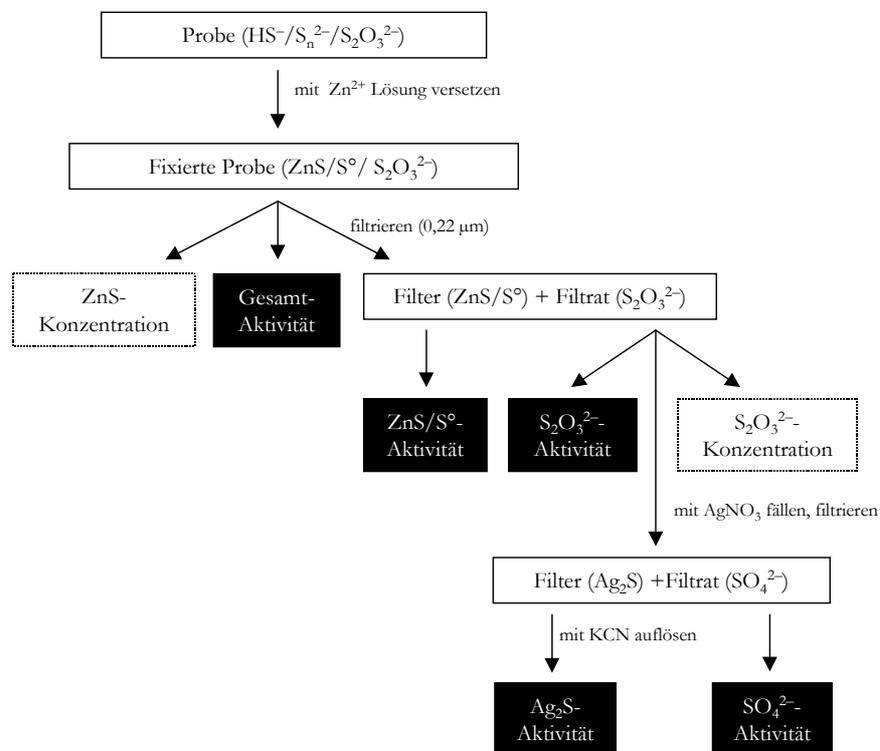


Abbildung 4-2: Probenbehandlungsschema für Austauschexperimente 2 (Spritzen/teilweise), 3 und 4 (Serumflaschen/ganz) (Konzentrationen: grau, Aktivitäten: schwarz)

Austausch-experiment	0	1	2	3	4
Beginn	8.12.97	24.4.98	8.5.98	16.5.98	23.6.98
Ende	19.12.97	29.4.98	15.5.98	21.5.98	30.6.98
Dauer/d	11	5	6	5	7
Gefäß	HP-/Fortuna-spritzen	2 Fortunaspritzen	2 SGE-Spritzen	Serum-flaschen	Serum-flaschen
Temperatur/°C	20	20	80	80	20/80
Anfangsbedingungen					
pH	7,0	7,0 bis 7,7	7,16	7,25	7,56
pH eingestellt mit	37 % HCl	85 % H ₃ PO ₄			
c(∑H₂S)/μmol l⁻¹	270/301	729/620	438/335	458	807/807
c(S₂O₃²⁻)/μmol l⁻¹	262/216	236/225	117/117	129	240/240
c(„S⁰“)/μmol l⁻¹	—	—	—	—	100/100
A(Probe)/kBq	—	29	13	33	37
Endkonzentrationen					
c(∑H₂S)/μmol l⁻¹	0/228	489/401	27/1	238	754/620
c(S₂O₃²⁻)/μmol l⁻¹	332/257	235/252	269/274	159	257/265

Tabelle 4-1: Übersicht über die Austauschexperimente 0 bis 4

4.3.1 Vorversuche

Als Schnelltest der Spritzendichtheit eignet sich folgendes Verfahren: Stickstoff- oder heliumgesättigtes Wasser in einer Glasflasche mit Gummistopfen, durch den zwei Schläuche mit angeflanschten Miniaturventilen (*Braun*) gesteckt sind, wird mit dem Redoxindikator Resazurin ($C_{12}H_6NO_4Na$, Abbildung 4-3) versetzt (Endkonzentration: 1 mg/l bzw. 4 $\mu\text{mol/l}$). Der Indikator geht in sauerstofffreien Medien zunächst einen ersten irreversiblen Reduktionsschritt zu Resorufin (Abbildung 4-4) ein, das bei einem pH um 7 rosa gefärbt ist. Es wird mit einem Körnchen Natriumdithionit in seine farblose reduzierte Form (Hydroresorufin, $E_0' = -0,051 \text{ V}$ bei $\text{pH} = 7,0$ und $30 \text{ }^\circ\text{C}$ [GERHARDT ET AL. 1994, S. 146]) überführt. Die zu testenden Spritzen lassen sich dann unter Luftausschluß befüllen, indem sie an eines der beiden Ventile angeschlossen werden, während durch das andere Stickstoff gedrückt wird, der einen Überdruck in der Flasche aufbaut. Das Ventil an der Spritze wird dann geschlossen, und man kann anhand der sich innerhalb von Stunden oder Tagen entwickelnden Rosafärbung beobachten, an welchen Stellen die Lösung in der Spritze oxidiert wird. Oft bildeten sich vorher Bläschen, die durch Zersetzung von Dithionit zu SO_2 o. ä. entstehen könnten.

Zum Vorabcheck der Spritzendichtheit bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ wurden die fraglichen Spritze mit Wasser gefüllt, das Ventil geschlossen und in den Trockenschrank gelegt. blieb die Masse konstant, so war die Spritzen-/Ventileinheit zumindest dicht gegen Wasserdampf.

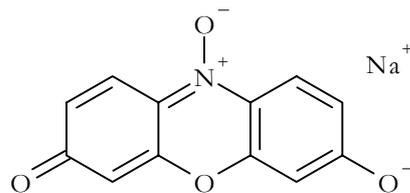


Abbildung 4-3: Struktur des Redoxindikators Resazurin (blau)

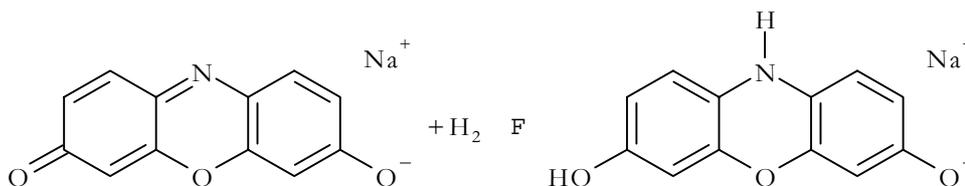


Abbildung 4-4: Reduktion von Resorufin (rosa) zu Hydroresorufin (farblos)

Ein späterer Test einer weiteren angeblich gasdichten Spritze (*SGE*) verlief bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ zwar befriedigend (Rosafärbung nach 2 Wochen), bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ wurde das in der Lösung vorhandene Sulfid jedoch innerhalb einer Woche oxidiert.

Vermutlich ist die Spritze gegenüber der Umgebungsluft tatsächlich gasdicht, jedoch scheint im Teflon so viel Sauerstoff gelöst zu sein, der bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ langsam freigesetzt wird, daß es zur Oxidation des Sulfids kommt. Dies ist gut zu sehen, wenn man der Inkubationslösung Resazurin zusetzt. Die anfänglich farblose, reduzierte Lösung färbt sich zuerst um die Teflondichtungen am Kolbenende und am Spritzenkopf rosa.

In einem Vorversuch (Parallelexperiment mit zwei gleichartigen *HP*-Glasspritzen) wurden gleiche Volumina einer ca. $500 \mu\text{mol/l}$ -Sulfidlösung mit einer ca. $70 \mu\text{mol/l}$ -

Thiosulfatlösung gemischt, mit konzentrierter Salzsäure auf pH=6,99 gebracht und bei 20 °C im Dunkeln inkubiert.

4.3.2 Kontrollen

In den Kontrollen sollte überprüft werden, ob der Versuchsaufbau generell geeignet ist, Austauschexperimente durchzuführen. Dazu wurde auch ein Experimente noch ohne zugesetzten ³⁵S-Tracer durchgeführt (Austauschexperiment 0). Es sollte insbesondere kontrolliert werden, ob der eingesetzte Tracer Veränderungen unterliegt, die nicht durch Sulfid verursacht werden, oder ob Verluste von Sulfid aufgrund Oxidation (durch eindiffundierenden Sauerstoff) und/oder Reaktion mit den Butylgummistopfen auftreten. Demgemäß wurden das Austauschexperiment 0 (vgl. 4.3.3) und parallel zu den Austauschexperimenten 3 und 4 Kontrollmessungen bei 20 °C und 80 °C durchgeführt.

Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0

Inkubationen von Sulfid und Thiosulfat allein wurden in je einer *HP*- und einer Fortuna-Glasspritze durchgeführt. Dazu wurden 0,719 g Na₂S·9 H₂O (3 mmol) in 294 ml Wasser gelöst (10 mmol/l), mit Salzsäure unter den unter 4.3 beschriebenen Bedingungen auf pH 7,0 gebracht und auf ein Zwanzigstel verdünnt. Außerdem wurde eine ca. 500 µmol/l-Thiosulfatlösung (300 ml) angesetzt, die mit einer Spatelspitze NaHCO₃ versehen wurde, um den pH-Wert zu puffern. Dies war bei späteren Experimenten nicht mehr nötig, weil Phosphorsäure zur Ansäuerung verwendet wurde, die selbst schon puffert.

Beide Lösungen wurden einzeln und im Verhältnis 1:1 gemischt (Austauschexperiment 0) inkubiert. Der pH-Wert der Thiosulfatlösung lag bei 6,9, der des Gemisches wurde nicht gemessen, muß aber auch um den Neutralpunkt gelegen haben.

Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 3

Für die Thiosulfat-Kontrolle wurden 8,4 ml der Thiosulfat-Stammlösung aus Austauschexperiment 3 (4.3.6) mit 4,2 ml Wasser verdünnt und inkubiert. Bei der Sulfid-Kontrolle wurden 4,2 ml der zwei Tage alten Stammlösung (1,35 mmol/l) mit 8,4 ml Wasser verdünnt (450 µmol/l). Die Stammlösung wies jedoch eine durch Oxidation veränderte Zusammensetzung auf (nach Verdünnung: 368 µmol/l Sulfid, 31 µmol/l S₂O₃²⁻, entsprechend einer Oxidation von etwa 20 % des Sulfids, wovon etwa 70 % zu Thiosulfat wurden), die mit den Austauschexperimenten parallel lief (Abnahme Sulfid: 25 %, davon 37 % zu Thiosulfat).

Die Messungen wurden nur am Anfang und Ende eines Drei-Tages-Zeitraums gemacht, und zwar je eine Einfachprobe für Thiosulfat und je eine Doppelprobe für Sulfid.

Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4

Für die Sulfidkontrolle in Austauschexperiment 4 wurden 51 mg (212 µmol) Na₂S·9 H₂O in ca. 300 ml stickstoffgesättigtem Wasser gelöst (0,7 mmol/l). Der pH-Wert dieser Lösung wurde mit 16 µl 85 %iger Phosphorsäure (237 µmol) auf 7,10 eingestellt.

Je 12,6 ml dieser Lösung wurden in Serumflaschen gefüllt, die jeweils 5 gewaschene Glasperlen (\varnothing 5 mm) enthielten, so daß praktisch kein Gasraum vorhanden war. Davon wurde je eine Doppelprobe parallel zu den Isotopenaustauschflaschen inkubiert.

Für die Thiosulfatkontrolle wurden zu 12 ml einer ca. 200 $\mu\text{mol/l}$ Thiosulfat-Stammlösung in einer Serumflasche mit 20 Glasperlen 10 μl Tracer (Endprodukt der Synthese Nr. 12/V138) hinzugefügt (Aktivität pro Flasche: 35 kBq).

Die Fixierung und Probenaufarbeitung erfolgte ansonsten wie für Austauschexperiment 4 unter 4.3.7 beschrieben.

4.3.3 Austauschexperiment 0: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C

In diesem Pilotexperiment wurde die Eignung von „gasdichten“ HP-Glasspritzen und Fortunaspitzen verglichen. Die Ausgangslösungen waren die gleichen wie unter 4.3.2 (Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0) beschrieben. Sie wurden im Handschuhsack direkt in der Spritze gemischt. Die Spritzen enthielten außerdem 2 Glaskügelchen zur Durchmischung vor der Probennahme. Je 1 ml Probe wurden in 1 ml 0,5%ige (w/v) Zinkchloridlösung (in einem 2 ml *Eppendorf*-Cup injiziert).

Bei der Injektion in die HPLC wurde ein Einmal-Minispritzenfilter (*Waters*, 0,45 μm) verwendet, um kein ZnS und/oder Schwefel auf die Säule gelangen zu lassen.

Zur Messung der Sulfidkonzentrationen mußten die Proben auf ein Zehntel verdünnt werden.

4.3.4 Austauschexperiment 1: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C

Die Sulfid-Stammlösung wurde mit 320 mg $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ in 250 ml N_2 -gesättigtem Wasser angesetzt (gravimetrisch: 5,3 mmol/l) und in der Stickstoff-Schutzgas-Atmosphäre mit 157 μl 12 mol/l HCl auf pH=7,71 gebracht.

Die Thiosulfat-Stammlösung (254 $\mu\text{mol/l}$) wurde durch Verdünnen von 2,6 ml einer 10 mmol/l Thiosulfat-Stammlösung auf 101,2 ml mit N_2 -gesättigtem Wasser und Zugabe von 1,0 ml Thiosulfat-Tracer (3,1 MBq, aus Synthese Nr. 7/V 109) hergestellt.

Bei Raumtemperatur (20 °C) wurde ein Parallelexperiment mit zwei Fortunaspitzen (Nominalvolumen: 20 ml) durchgeführt, die erst mit jeweils etwa 18 ml Thiosulfat-, dann mit zusätzlich 2 ml-Sulfidstammlösung gefüllt wurden. Das ergab folgende ungefähre Anfangskonzentrationen: ca. 530 μmol Sulfid und ca. 230 μmol Thiosulfat. Die realen Konzentrationen wichen etwas davon ab, weil die Skalen der Spritzen nicht sehr genau sind (\pm 0,5 ml). Die Gesamtaktivität pro Spritze betrug ca. 580 kBq.

Zur Probennahme wurden pro Zeitpunkt jeweils zwei *Eppendorf*-Cups mit je 1 ml 2 % ZnCl_2 (150 mmol/l) vorbereitet. Nur beim letzten Zeitpunkt wurde zum Vergleich auch eine Parallelprobe mit 1 ml 2 % $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ (90 mmol/l) konserviert. Es wurde jeweils eine Doppelprobe bestehend aus zweimal einem Milliliter gezogen. Der erste Milliliter der Doppelprobe war zum Durchspülen des Totvolumens gedacht. Es sollten die Konzentrationen an Sulfid im ersten und zweiten Milliliter verglichen werden, um zu sehen, welchen Einfluß die Oxidation der Flüssigkeit im Totvolumen auf die gemessene Sulfidkonzentration hat.

Die *Eppendorf*-Cups wurden jeweils mit der Zinklösung allein und mit der Zinklösung und der Probe zusammen gewogen, um die genaue Masse der Probe zu bestimmen. Es wurde von einer Dichte von 1 kg/dm^3 ausgegangen, weil die Lösungen noch recht verdünnt waren.

Zur weiteren Probenbehandlung wurden ohne vorherige Homogenisierung 100 μl der fixierten Proben entnommen, auf 1/19 verdünnt und die Sulfidkonzentration gemessen. Auch die Konzentration der Sulfid-Stammlösung wurde gemessen.

Danach wurde ein Aliquot (ca. 300 μl) zur Messung der Thiosulfat-Konzentration entnommen und erneut die Massen der *Eppendorf*-Cups mit den verbliebenen Proben bestimmt. Wegen unzufriedenstellender Ergebnisse bei der ersten Sulfidmessung wurde sie an dieser Stelle wiederholt (100 μl auf 1/10 verdünnt).

Jetzt konnte die ZnS-Filtration vorgenommen werden. Die restliche Lösung im *Eppendorf*-Cup wurde auf einen GF/F-Filter (Spritze 1) oder einen *Millipore* GSWP 0,22 μm -Filter (Spritze 2) gegeben und dreimal mit ca. 1 ml Wasser nachgespült. Zweckmäßigerweise sollte an dieser Stelle Zinksalzlösung verwendet werden, um Zinksulfid-Auflösung zu vermeiden. Dies wurde in späteren Austauschexperimenten gemacht. 1,055 ml des Filtrats und die Filter wurden zur Aktivitätsmessung ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ bzw. ZnS) verwendet.

In einigen Fällen wurde der Restgehalt an Sulfid im *Eppendorf*-Cup bestimmt, indem ein 1 ml Zinkchloridlösung in das Gefäß gegeben und mit Diaminreagenz versetzt wurden.

Zum letzten Meßzeitpunkt wurde auch die Gesamtaktivität in 100 μl der Probe vor allen anderen Manipulationen bestimmt.

4.3.5 Austauschexperiment 2: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 80 °C

Wegen der Wasserdampfdurchlässigkeit der Fortuna-Spritzen bei 80 °C sollten in diesem Experiment zwei 25 ml *SGE*-Spritzen parallel zum Einsatz kommen – trotz der schlechten Erfahrungen mit den *HP*-Spritzen. Sie enthielten zusätzlich je zwei kleine Glaskugeln zum Schütteln und Homogenisieren der Lösung vor der Probennahme. Das Experiment wurde in einem Wasserbad mit Metallabdeckung zur Wärme- und Lichtisolation durchgeführt.

Die Sulfid-Stammlösung wurde mit 310 mg $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ in 283 ml N_2 -gesättigtem Wasser angesetzt (gravimetrisch: 4,6 mmol/l) und in der Stickstoff-Schutzgas-Atmosphäre mit 90 μl 14,7 mol/l H_3PO_4 (85 %) auf pH=7,16 gebracht.

Die Thiosulfat-Stammlösung (ca. 127 $\mu\text{mol/l}$) wurde durch Verdünnen der Thiosulfat-Stammlösung aus Austauschexperiment 1 auf die Hälfte hergestellt.

Die Spritzen wurden erst jeweils mit etwa 22,5 ml Thiosulfat-, dann mit zusätzlich 2,5 ml-Sulfidstammlösung gefüllt. Das sollte folgende ungefähre Anfangskonzentrationen ergeben: ca. 460 μmol Sulfid und ca. 115 μmol Thiosulfat, was für Thiosulfat gut mit den realen Anfangskonzentrationen (117 $\mu\text{mol/l}$) übereinstimmt, bei Sulfid jedoch nur für die erste Spritze (438 $\mu\text{mol/l}$). Bei der zweiten war etwas N_2 -Gas beim Ansaugen der Sulfidlösung mit in die Spritze gelangt, so daß die Sulfidkonzentration geringer als geplant war (335 $\mu\text{mol/l}$). Die Gesamtaktivität pro Spritze betrug ca. 320 kBq.

Die Doppelproben von ca. 1 ml (erste Probe zur Kompensation des Totvolumens) wurden wieder als 1 %ige Zinkchlorid-Lösung (mit 1,003 ml 2 % ZnCl_2) konserviert, jedoch wurden diesmal sofort nach der Fixierung und 15 min Behandlung im Ultraschallbad (Kenndaten: vgl. Tabelle 3-3) Unterproben von je 50 μl für die Messungen der Gesamtaktivität und des $\sum\text{H}_2\text{S}$ -Gehaltes genommen und auf 1 ml verdünnt. *Eppendorf*-Cups wurden als Aufbewahrungsgefäße verwendet und die genauen Probevolumina durch Wiegen vor und nach der Probennahme bestimmt.

Außer bei den beiden letzten Probennahmezeitpunkten – wo sie aus dem ZnS-Filtrat bestimmt wurden – wurden die Thiosulfat-Konzentrationen direkt (vor der Filtration) gemessen.

Die erneut durch Ultraschall homogenisierten Proben wurden über einen GSWP 0,22 µm-Filter filtriert, die Filter mit fünfmal 1 ml Wasser nachgespült und die Aktivität per Flüssigszintillationszählung (vgl. 3.2.11) ermittelt.

4.3.6 Austauschexperiment 3: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 80 °C

Nachdem sich sowohl die Fortuna- als auch die HP-Spritzen für Experimente bei 80 °C als ungeeignet herausgestellt hatten, sollten Serumflaschen (*Wheaton*) mit Butylgummistopfen verwendet werden. Mit Hilfe von gewaschenen Glasperlen (ø 5 mm) wurde das Volumen der Flaschen so angepaßt, daß möglichst kein Gasraum mehr zwischen Flüssigkeit und Stopfen vorhanden war. Es wurde davon ausgegangen, daß die Stopfen bei 80 °C hinreichend inert sind und keine Reaktion mit dem Sulfid eingehen²³.

Wiederum wurde eine Sulfid-Stammlösung mit 125 mg $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ in 294 ml N_2 -gesättigtem Wasser angesetzt (gravimetrisch: 1,8 mmol/l) und in der Stickstoff-Schutzgas-Atmosphäre mit 27 µl 14,7 mol/l H_3PO_4 (85 %) auf pH=7,25 gebracht.

Die Thiosulfat-Stammlösung (ca. 198 µmol/l) wurde durch Verdünnen von 54 g der Thiosulfat-Stammlösung aus Austauschexperiment 2 mit 3 ml 10 mmol/l Thiosulfat-Stammlösung (nicht-radioaktiv) und Wasser auf 183 g hergestellt.

Die Serumflaschen wurden mit jeweils 8,4 ml Thiosulfat- und 4,2 ml Sulfidstammlösung gefüllt. Das sollte folgende ungefähre Anfangskonzentrationen ergeben: ca. 590 µmol/l Sulfid und ca. 132 µmol/l Thiosulfat, was für Thiosulfat gut mit den realen Anfangskonzentrationen (129 µmol/l) übereinstimmt, bei Sulfid jedoch nicht (458 µmol/l). Die Gesamtaktivität pro Flasche betrug ca. 33 kBq.

Es wurde pro Zeitpunkt jeweils eine Doppelbestimmung (2 Flaschen) durchgeführt, wobei jeweils die am frühesten und am spätesten befüllte Flasche genommen wurden, um eventuelle systematische Fehler durch H_2S -Austausch mit der N_2 -Atmosphäre im Handschuhsack aufdecken zu können. Nach Abkühlung der Gefäße wurde die Reaktion durch Injektion von 250 µl 5 mol/l ZnCl_2 durch den Butylgummistopfen gequenchet. Die Zink-Endkonzentration sollte somit bei 97 mmol/l gelegen haben.

Außer den Proben der beiden ersten Probennahmezeitpunkte wurden die Filter für die ZnS-Filtration (GSWP 0,22 µm) in diesem Austauschexperiment mit 1 % ZnCl_2 -Lösung (73 mmol/l, je fünfmal 3 ml) nachgespült, weil sich gezeigt hatte, daß die Aktivitäten auf den Filtern dann höher sind (vgl. 4.3.8). Außerdem wurde das erste Filtrat ein zweites Mal filtriert und auch dieser Filter gezählt.

Die Thiosulfatkonzentrationen wurden aus den Filtraten gemessen, wie in dem Probenbehandlungsschema angegeben (vgl. Abbildung 4-2).

4.3.7 Austauschexperiment 4: $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C und 80 °C

Aus 306,28 mg $\text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 10 ml Wasser wurde eine 0,1 mol/l Tetrathionat-Stammlösung hergestellt. 300 µl davon wurden zu einer Lösung von 73 mg $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9$

²³ Die Vulkanisation von Natur- und Synthekautschuken wird bei Temperaturen von 120 bis 160 °C vorgenommen [FALBE & REGITZ 1995]. Auch liegen die Schwefelverbindungen in der Lösung als Anionen vor, was einen elektrophilen Angriff auf noch ungesättigte Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen im Polymerisat unwahrscheinlich macht. Wurde allerdings Schwefel (anstelle von Peroxiden o. ä.) zur Vulkanisation des Butylkautschuks verwendet, so wäre eine Reaktion damit nicht auszuschließen.

H₂O in 292 ml N₂-gesättigtem Wasser gegeben. Dies sollte eine Lösung mit etwa 205 µmol/l Thiosulfat- und zwischen 835 und 921 µmol/l Sulfidgehalt, je nach Polysulfid-Speziation ergeben. Sie wurde im Handschuhsack mit 15 µl 14,7 mol/l H₃PO₄ auf pH=7,56 eingestellt. Die tatsächliche Sulfidkonzentration lag am Anfang im Mittel bei 807 µmol/l, wahrscheinlich aufgrund von H₂S-Verlusten während der Ansäuerung.

Zu der Polysulfid-/Sulfid-/Thiosulfatlösung wurden 250 µl des Endprodukts der Synthese Nr. 12/V138 gegeben, entsprechend einer Aktivität von 900 kBq.

Je 12 ml der so vorbereiteten Lösung wurden in Serumflaschen mit je 20 Glasperlen gefüllt (36,7 kBq pro Flasche). Etwa die Hälfte der Flaschen wurde bei 20 °C im Dunkeln, die andere Hälfte im Wasserbad bei 80 °C inkubiert.

Zum Abbruch der Reaktion wurden pro Flasche 250 µl einer 5 mol/l Zinkchlorid-Lösung durch die Butylgummistopfen injiziert. Die erhitzten Flaschen wurden vor Injektion des Zinkchlorids auf Raumtemperatur abgekühlt.

Die Gesamtaktivität und Sulfidkonzentration wurden direkt aus den Flaschen bestimmt, die Lösungen zweimal filtriert und – wie im Austauschexperiment 3 – die Thiosulfat-Konzentrationen erst dann bestimmt.

Bei diesem Austauschexperiment wurde auch eine Auftrennung in äußeres und inneres Schwefelatom des Thiosulfats versucht (Methode: vgl. 4.3.9). Je 2 ml des Filtrats der ZnS-Fällung (das noch ca. 0,2 mol/l Cl⁻ enthielt) wurden mit 1 ml 2 mol/l AgNO₃ (2 mmol, fünffacher Überschuß bezüglich Chlorid) und 100 µl 30 mmol/l Thiosulfat-Trägermaterial (3 µmol) versetzt. Die Fällung (ohne Erhitzen) ergab nach ca. 15 Minuten einen weiß-bräunlichen Niederschlag von AgCl und Ag₂S.

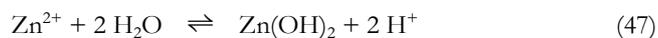
50 µl des Überstands wurden mit 950 µl Wasser verdünnt und direkt gezählt. Bei *t*SIE-Werten um 200 war eine Quenchkorrektur notwendig (vgl. 4.4.7). Das Ag₂S wurde über einen GSWP 0,22 µm-Filter abgetrennt und dreimal mit 1 ml Wasser gewaschen. Der Filter wurde samt Niederschlag in 1 ml 6 mol/l KCN (pH=12,2) gegeben, so daß sich das Ag₂S auflöste. Die nun klare Lösung wurde mit 4 ml Wasser verdünnt. Davon wurden 50 µl abgenommen, mit 950 µl Wasser auf 1 ml aufgefüllt und die Aktivität gemessen.

4.3.8 Trennung von Zinksulfid und Thiosulfat

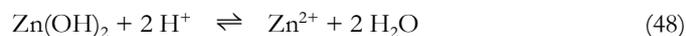
Sulfid wurde durch Fällung als Zinksulfid und Filtration von Thiosulfat abgetrennt. Thiosulfat reagiert nicht mit Zink-Ionen [GMELIN-INSTITUT 1960, S. 923]. Cd²⁺ bildet zwar ein weniger säurelösliches Sulfid, fällt jedoch in geringem Maße CdS aus neutralen Thiosulfatlösungen [GMELIN-INSTITUT 1960, S. 924] und ist außerdem human- und ökotoxikologisch bedenklicher. Pb²⁺ erscheint aufgrund der schwarzen Färbung von PbS ungeeignet, die wahrscheinlich bei der Szintillationsmessung stören würde (vgl. 3.2.11) oder zumindest die Aufnahme einer Quenchkurve erfordert hätte (vgl. 4.4.7).

Zur Fällung des Sulfids (bei pH 7 ca. 50 % HS⁻, 50 % H₂S) wurden sowohl Zinkacetat als auch Zinkchlorid benutzt. Zinkchlorid hat den Vorteil, daß es bei der HPLC-Detektion nicht stört, während Acetat wie Thiosulfat bei der verwendeten Wellenlänge von 216 nm absorbiert. Praktisch hat dies allerdings keine Bedeutung, denn unter den gegebenen Elutionsbedingungen erscheint der Acetat-Peak deutlich vor dem Thiosulfatpeak (Retentionszeit: ca. 0,76 min gegenüber ca. 2,7 min für Thiosulfat bei 60 mm Säulenlänge, 1 ml/min und 80 mmol/l NaCl).

Die am häufigsten verwendete 2 %ige Zinkchloridlösung ist nie klar, sondern zeigt immer eine Ausfällung von Zinkhydroxid, so daß sie deutlich sauer reagiert:



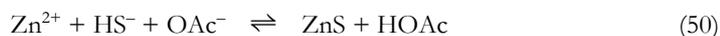
Dies tritt allerdings nur im pH-Bereich um den Neutralpunkt auf [JANDER & BLASIUS 1990, S. 343]²⁴. Im sauren (als Zn²⁺) oder basischen (Hydroxozincatbildung) löst sich das Hydroxid wieder auf:



Deshalb sind höher konzentrierte Zinkchloridlösungen (z. B. 20 %) auch wieder klar.

Die sauren Zinkchloridlösungen können zu Verlusten an H₂S führen, wenn die Fällung mit Zn²⁺ nicht schnell genug vor sich geht, die Zn²⁺-Konzentration also zu gering ist.

Der Vorteil der Verwendung von Zinkacetat ist, daß es praktisch von selbst einen günstigen pH-Bereich zur Fällung „einstellt“ und die bei der Fällung entstehenden H⁺-Ionen abpuffert:



In Lösungen, die Polysulfid enthalten, wird das Polysulfid bei Zugabe eines Zinküberschusses zu Schwefel und Zinksulfid zersetzt. Schwefel fällt zusammen mit Zinksulfid als Elementarschwefel aus:



Das entstandene Zinksulfid wurde dann über ein *Millipore* GSWP 0,22 µm-Membranfilter (Material: Cellulosenitrat-/Celluloseacetat-Mischester) abgetrennt und die zurückgehaltene Aktivität (aus Sulfid oder ggf. aus Sulfid und Polysulfid) nach Auflösung im Szintillationscocktail gemessen.

Zur Filtration wurde die Unterhälfte eines *Sartorius*-Filterhalter mit *Luer*-Anschluß verwendet. Mit Hilfe einer Membranpumpe wurde ein Vakuum angelegt und die Reaktionslösung direkt auf den Filter pipettiert. Die Filter wurden bei den ersten Austauschexperimenten mit Wasser, später jeweils mit Zinksalz-Lösung nachgespült.

Verschiedene Filtertypen und Zinklösungen wurden ausprobiert, um die Methodik zu optimieren.

Zu jeweils 1 ml Tracer (auf 1:100 verdünntes Endprodukt von Synthese Nr. 7/V109) wurden entweder nichts, 1 ml Wasser, 1 ml 2%ige Zinkchlorid (147 mmol/l) oder 1 ml 2%ige Zinkacetat-Lösung (91 mmol/l) gegeben und in zwei Fällen leicht angesäuert.

Als Szintillationscocktails wurden entweder *Packard Ultima Gold XR* (UGXR) oder *Packard Filter-Count* (FC) verwendet, als Filter kleine (ø 12,5 mm) und große GF/F-Filter (ø 25 mm) oder GSWP 0,22 µm-Membranfilter. Die Filter wurden mit jeweils 5 ml Wasser nachgewaschen, das vorher jeweils zum Ausspülen der *Eppendorf*-Cups verwendet wurde. Die Restaktivität im *Eppendorf*-Cup wurde durch Ultraschallbehandlung und Auswaschen mit einem sechsten Milliliter bestimmt. Der pH-Wert wurde mit einem *Merckoquant* pH-Teststäbchen (Bereich: 1 bis 14) gemessen.

²⁴ Mit einem pH-Teststäbchen wurden für die verwendete 2%ige Lösung pH-Werte von 5 bis 6 gemessen.

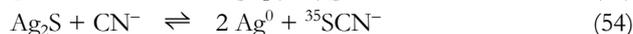
Bei einer zweiten Filtration des Filtrats fanden sich nur noch etwa 0,2 % der Gesamtaktivität auf dem Filter, was als vernachlässigbar angesehen wurde. Eine Filtration sollte also ausreichend sein.

4.3.9 Auftrennung der Sulfan- und Sulfonat-Schwefelatome im Thiosulfat

Nach Abtrennung des Sulfids und Elementarschwefels durch Filtration können die beiden nichtäquivalenten Thiosulfat-Schwefelatome durch Fällung mit einem Überschuß an AgNO_3 aufgetrennt werden (Reaktion 33). Das entstandene Silbersulfid kann dann abfiltriert oder der Überstand abpipettiert werden. Silbersulfid ist wegen seiner Färbung und wegen der inhomogenen Verteilung in der Lösung nicht gut zur Messung der Radioaktivität im Flüssigszintillationszähler geeignet und muß erst in eine lösliche Form überführt werden.

Silbersulfid ist zwar in rauchender HCl (12 mol/l) oder in konzentrierter HNO_3 (14 mol/l) löslich [JANDER & BLASIUS 1990, S. 278], jedoch muß der entstehende Schwefelwasserstoff dann in einer geeigneten Waschflaschenanordnung aufgefangen werden. Dies wurde in einer selbstgebauten Miniatur-Destillationsanlage aus *Sartorius*-Einmalreagenzröhrchen, Butylgummistopfen und Teflonschläuchen versucht. Stickstoffgas wurde durch die Silbersulfidsuspension geleitet, zu der über eine luftdicht angeflanschte Spritze die Salzsäure gegeben wurde. Das sich entwickelnde Schwefelwasserstoffgas wurde in Zinksalze (Acetat oder Chlorid) enthaltenden Fallen aufgefangen und kann später nach der Methylenblau-Methode (vgl. 3.2.10) gemessen werden. Auch seine Aktivität läßt sich dann bestimmen.

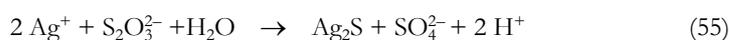
Alternativ dazu kann zur Bestimmung radioaktiven Ag_2^{35}S der Niederschlag mit Cyanid aufgelöst werden und nach Verdünnung die Aktivität der homogenen Lösung bestimmt werden:



Reaktion (53) ist endergon ($\Delta_R G^\circ = 53,95 \text{ kJ/mol}$), wird aber wohl bei großem Cyanidüberschuß ablaufen. Reaktion (54) ist thermodynamisch begünstigt ($\Delta_R G^\circ = -39,03 \text{ kJ/mol}$) [CHEMISCHE INSTITUTE DER UNIVERSITÄT HAMBURG 1981], jedoch habe ich keine Silberabscheidung beobachtet (vielleicht lag es kolloidal vor). Ag^+ wird als Dicyanosilberkomplex maskiert und kann kein Thiocyanat oder Sulfid mehr ausfällen. In jedem Fall wird die ^{35}S -Aktivität in eine leicht meßbare lösliche Form überführt. Dieses Cyanid-Verfahren wurden bei Austauschexperiment 4 angewandt. Der Silbernitratüberschuß sollte nicht zu groß sein, weil ansonsten unverhältnismäßig viel Cyanid zur Auflösung verwendet werden muß. Außerdem beeinträchtigt eine zu hohe Salzkonzentration die Flüssigszintillationsmessung.

Fällung mit Silbernitrat

Die Reaktion (55) eignet sich zur Trennung der Sulfan- und Sulfonatschwefelatome im Thiosulfat, weil dabei im Temperaturbereich von 0 °C bis 100 °C kein Isotopenaustausch auftritt [ANDERSEN 1936, SMOCK ET AL. 1998].



Die entstehende Säure stört nicht, weil das bei den Austauschexperimenten ausgefallte Zinksulfid vorher abfiltriert wird.

In ersten Versuchen hatte ich versucht, die Reaktion im Wasserbad durchzuführen. Das führte jedoch zu Problemen, weil die verwendeten Gefäßen entweder nicht hitzestabil waren (Plastikreagenzröhrchen) oder beim Sieden die Stopfen herausflogen (Reagenzgläser mit Gummistopfen, Venjectgläser). Kulturröhrchen mit Septum und Schraubkappe waren geeignet, jedoch ließ sich aus ihnen die Reagenzlösung hinterher nur schwer mit der Pipette entnehmen, weil die Öffnung zu klein war. Am besten waren dickwandige *Duran*-Präparateröhrchen (Länge: 100 mm, Durchmesser: 16 mm) geeignet.

Später stellte sich heraus, daß es genügte, die Reaktion bei Raumtemperatur durchzuführen, denn nach etwa 15 Minuten war die Silbersulfidfällung abgeschlossen.

Für die Vorversuche wurden je 1 ml 200 $\mu\text{mol/l}$ Thiosulfat-Lösung mit 10 μl Tracer (Endprodukt aus Synthese Nr. 7/V 109, ca. 250 $\mu\text{mol/l}$, 0,5 kBq) und 0,1 ml 10 mmol/l Silbernitrat-Lösung (2,5facher Überschuß) versetzt. Nach Fällung und Abkühlung der Lösung wurde sie zentrifugiert und der Überstand entweder abpipettiert (Vorversuch 1) oder abfiltriert (Vorversuche 2 bis 4). 100 μl des Überstands wurden mit 900 μl Wasser verdünnt und die Aktivität gemessen. Der Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen und in alkalischer Kaliumcyanidlösung aufgelöst.

Kaliumcyanid-Aufschluß des Silbersulfids

Der Cyanid-Aufschluß stellte sich gegenüber dem Destillationsverfahren als überlegen heraus (vgl. 4.4.9). Aus Sicherheitsgründen wurde die Cyanidlösung alkalisch gemacht, was aber bei der Messung der Aktivität zu Quenching [KESSLER 1989] führt, so daß die Proben zur Messung auf ein Fünfstel verdünnt werden mußten.

Mit 6,5 g KCN (0,1 mol) und 91 mg KOH ($\geq 87\%$, ca. 1,4 mmol) wurden 100 ml einer 1 mol/l KCN-Lösung ($\text{pH} > 12$) hergestellt. Bei diesem pH liegen nur etwa 0,1 % des Cyanids als Blausäure (HCN , $\text{p}K_{\text{S}} = 9,2$) [STUMM & MORGAN 1996] vor, von der wiederum nur ein Teil in die Gasphase übergeht.

Nach Auflösen des Niederschlags mit 1 ml KCN-Lösung wurde die KCN-haltige Lösung mit 4 ml Wasser auf ein Fünftel verdünnt, 100 μl davon weiter auf 1 ml verdünnt und die Aktivität gemessen. Wenn der Niederschlag abfiltriert wurde, wurde die Filtermembran so lange mit der KCN-Lösung geschüttelt, bis sich der Niederschlag aufgelöst hatte.

Es wurden *Whatman GF/F*-Filter sowie *Millipore GSWP* (0,22 μm) und *Millipore HVLP* (0,45 μm)-Membranen getestet. Die GSWP-Membranen färbten die Cyanidlösung nach einer Weile gelb bis braun, wohl durch Zersetzung des Filtermaterials (Cellulosenitrat-/Celluloseacetat-Mischester). Nach angemessener Verdünnung ist jedoch keine Quenchkorrektur erforderlich (vgl. aber 4.4.7). Eine Färbung durch kolloidales Silber (vgl. Reaktion 54) ist auszuschließen, weil sie auch bei den anderen Filtertypen hätte auftreten müssen.

4.4 Resultate

In den folgenden Diagrammen sind in einigen Fällen Fehlerbalken angegeben. Dort wurden Mehrfachbestimmungen (n Einzelmessungen) des jeweiligen Parameters vorgenommen und Mittelwert \bar{x}

$$\bar{x} = 1/n \sum_{i=1}^n x_i$$

sowie Standardabweichung des Mittelwertes s_m auf dem 95 %-Vertrauensniveau

$$s_{\bar{x}} = 1,96 / \sqrt{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

berechnet [SKOOG & LEARY 1996, S. 768].

In den anderen Fällen handelt es sich nur um Einfachbestimmungen. Da es jedoch Zeitserien sind, würde sich ein „Ausreißer“ auf jeden Fall bemerkbar machen.

Die Korrektur unterschiedlicher Probenvolumina geschah durch Auswiegen der Proben und Berücksichtigung bei den Berechnungen der Aktivitäten. Es war dann nicht mehr nötig, sich auf die Gesamtaktivität in der Probe zu beziehen, die verglichen mit den Aktivitäten der Filter- und Filtratfraktion (Zninksulfid und Thiosulfat) ohnehin sehr geringe Schwankungen zeigte.

Bei den Auftragungen der Aktivitäten und spezifischen Aktivitäten beider Fraktionen mußten in den meisten Fällen zwei unterschiedliche Ordinaten (als linke und rechte Skala bezeichnet) verwendet werden, um eine klare Darstellung zu ermöglichen. In den Experimenten mit Tracerzusatz beginnt die Aktivität des Zinksulfid-Niederschlags nicht bei Null. Der Hintergrund dazu ist 4.4.8 erläutert.

4.4.1 Vorversuche

Bei den in den Abbildungen vor $t=0$ gezeigten Werten handelt es sich um die vorausgerechneten Konzentrationen vor der Mischung von Sulfid und Thiosulfatlösungen. Der kleine Anstieg der gemessenen Sulfidkonzentration zwischen $t=0$ und $t=0,15$ d (Abbildung 4-5) ist wahrscheinlich durch den Wechsel von 0,5 %iger zu 2 %iger Zinkchloridlösung bedingt (vervollständigte Fällung). Die anfangs niedriger als vorausgerechnet liegende Thiosulfatkonzentration ist zum Teil durch die nur ungenau zu bestimmenden Volumenverhältnisse in der Spritze verursacht.

Die angeblich gasdichten *HP*-Glasspritzen mit Teflondichtungen sind nicht zur Untersuchung des Austauschs zwischen Thiosulfat und Sulfid geeignet. Durch langsam aus dem Teflon hinausdiffundierenden Sauerstoff tritt Oxidation des Sulfids ein, wobei ein großer Teil der Oxidationsprodukte in den Thiosulfatpool übergeht (Abbildung 4-5). Man zieht dazu die Stoffmengenbilanz, $\alpha(\sum S)$, aus Schwefelatomen in der Lösung, indem man die Sulfid- und die zweifache Thiosulfatkonzentration aufaddiert. Diese Bilanz hat am Ende des Austauschexperiments fast wieder den Wert, den sie beim Vergleichszeitpunkt $t=0,15$ d hat. Zwischenzeitlich könnte Schwefel (oder Polysulfid) als Oxidationsprodukt auftreten, jedoch waren keine Ausfällungen sichtbar. Thiosulfat scheint das thermodynamisch stabilste Produkt zu sein.

Man erkennt auch, daß die Thiosulfatkonzentrationen in beiden Spritzen parallel verlaufen, während die Sulfidkonzentration in der zweiten Spritze schneller abzunehmen scheint als in der ersten. Der nicht gemessene Schwefelpool scheint hier größer zu sein.

Als Konsequenz aus diesen Beobachtungen wurden in Austauschexperiment 0 und den dazugehörigen Kontrollen (Thiosulfat- und Sulfidlösung allein) parallel zu den *HP*-Glasspritzen Fortuna-Glasspritzen eingesetzt.

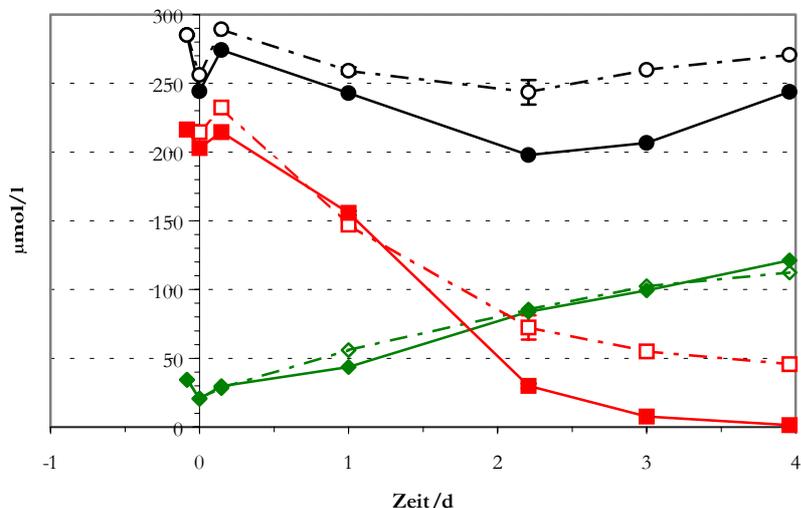


Abbildung 4-5: Vorversuch, $HS^-/S_2O_3^{2-}$, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=6,99$, *HP*-Spritzen, Konzentrationen

$\alpha(\Sigma H_2S)$ (1. Spritze: □, 2. Spritze: ■)

$\alpha(S_2O_3^{2-})$ (1. Spritze: ◇, 2. Spritze: ◆)

$\alpha(\Sigma S)$ (1. Spritze: ○, 2. Spritze: ●)

4.4.2 Kontrollen

Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0

Die Abbildung 4-6 (Nur-Sulfid-Kontrolle) und Abbildung 4-7 (Nur-Thiosulfat-Kontrolle) zeigen, daß Fortuna-Glasspritzen besser geeignet sind zur Durchführung der Austauschexperimente. Die Thiosulfatkonzentration bleibt zwar bei beiden Spritzentypen über die Versuchszeiten von 4 bzw. 7 Tagen konstant (Abbildung 4-7), jedoch nimmt die Sulfidkonzentration bei den *HP*-Spritzen deutlich ab (Abbildung 4-6). Bei der Zunahme der Sulfidkonzentration in den Fortuna-Spritzen handelt es sich wahrscheinlich um ein meßbedingtes Artefakt. Es könnte zum ersten dadurch bedingt sein, daß die ersten Proben vor der Messung am längsten gelagert wurden (ca. 3 Tage) und dadurch Inhomogenitäten in der mit Zinkchlorid fixierten Probe entstanden sind, z. B. durch Absorption des Zinksulfid-Niederschlags an die Gefäßwände. Zum zweiten könnte es sein, daß zufällige Fehler bei der Probennahme auftraten (unterschiedlich große herausgedrückte Volumina). Dieser letzte Fehler wurde bei den späteren Austauschexperimenten durch Wiegen der *Eppendorf*-Cups vor und nach der Probennahme ausgeschlossen.

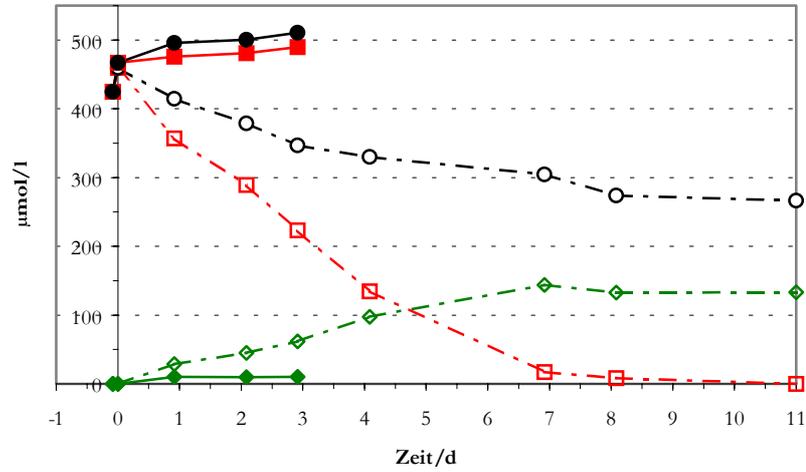


Abbildung 4-6: Nur-Sulfid-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,0$, HP- und Fortunaspritzen, Konzentrationen
 $c(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (HP-Spritze: \square , Fortuna-Spritze: \blacksquare)
 $c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (HP-Spritze: \diamond , Fortuna-Spritze: \blacklozenge)
 $c(\Sigma\text{S})$ (HP-Spritze: \circ , Fortuna-Spritze: \bullet)

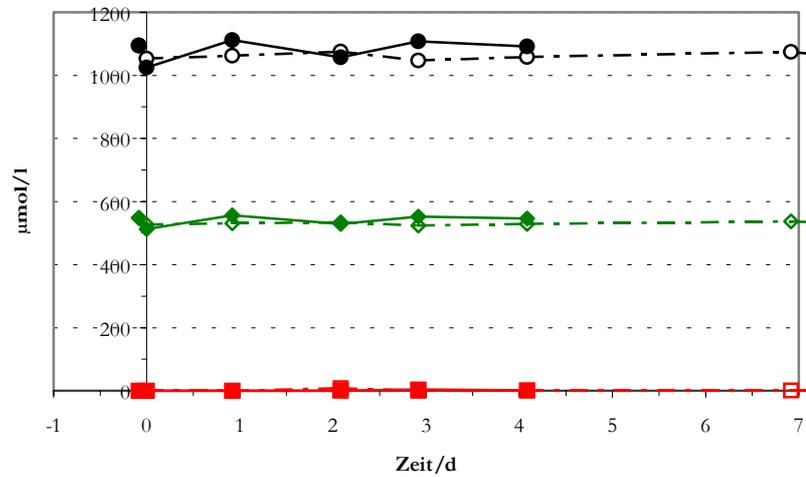


Abbildung 4-7: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,0$, HP- und Fortunaspritzen, Konzentrationen
 $c(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (HP-Spritze: \square , Fortuna-Spritze: \blacksquare)
 $c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (HP-Spritze: \diamond , Fortuna-Spritze: \blacklozenge)
 $c(\Sigma\text{S})$ (HP-Spritze: \circ , Fortuna-Spritze: \bullet)

Der Verlust von Zinksulfid durch Adsorption an die Gefäßwände während der Lagerung wurde später gegebenenfalls durch Ultraschallbehandlung vermindert, obwohl auch dann noch Zinksulfidreste im Gefäß verbleiben, was sich daran zeigt, daß sich der Inhalt eines ausgewaschenen und mit 1 %iger Zinkchloridlösung gefüllten Gefäßes beim Versetzen mit Diaminreagenz blau färbt (Methylenblau-Bildung). Am günstigsten war es, die Probe sofort nach der Fixierung zu verdünnen, so daß sie zur Sulfidmessung (3.2.10) nur noch mit Diaminreagenz versetzt werden mußte.

Anders als bei dem Vorversuch (vgl. vorheriger Abschnitt 4.4.1) nimmt in Abbildung 4-6 auch die Gesamtschwefelbilanz in der *HP*-Spritze ab, wenn man nur Sulfid und Thiosulfat berücksichtigt. Ein Teil der Oxidationsreaktionen von Sulfid gehen also nicht über Thiosulfat. Als weitere Oxidationsprodukte kommen elementarer Schwefel, Polysulfid, Sulfit, Sulfat und Polythionate in Betracht. Thiosulfat selbst wird nur sehr langsam oxidiert (vgl. 3.1.4). Diesen Befunden folgend wurde im ersten Austauschexperiment mit Radioaktivität (bei 20 °C) eine Fortuna-Glasspritze eingesetzt.

Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 3

Am Ende des dreitägigen Meßzeitraums war alles Sulfid oxidiert, und zwar zu 34 % zu Thiosulfat (keine Abbildung). Der Rest muß in nicht detektierten Schwefelverbindungen gelandet sein. Auch die Thiosulfat-Kontrolle wies Zersetzungserscheinungen auf (47 %), die nicht im Einklang stehen mit dem Austauschexperiment selbst und anderen Kontrollexperimenten. Diese inkonsistenten Ergebnisse ließen die Kontrollen während Austauschexperiment 3 als nicht zur Interpretation anderer Resultate geeignet erscheinen.

Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4

Wie im eigentlichen Austauschexperiment schwanken die Sulfidkonzentrationen bei 80 °C mehr als bei 20 °C. Anders als dort nehmen jedoch auch die Konzentrationen bei 20 °C ab. Die Abnahme der Sulfidkonzentrationen in der Sulfidkontrolle lief nicht im Einklang mit der Zunahme der Thiosulfatkonzentrationen (Abbildung 4-8). Entweder wurde das Sulfid zu anderen Schwefelverbindungen oxidiert und/oder reagierte mit dem Butylgummi der Stopfen auf den Serumflaschen.

Der pH-Wert der Sulfid-Proben wurde am Ende des Experiments mit einem pH-Teststäbchen (pH=1–14) bestimmt. Er lag bei 7,0 ($\pm 0,5$), identisch mit dem Ausgangswert.

Die Thiosulfatkonzentrationen in der Thiosulfatkontrolle (Abbildung 4-9) bleiben ziemlich konstant, auch wenn nach 6,5 Tagen ein wenig Sulfid nachweisbar ist, das wahrscheinlich durch Zersetzung des Thiosulfats entstanden ist.

Bei der Thiosulfatkontrolle lag der pH am Ende bei 7,5 ($\pm 0,5$), was im Rahmen der Genauigkeit der pH-Teststäbchen ebenfalls identisch mit dem Ausgangswert von 7 ist.

Die Aktivität des ZnS-Niederschlags bleibt im Nur-Thiosulfat-Experiment weitgehend konstant (Abbildung 4-10) Im Mittel wurden bei 20 °C ($4,1 \pm 1,0$) % der Gesamtkonzentration, bei 80 °C ($2,5 \pm 0,8$) % im Niederschlag wiedergefunden.

Auch die spezifischen Aktivitäten (Abbildung 4-11) bleiben – wie die Lösungszusammensetzung – etwa konstant.

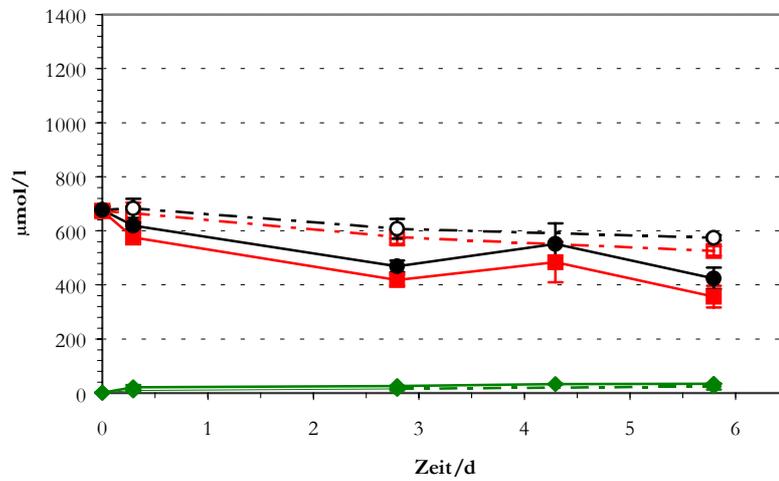


Abbildung 4-8: Nur-Sulfid-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4,
 $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, Serumflaschen, Konzentrationen
 $\alpha(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (20 °C: □, 80 °C: ■)
 $\alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (20 °C: ◇, 80 °C: ◆)
 $\alpha(\Sigma\text{S})$ (20 °C: ○, 80 °C: ●)

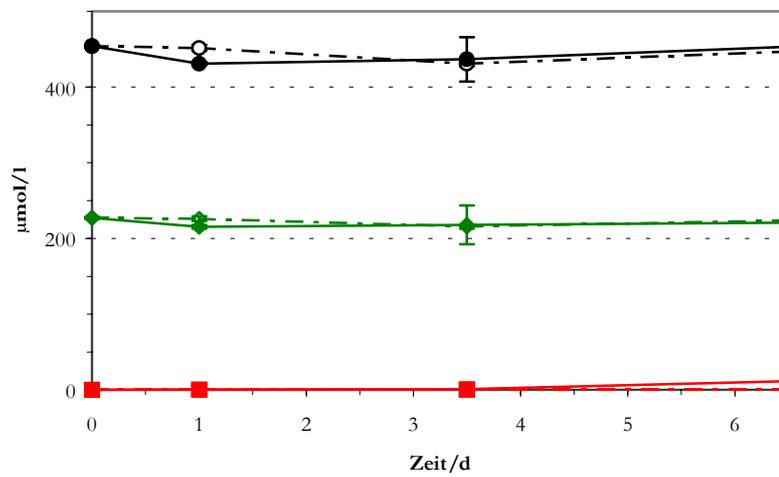


Abbildung 4-9: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4,
 $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, Serumflaschen, Konzentrationen
 $\alpha(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (20 °C: □, 80 °C: ■)
 $\alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (20 °C: ◇, 80 °C: ◆)
 $\alpha(\Sigma\text{S})$ (20 °C: ○, 80 °C: ●)

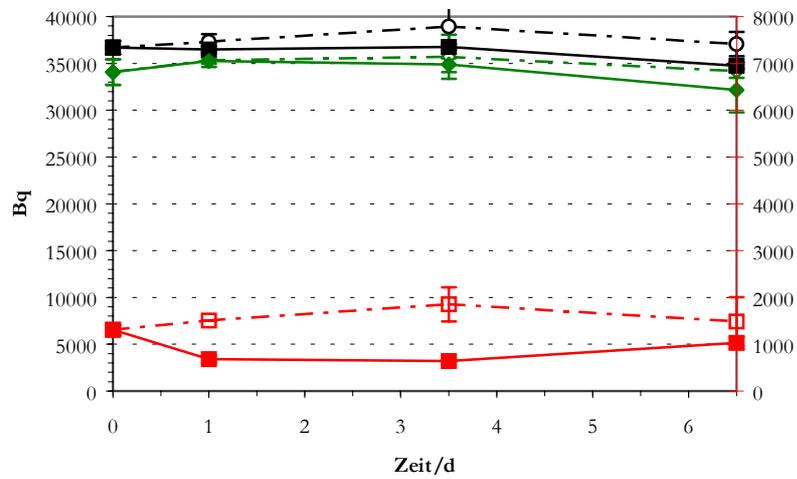


Abbildung 4-10: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4,
 $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $\text{pH}=7$, Serumflaschen, Aktivitäten
 $A_{\text{Sulfid-Filtrat}}$ (rechte Skala, 20 °C: \square , 80 °C: \blacksquare)
 $A_{\text{Thiosulfat-Filtrat}}$ (linke Skala, 20 °C: \diamond , 80 °C: \blacklozenge)
 $A_{\text{Sulfid-Filtrat+Thiosulfat-Filtrat}}$ (linke Skala, 20 °C: \circ , 80 °C: \bullet)

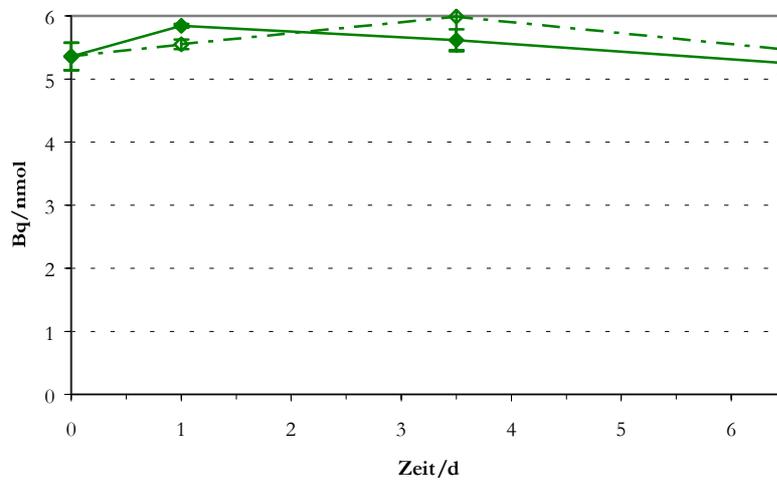


Abbildung 4-11: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4,
 $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $\text{pH}=7$, Serumflaschen, Spezifische Aktivität
 $x_{\text{Thiosulfat}}$ (20 °C: \diamond , 80 °C: \blacklozenge)

4.4.3 Austauschexperiment 0: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C

Im Austauschexperiment 0 (Abbildung 4-12) zeigen sich ähnliche Oxidationserscheinungen des Sulfids wie in der Nur-Sulfid-Kontrolle (Abbildung 4-6). Sowohl in der *HP*-als auch in der Fortunaspritze verschwinden Teile des Sulfids und tauchen größtenteils im Thiosulfatpool wieder auf. Nach mehr als vier Tagen scheint jedoch auch der Thiosulfatpool abzunehmen (und damit im Einklang die Schwefel-Bilanz), was weitere Oxidation durch aus dem Teflon der Spritzendichtung heraus oder von außen hinein diffundierenden Sauerstoff anzeigt.

Anders als im Kontrollexperiment nimmt hier auch die Sulfidkonzentration in der Fortunaspritze ab. Vielleicht spielt Thiosulfat dabei eine autokatalytische Rolle.

Diese Ergebnisse lassen die Versuchsanordnung zur Messung des Isotopenaustauschs ungeeignet erscheinen, weil durch Oxidation ein scheinbarer Austausch vorge-täuscht würde. Aufgrund entgegengesetzter Erfahrungen aus den Kontrollen wurde sie trotzdem zunächst für die Austauschexperimente 1 und 2 beibehalten.

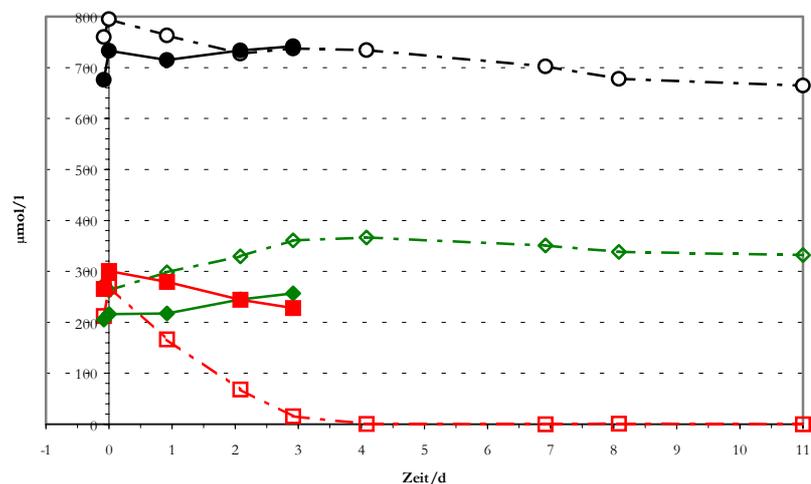


Abbildung 4-12: Austauschexperiment 0, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=20\text{ °C}$, $\text{pH}=7,0$, *HP*- und Fortuna-Spritzen, Konzentrationen

$\alpha(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (*HP*-Spritze: □, Fortuna-Spritze: ■)

$\alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (*HP*-Spritze: ◇, Fortuna-Spritze: ◆)

$\alpha(\Sigma\text{S})$ (*HP*-Spritze: ○, Fortuna-Spritze: ●)

4.4.4 Austauschexperiment 1: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, 20 °C

Der pH-Wert dieser Versuchsreihe ist nicht genau bekannt. Er muß zwischen 7 (pH der Thiosulfatstamm-lösung) und 7,7 (pH der Sulfidstamm-lösung) gelegen haben.

Konzentrationen

Probleme traten zunächst bei der Zinksulfid-Bestimmung auf. Bei einer ersten Messung waren die Proben vor dem Verdünnen (10fach) nicht auf dem Vortexer homogenisiert worden. Teilweise lagen die Meßwerte für Sulfid dann nahe Null (nicht abgebildet), weil sich das Zinksulfid auf dem Boden des *Eppendorf*-Reaktionsgefäßes abgesetzt hatte. Beim zweiten Meßdurchgang (in Abbildung 4-13 und Abbildung 4-14 gezeigt) besserte sich dies deutlich. Nochmalige Verbesserungen lassen sich durch die Benutzung eines Ultraschallbads erzielen. Allerdings führt die dabei erfolgende Zerstörung der ZnS-Flocken auch dazu, daß mehr ZnS (als Kolloid) durch den Filter tritt, was zu reduzierten Zählraten für ZnS führt. Durch Erhitzen lassen sich die Zinksulfidflocken jedoch vor der Filtration wieder herstellen (Ausfällung des Kolloids).

Die verbleibende Variation in den Werten für die Sulfid-Konzentration ist auch damit zu begründen, daß zwischen dem ersten und zweiten Sulfid-Meßdurchgang die Thiosulfatmessung erfolgt war. Dies führte dazu, daß ein Teil des Zinksulfids mit der Thiosulfatprobe entfernt wurde, dieser Anteil war jedoch nicht immer gleich groß, weil die Probe wohl nicht homogen war, und konnte somit nicht in der Volumenkorrektur für die Sulfidmessung berücksichtigt werden.

Auffallend ist der drastische Abfall der Sulfid-Konzentrationen (einhergehend mit einem leichten Anstieg der Thiosulfat-Konzentration) vom 1. zum 2. Meßzeitpunkt (Abbildung 4-13 und Abbildung 4-14). Er kommt dadurch zustande, daß Reste der Sulfidlösung vom Befüllen der Spritzen zuerst mit dem Totvolumen herausgedrückt wurden.

Die gemessene Sulfidkonzentration der Stammlösung lag bei 4,76 mmol/l. Zu erwarten waren daher Sulfidkonzentrationen um 480 µmol/l; im Mittel liegen sie für Spritze 1 etwas höher, für Spritze 2 etwas niedriger.

Die Sulfid-Konzentrationen sind für Probe 2 höher als für Probe 1 – wie nicht anders zu erwarten, denn die Gehalte in Probe 1 sollten durch den Flüssigkeitsinhalt des Totvolumens mitbestimmt sein – ansonsten aber relativ konstant.

Der Restgehalt an Sulfid im *Eppendorf*-Cup lag zwischen 2 und 8 % der gemessenen Sulfidkonzentration, im Mittel bei 4 %. Für genaue Messungen wäre er nicht vernachlässigbar, jedoch überwiegen hier noch die Fehler in der Probenverarbeitung zur Sulfidbestimmung.

Die Thiosulfatkonzentration ist für alle Proben (1 und 2) und beide Spritzen mehr oder weniger gleich (Abbildung 4-13 und Abbildung 4-14).

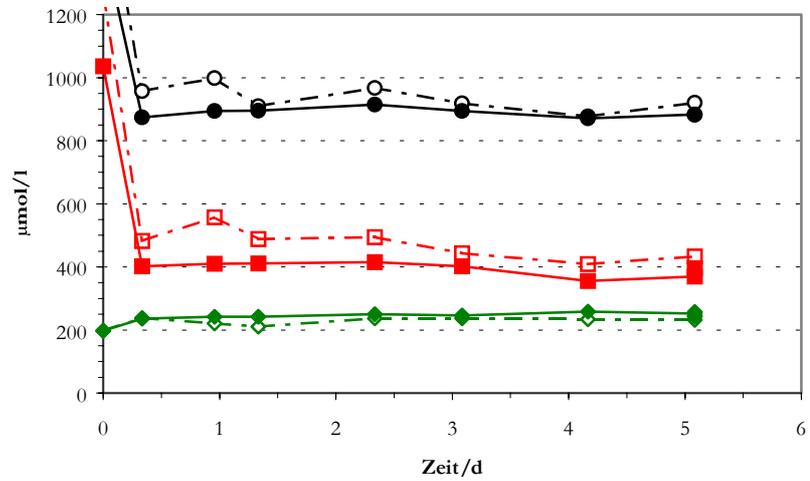


Abbildung 4-13: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 1, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$,
 $\text{pH}=7,0$ bis $7,7$, Fortunaspritzen, Konzentrationen
 $c(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (1. Spritze: \square , 2. Spritze: \blacksquare)
 $c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (1. Spritze: \diamond , 2. Spritze: \blacklozenge)
 $c(\Sigma\text{S})$ (1. Spritze: \circ , 2. Spritze: \bullet)

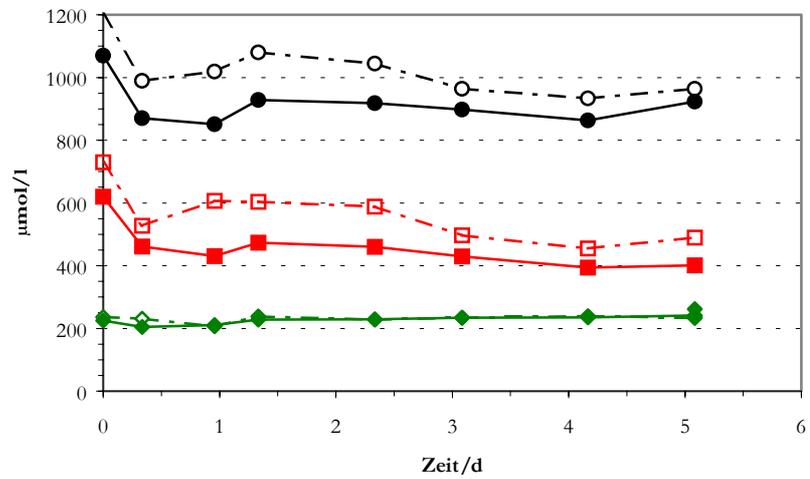


Abbildung 4-14: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$,
 $\text{pH}=7,0$ bis $7,7$, Fortunaspritzen, Konzentrationen
 $c(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (1. Spritze: \square , 2. Spritze: \blacksquare)
 $c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (1. Spritze: \diamond , 2. Spritze: \blacklozenge)
 $c(\Sigma\text{S})$ (1. Spritze: \circ , 2. Spritze: \bullet)

Aktivitäten

Zu erwarten war als Gesamtaktivität pro Meßpunkt 29,1 kBq (berechnet aus der Aktivität der Thiosulfat-Stammlösung), gefunden wurden $(29,1 \pm 1,2)$ kBq ($n=5$). Die Summe der ZnS- und Filtrat-Aktivitäten betrug $(28,6 \pm 0,4)$ kBq ($n=13$), die Wiederfindungsrate bezüglich der gemessenen Gesamtaktivität lag damit bei $(98,3 \pm 0,4)$ %.

In Abbildung 4-16 sind die spezifischen Aktivitäten des „Sulfid“-Pools (das heißt, der Aktivität auf dem Filter je Probenvolumen geteilt durch die Sulfidkonzentration) und des „Thiosulfat“-Pools (bzw. der Aktivität aller löslichen Schwefelverbindungen je Probenvolumen geteilt durch die Thiosulfatkonzentration) aufgetragen. Die spezifischen Aktivitäten des „Thiosulfat“-Pools liegen um etwa den Faktor 14 höher als die des Sulfidpools, im Einklang mit den Ergebnissen aus den Zinkfällungen (4.4.8) und der fraktionierenden Ionenchromatographie (Thiosulfatanteil hier: 90 bis 91 %).

Die größeren Variationen der absoluten Aktivität (Abbildung 4-15) finden sich bei den spezifischen Aktivitäten nicht mehr wieder (Abbildung 4-16), d. h. anscheinend findet kein Isotopenaustausch zwischen Sulfid und Thiosulfat bei 20 °C statt.

Jedoch liegen die Werte für die „Sulfid“-Aktivitäten der zweiten Spritze höher, was wahrscheinlich auf die Verwendung der GSWP 0,22 µm- anstelle von GF/F-Filtern zurückzuführen ist.

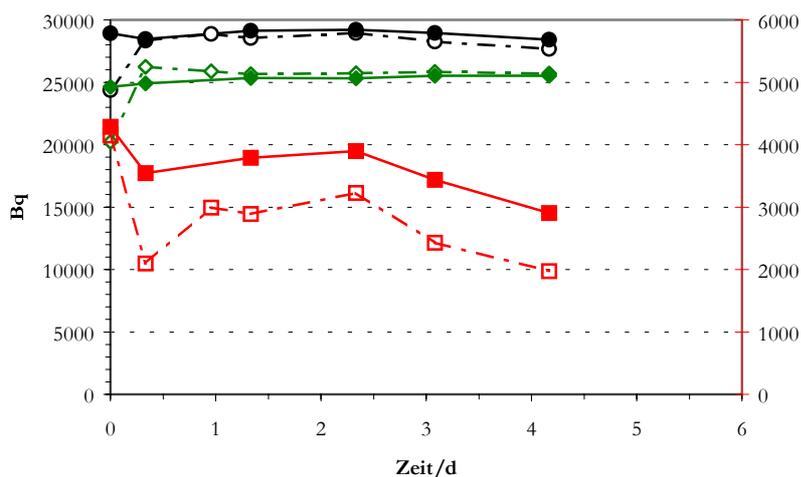


Abbildung 4-15: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=20$ °C, $\text{pH}=7,0$ bis $7,7$, Fortunaspritzen, Aktivitäten
 $A_{\text{„Sulfid“-Filter}}$ (rechte Skala, 1. Spritze: \square , 2. Spritze: \blacksquare)
 $A_{\text{„Thiosulfat“-Filtrat}}$ (linke Skala, 1. Spritze: \diamond , 2. Spritze: \blacklozenge)
 $A_{\text{„Sulfid“-Filter+„Thiosulfat“-Filtrat}}$ (linke Skala, 1. Spritze: \circ , 2. Spritze: \bullet)

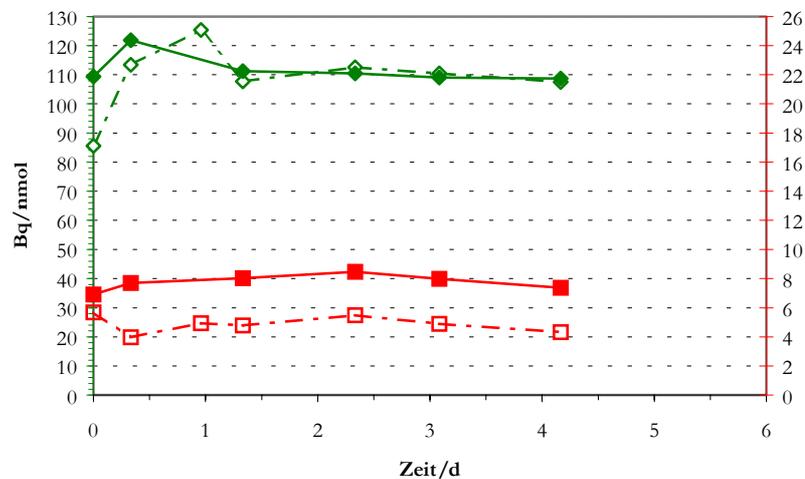


Abbildung 4-16: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$,
 pH=7,0 bis 7,7, Fortunaspritzen, Spezifische Aktivitäten
 $x_{\text{Sulfid}}(\text{-Filter})$ (linke Skala, 1. Spritze: □, 2. Spritze: ■)
 $x_{\text{Thiosulfat}}(\text{-Filter})$ (linke Skala, 1. Spritze: ◇, 2. Spritze: ◆)

Der per Ionenchromatographie bestimmte Thiosulfatgehalt war stark von der Verdünnung der Probe abhängig. Die Verdünnung war notwendig, um die Konzentrationen von Sulfat und Thiosulfat per Ionenchromatographie bestimmen zu können. Ansonsten würde der Sulfat-Peak durch den großen Chlorid-Peak am Anfang überdeckt. Verdünntere Proben neigten jedoch eher zu Veränderungen durch Oxidation und/oder Zersetzung. So lagen die Thiosulfatgehalte am Anfang des Experiments in der unverdünnten Probe bei 92 %, bei Verdünnung auf ein Fünftel bei 91 %. Am Ende des Experiments lagen die entsprechenden Werte bei 95 % (5fach verdünnt), 93 % (10fach) bzw. 89 % (20fach). Der radiochemische Thiosulfatgehalt des eingesetzten Tracers betrug zum Vergleich 96 %.

Es scheinen also – unter Berücksichtigung der Verdünnungseffekte – keine Veränderungen des Thiosulfatracers während der Inkubation vor sich zu gehen.

4.4.5 Austauschexperiment 2: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $80\text{ }^\circ\text{C}$

Der pH-Wert in den Spritzen zu Beginn des Experiments wurde nicht gemessen, sollte aber um 7 gelegen haben (pH der Sulfidlösung war 7,16). Nach 2,5 Tagen ergab eine Doppelbestimmung aus Spritze 1 Werte von 6,40 und 6,16, nach 6 Tagen 5,24 für Spritze 1 sowie 4,57 und 4,80 für Spritze 2. Die Ansäuerung kommt durch die bei der Oxidation von Schwefelwasserstoff oder Hydrogensulfid entstehenden Protonen zustande.

Konzentrationen

Die photometrisch ermittelte Sulfidkonzentration der Stammlösung lag bei 3,98 mmol/l, tiefer als der gravimetrisch bestimmte Wert von 4,56 mmol/l, weil die Sulfid-Lösung bis zum Zeitpunkt der Messung eine Weile herumstand.

Obwohl die erste Probe eher vom Totvolumen beeinflusst sein sollte, sind die Unterschiede zwischen beiden Proben gering.

In diesem Experiment fand eine eindeutige Oxidation des Sulfids statt, und zwar hauptsächlich zu Thiosulfat, wie sich an der Gesamtschwefelbilanz erkennen läßt (Abbildung 4-17 und Abbildung 4-18). Besonders deutlich kann man dies bei der zweiten Probe aus der zweiten Spritze sehen. Man könnte dieses Experiment deshalb auch als Austauschexperiment mit Oxidation bezeichnen.

Aktivitäten

Der per Ionenchromatographie bestimmte Thiosulfatanteil wurde bei diesem Austauschexperiment nur am Anfang bestimmt. Er lag bei 93 % (unverdünnte Probe) bzw. 90 % (10fach verdünnt).

Die Aktivitäten auf den Filtern nehmen zunächst langsam zu (Abbildung 4-19), um am Ende steil abzufallen, wenn die Sulfidkonzentration gegen Null geht.

Den geringen Sulfidkonzentrationen entsprechend zeigten die spezifischen Aktivitäten einen steilen Aufwärtstrend am Ende des Experiments (Abbildung 4-20). Bei der zweiten Spritze scheinen sie sogar die spezifischen Aktivitäten des Thiosulfats zu überschreiten, also über das Isotopengleichgewicht hinauszugehen. Dies muß aber auf Ungenauigkeiten bei der Messung der Sulfidkonzentration zurückgeführt werden.

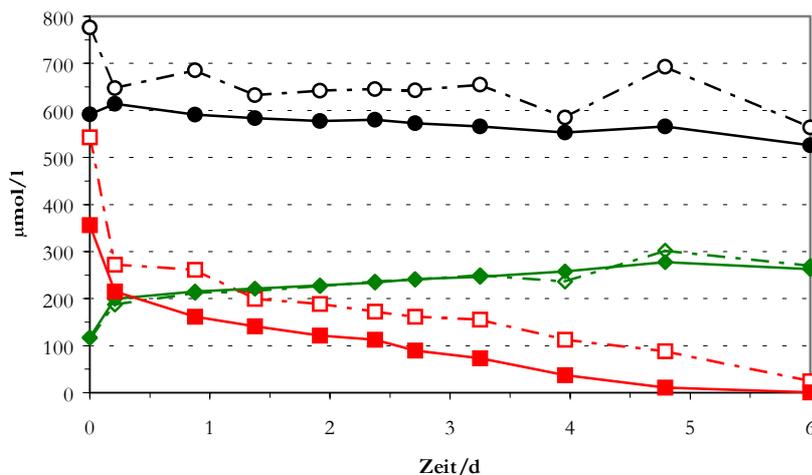


Abbildung 4-17: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 1, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, *SGE*-Spritzen, Konzentrationen

$\alpha(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (1. Spritze: □, 2. Spritze: ■)

$\alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (1. Spritze: ◇, 2. Spritze: ◆)

$\alpha(\Sigma\text{S})$ (1. Spritze: ○, 2. Spritze: ●)

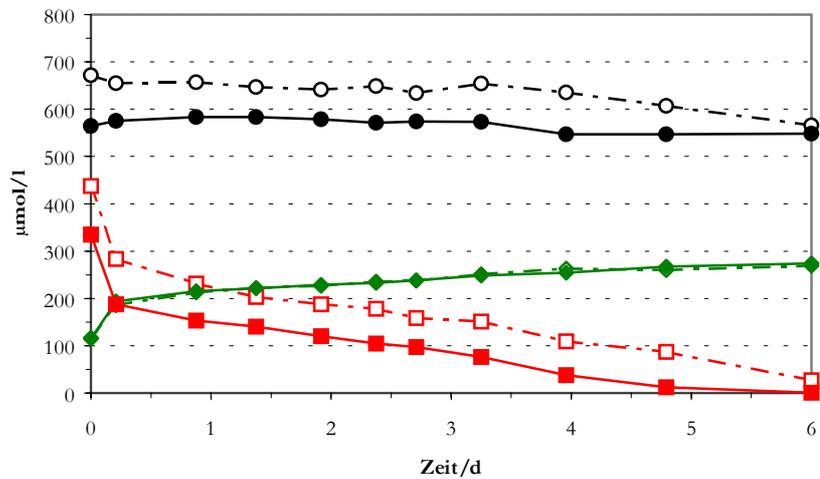


Abbildung 4-18: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, *SGE*-Spritzen, Konzentrationen
 $c(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (1. Spritze: □, 2. Spritze: ■)
 $c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (1. Spritze: ◇, 2. Spritze: ◆)
 $c(\Sigma\text{S})$ (1. Spritze: ○, 2. Spritze: ●)

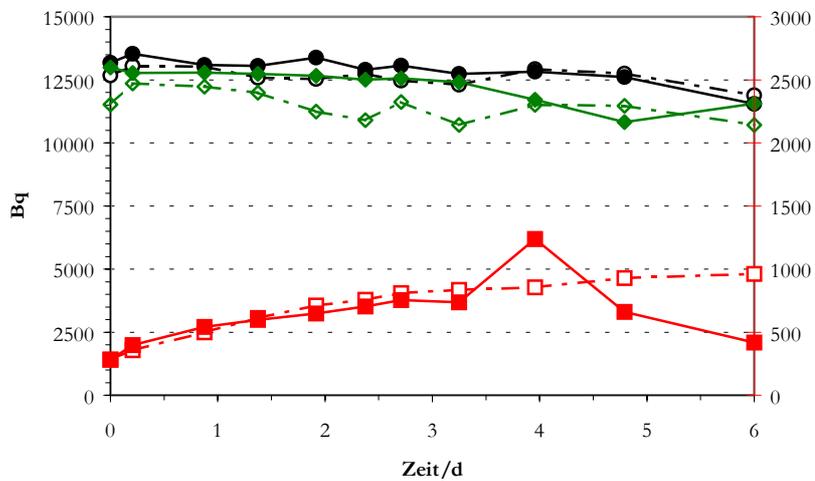


Abbildung 4-19: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, *SGE*-Spritzen, Aktivitäten
 $A(\text{Sulfid-Filtrat})$ (rechte Skala, 1. Spritze: □, 2. Spritze: ■)
 $A(\text{Thiosulfat-Filtrat})$ (linke Skala, 1. Spritze: ◇, 2. Spritze: ◆)
 $A(\text{Sulfid-Filtrat+Thiosulfat-Filtrat})$ (linke Skala, 1. Spritze: ○, 2. Spritze: ●)

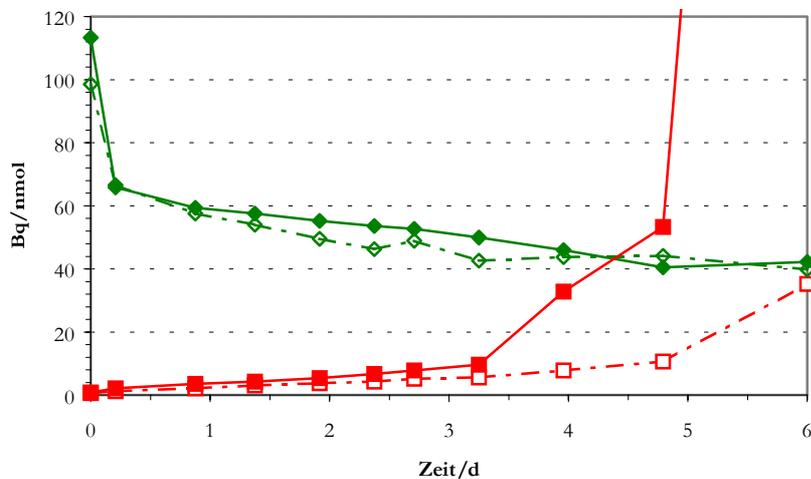


Abbildung 4-20: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, *SGE*-Spritzen, Spezifische Aktivitäten
 x („Sulfid“-Filter) (linke Skala, 1. Spritze: □, 2. Spritze: ■)
 x („Thiosulfat“-Filter) (linke Skala, 1. Spritze: ◇, 2. Spritze: ◆)

4.4.6 Austauschexperiment 3: $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $80\text{ }^\circ\text{C}$

Konzentrationen

Der Verlauf der Konzentrationen (Abbildung 4-21) ist ähnlich wie in den analogen Austauschexperimenten 0 und 1 bei $20\text{ }^\circ\text{C}$, d. h. die Abnahme der Sulfidkonzentration ist größer als die entsprechende Zunahme der Thiosulfatkonzentration (vgl. Schwefel-Bilanz). Das Sulfid wird also nach einem steilen Abfall am Anfang langsam oxidiert, zum Teil zu Thiosulfat. Nicht gemessene oxidierte Schwefelverbindungen müssen vorhanden sein.

Aktivitäten

Die Filter wurden zu den beiden ersten Zeitpunkten nicht mit 1 % Zinkchlorid-Lösung, sondern mit Wasser gespült, daher die geringeren Aktivitäten.

Die Zeitserien für Aktivität (Abbildung 4-22) und spezifische Aktivität (Abbildung 4-23) sprechen dafür, daß es sich bei den unentdeckten oxidierten Schwefelverbindungen um Elementarschwefel oder Polysulfid handelt, weil die spezifische Aktivität des „Sulfid“-Filters sich – abgesehen von den beiden ersten, anders aufgearbeiteten Proben – nicht verändert.

Es scheint kein Isotopenaustausch vonstatten zu gehen, denn trotz Störungen durch langsame Oxidation des Sulfids bleibt die spezifische Aktivität konstant (wiederum abgesehen von der Abweichung der ersten beiden Meßpunkte).

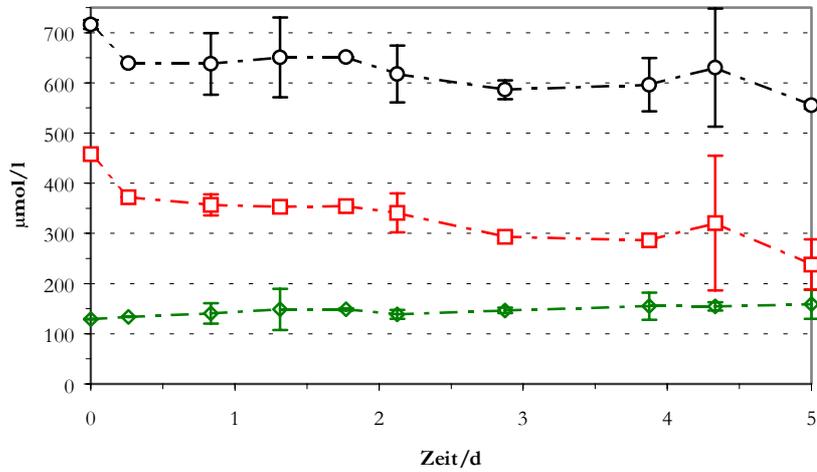


Abbildung 4-21: Austauschexperiment 3, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=80^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,25$, Serumflaschen, Konzentrationen

$c(\Sigma\text{H}_2\text{S})$ (\square)

$c(\Sigma\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (\diamond)

$c(\Sigma\text{S})$ (\bullet)

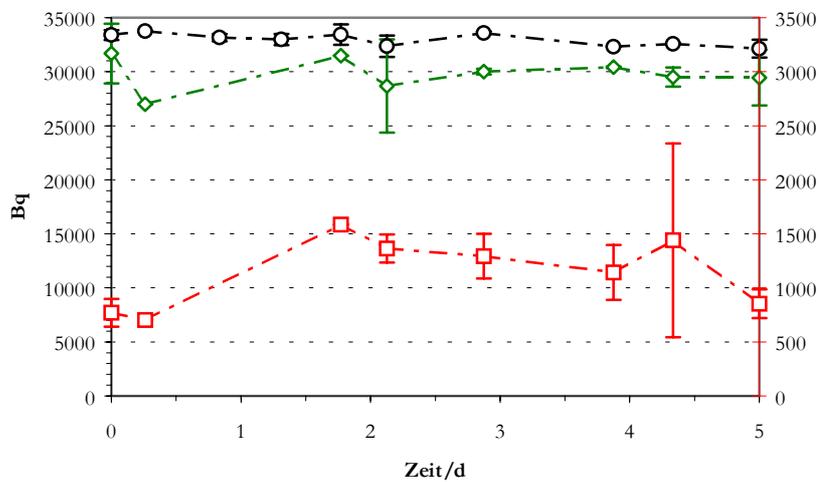


Abbildung 4-22: Austauschexperiment 3, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=80^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,25$, Serumflaschen, Aktivitäten

$A(\text{„Sulfid“-Filter})$ (rechte Skala, \square)

$A(\text{„Thiosulfat“-Filtrat})$ (linke Skala, \diamond)

$A(\text{„Sulfid“-Filter+„Thiosulfat“-Filtrat})$ (linke Skala, \circ)

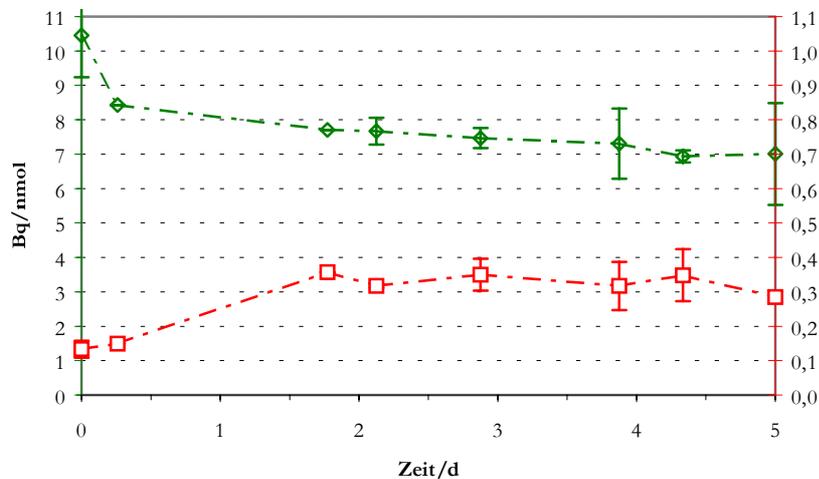


Abbildung 4-23: Austauschexperiment 3, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,25$, Serumflaschen, Spezifische Aktivitäten
 x („Sulfid“-Filter)(rechte Skala, □)
 x („Thiosulfat“-Filter) (linke Skala, ◇)

4.4.7 Austauschexperiment 4: $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $20\text{ }^\circ\text{C}$ und $80\text{ }^\circ\text{C}$

Konzentrationen

Abbildung 4-24 zeigt, daß Thiosulfat- und Sulfidkonzentrationen im Laufe des Experiments bei $20\text{ }^\circ\text{C}$ in etwa konstant bleiben. Die Sulfidkonzentration nimmt nur innerhalb des ersten Tages um etwa $50\text{ }\mu\text{mol/l}$ (\square 6 % des Anfangswertes) ab, die Thiosulfatkonzentration um $14\text{ }\mu\text{mol/l}$ (\square 6 % des Anfangswertes) zu. Es ist wahrscheinlich, daß Sulfid zu Thiosulfat oxidiert wurde, so daß ein Teil des verschwundenen Sulfids (56 %) in den Thiosulfatpool übergegangen ist.

Bei $80\text{ }^\circ\text{C}$ variiert die Sulfidkonzentration dagegen stärker und fällt schließlich auf 75 % des Anfangswertes ab, während die Thiosulfatkonzentration wieder nur am Anfang zunimmt (um $23\text{ }\mu\text{mol/l}$ oder 9 % des Anfangswertes). Zieht man die Schwefelbilanz aus der doppelten Thiosulfat- und der Sulfidkonzentration, so fehlen am Ende 11 % der eingesetzten Schwefelatome.

Der pH-Wert am Ende der Experimente, gemessen mit einem pH-Teststäbchen aus Gründen der Schnelligkeit, lag bei $8,0 (\pm 0,5)$, also praktisch identisch mit dem Ausgangswert (von $7,56$).

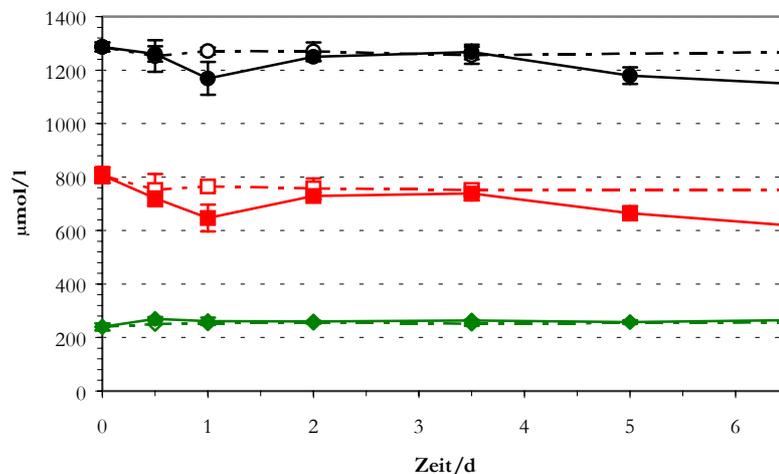


Abbildung 4-24: Austauschexperiment 4, $S_n^{2-}/HS^-/S_2O_3^{2-}$, $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $H=7,56$, Serumflaschen, Konzentrationen
 $c(\Sigma H_2S)$ (20 °C: □, 80 °C: ■)
 $c(S_2O_3^{2-})$ (20 °C: ◇, 80 °C: ◆)
 $c(\Sigma S)$ (20 °C: ○, 80 °C: ●)

Aktivitäten

Die Aktivitäten des Niederschlags nehmen bei 80 °C stärker zu als bei 20 °C, d. h. mehr Aktivität geht vom Thiosulfat- in den Sulfidpool über (Abbildung 4-25). Die Abnahme beim letzten Meßpunkt ist auf eine Ultraschallbehandlung der letzten Probe vor der Filtration zurückzuführen, die wahrscheinlich dazu geführt hat, daß ein Teil der sonst vom Filter zurückgehaltenen Aktivität in eine filterdurchgängige Form überführt wurde, z. B. als kolloidales Zinksulfid.

Das Gleiche gilt für die spezifischen Aktivitäten der „Sulfid“-Fraktion (Abbildung 4-26). Ansonsten nehmen sie vom ersten Tag an bei beiden Temperaturen zu, bei 80 °C stärker als bei 20 °C, verlaufen dann parallel leicht ansteigend (Tage 2 und 3,5) und divergieren danach stärker. Es scheint ein langsamer Isotopenaustausch stattzufinden.

Die Wiederfindungsraten schwankten 94 und 104 %, ohne daß ein Trend erkennbar war, im Mittel lagen sie bei 98 %. Es traten also anscheinend keine großen Verluste durch Adsorption von $Zn^{35}S$ oder $^{35}S^0$ an die Gefäßwände auf, anders als in den Experimenten von FOSSING & JØRGENSEN (1990b), die eine Abnahme der $^{35}S^0$ -Aktivität durch Adhäsion von Schwefel an die Glaswände ihres Reaktionsgefäßes beobachteten.

Die ionenchromatographische Auftrennung ergab Thiosulfatanteile von nur 51 % (nach 12 h bei 20 °C) bzw. 58 % (nach 12 h bei 80 °C). Allerdings waren die Proben auf das Hundertfache verdünnt worden, so daß von starken Oxidationseinflüssen auszugehen ist. Die jeweiligen radiochemischen Sulfatanteile betragen 35 % und 26 %.

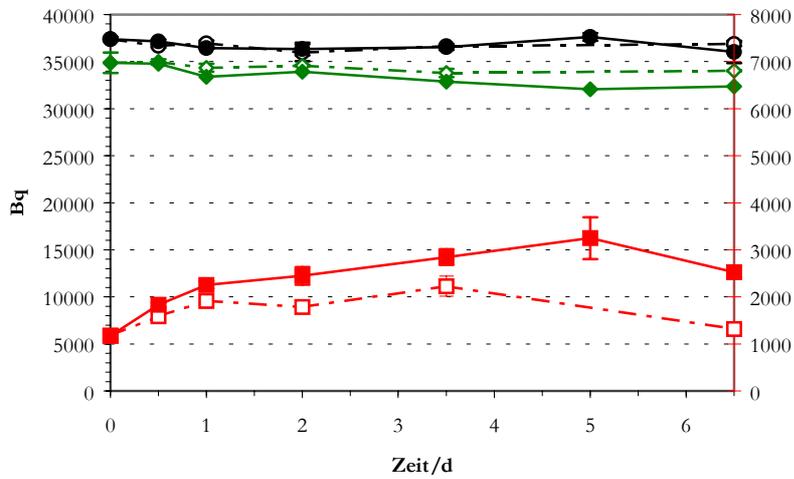


Abbildung 4-25: Austauschexperiment 4, $S_n^{2-}/HS^-/S_2O_3^{2-}$, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,56$, Serumflaschen, Aktivitäten
 $A_{(,Sulfid\text{-}Filter)}$ (rechte Skala, 20 °C: □, 80 °C: ■)
 $A_{(,Thiosulfat\text{-}Filtrat)}$ (linke Skala, 20 °C: ◇, 80 °C: ◆)
 $A_{(,Sulfid\text{-}Filter+,Thiosulfat\text{-}Filtrat)}$ (linke Skala, 20 °C: ○, 80 °C: ●)

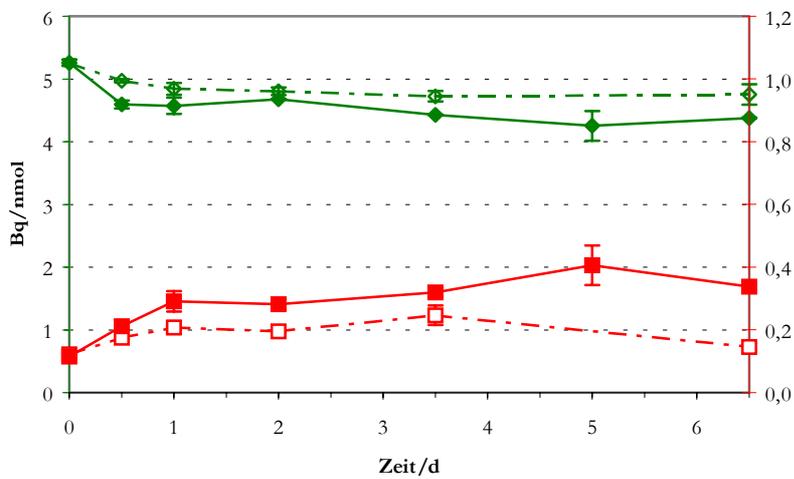


Abbildung 4-26: Austauschexperiment 4, $S_n^{2-}/HS^-/S_2O_3^{2-}$, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,56$, Serumflaschen, Spezifische Aktivitäten
 $x_{(,Sulfid\text{-}Filter)}$ (rechte Skala, 20 °C: □, 80 °C: ■)
 $x_{(,Thiosulfat\text{-}Filter)}$ (linke Skala, 20 °C: ◇, 80 °C: ◆)

Auftrennung in inneres und äußeres Thiosulfat-Schwefelatom

Zur Zählung der nach Zugabe des Szintillationscocktails gelblich bis rötlich verfärbten Überstände war eine Quenchkorrektur notwendig. Dazu wurde eine Probe einmal ohne entsprechenden AgNO_3 -Zusatz gemessen und mehrere Male mit verschiedenen Mengen AgNO_3 nach verschiedenen Zeiten. Damit konnte die Zähleffizienz berechnet werden und gegen den vom Gerät gelieferten $tSIE$ -Wert (vgl. 3.2.11) aufgetragen werden.

Es ergab sich eine Gerade mit der Steigung 0,296 % und einem Ordinatenabschnitt von 22,6 % (Abbildung 4-27). Daraus konnte auch die voraussichtliche Zähleffizienz für andere $tSIE$ -Werte berechnet werden.

Bei einem $tSIE$ -Wert von 250 wurde eine extrapolierte Effizienz von 100 % erreicht. Die meisten Proben lagen – wie schon unter 3.2.11 erwähnt – darüber und wurden damit „vollständig“ gezählt.

Der gemessene Aktivitätsanteil in der Ag_2S -Fraktion betrug zu Beginn des Experiments $(82,6 \pm 1,2)$ %. $(12,1 \pm 0,5)$ % fanden sich im Filtrat, wovon ca. 3,5 Prozentpunkte von Sulfat herrührten. (Abschätzung aus der radiochemischen Reinheit des Endprodukts von Synthese 12/V138, weil die Fraktionierungen der Proben aus dem Austauschexperiment selbst keine guten Resultate ergeben hatten, vgl. vorheriger Abschnitt). $(5,3 \pm 1,2)$ % konnten nicht wiedergefunden werden. Der Anteil an innen markiertem Thiosulfat sollte nach diesen Ergebnissen bei 9,4 % am Gesamt-Thiosulfat liegen.

Der Anteil der Ag_2S -Fraktion an der Gesamtaktivität blieb bei 20 °C im Laufe des Experiments gleich: $(82,0 \pm 1,0)$ % nach 0,5 Tagen, $(82,8 \pm 1,3)$ % nach 6,5 Tagen.

Bei 80 °C nahm der entsprechende Anteil leicht zu: $(83,7 \pm 2,7)$ % nach 0,5 Tagen, $(85,7 \pm 0,8)$ % nach 6,5 Tagen. Demgemäß nahm der Anteil des Filtrats an der Gesamtaktivität ab, was einen „umgekehrten Isotopenaustausch“ vom Sulfonat- zum Sulfan-Schwefel vorzutauschen scheint (konstante Aktivitätsanteile im Sulfat vorausgesetzt).

In der Thiosulfat-Kontrolle bei 20 °C blieb der Ag_2S -Anteil der Aktivität im Rahmen der Meßgenauigkeit gleich: $(79,4 \pm 1,7)$ % am Anfang, $(81,0 \pm 1,7)$ % nach 6,5 Tagen bei 20 °C und $(79,3 \pm 3,7)$ % bei 80 °C. Der Anteil des Überstands blieb bei 20 °C auch gleich: $(14,5 \pm 0,7)$ % verglichen mit $(13,8 \pm 0,9)$ % am Ende, jedoch nahm er bei 80 °C auf $(19,2 \pm 1,1)$ % zu, bedingt durch eine scheinbar höhere Wiederfindungsrate.

Dies Ergebnisse erscheinen etwas inkonsistent, auch in Anbetracht der Tatsache, daß eigentlich nicht eine solch hohe Aktivität im Sulfonatschwefel zu erwarten wäre. Unter Umständen ist es doch notwendig, die Proben zur vollständigen Zersetzung des Thiosulfats zu erhitzen. Es läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob ein intramolekularer Isotopenaustausch ablief oder nicht.

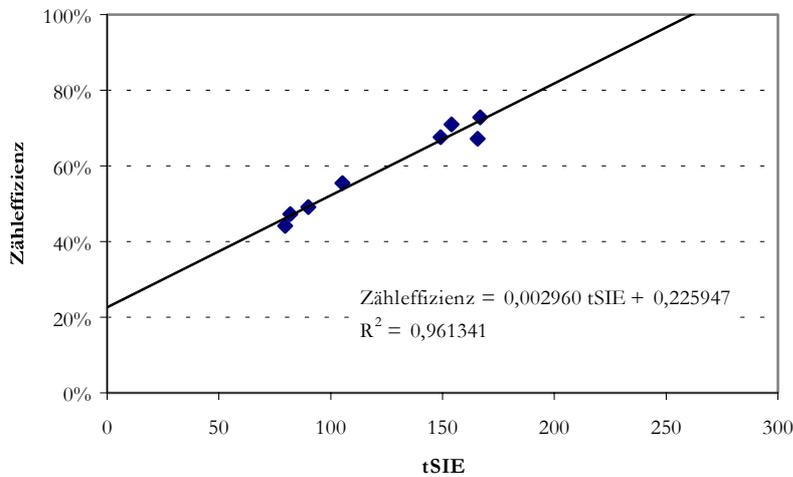


Abbildung 4-27: Quenchkorrekturkurve für die Aktivitätsmessung der AgNO_3 -haltigen Überstände aus der Trennung von innerem und äußerem Thiosulfat-Schwefelatom

4.4.8 Trennung von Zinksulfid und Thiosulfat

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-2 zusammengefaßt. Man findet:

1. Zinksalze fällen einen Teil der Aktivität aus dem Thiosulfat-Tracer aus, wobei Zinkchlorid anscheinend mehr ausfällt als Zinkacetat.
2. Bei ansonsten gleichen Bedingungen liefert *Filter-Count* (FC) höhere Zählraten als *Ultima Gold XR* (UGXR), auch für GF/F-Filter.
3. Große GF/F-Filter liefern höhere Zählraten als kleine, ein Hinweis auf mögliche anhaftende Lösungsreste.
4. Die Restaktivität im *Eppendorf*-Cup nach Ausspülen und Waschen liegt sehr niedrig (0,01 bis 0,1 %), höher für die Zinkacetat-Fällungen. Vielleicht haftet letzterer Niederschlag besser an Polyethylen.

Bei den Austauschexperimenten wurden GSWP-Filter, Zinkchlorid und Filter-Count verwendet, so daß bis zu 7 % der Aktivität im Niederschlag gefunden werden könnten. Dieser Fall trat auch tatsächlich ein, denn schon zu Beginn der Experimente war immer ein gewisser Teil der eingesetzten Aktivität im Zinksulfid-Niederschlag zu finden (7 % im ersten, 2 % im zweiten und dritten sowie 3 % im vierten Austauschexperiment). Entweder handelt es sich um saure Zersetzungsprodukte des Thiosulfats oder es sind Schwefelreste aus der Synthese, die aber eigentlich hätten abfiltriert sein müssen.

Beim dritten und vierten Austauschexperiment wurden die Lösungen außerdem zweimal filtriert. Beim dritten Austauschexperiment fanden sich bis zu 60 % der Gesamt-Zinksulfid-Aktivität erst auf dem zweiten Filter wieder, beim vierten waren es nur 3 bis 8 %.

Zugabe zur Probe	pH	Filter	Szintillationscocktail	Wiederfindungsrate	A(Filter)/A(Gesamt)	A(Rest)/A(Gesamt)
nichts	n. b.	GF/F klein	UGXR	98,4%	0,6%	n. b.
nichts	n. b.	GF/F klein	FC	98,1%	0,6%	n. b.
nichts	n. b.	GF/F groß	UGXR	99,5%	1,3%	n. b.
nichts	n. b.	GF/F groß	FC	100,7%	2,1%	n. b.
nichts	n. b.	GSWP	UGXR	93,3%	0,9%	n. b.
nichts	n. b.	GSWP	FC	100,4%	1,0%	n. b.
H ₂ O	7,0	GSWP	UGXR	98,2%	1,2%	n. b.
ZnCl ₂	n. b.	GF/F klein	FC	104,8%	3,6%	0,01%
ZnCl ₂	5,0	GSWP	UGXR	101,5%	5,9%	n. b.
ZnCl ₂	n. b.	GSWP	FC	106,3%	7,1%	0,01%
ZnCl ₂ + HCl	4,5	GSWP	UGXR	99,6%	1,8%	n. b.
Zn(OAc) ₂	n. b.	GF/F klein	FC	96,2%	2,8%	0,10%
Zn(OAc) ₂	7,0	GSWP	UGXR	100,9%	3,2%	n. b.
Zn(OAc) ₂	n. b.	GSWP	FC	102,2%	4,7%	0,10%
Zn(OAc) ₂ +HCl	5,5	GSWP	UGXR	99,8%	1,6%	n. b.

Tabelle 4-2: Vergleich der Zinksalz-fällungen reiner Tracer-Lösungen
(n. b.: nicht bestimmt)

4.4.9 Auftrennung der Sulfan- und Sulfonat-Schwefelatome im Thiosulfat

Destillationsverfahren

Zunächst wurde versucht, nicht-radioaktives Thiosulfat nach dem AgNO₃/ Destillations-Verfahren mit konzentrierter Salzsäure zur Auflösung des Ag₂S-Niederschlags aufzutrennen. Der Silbersulfidniederschlag wurde in der ersten Versuchsreihe über einen *Millipore* GSWP 0,22 µm-Filter abfiltriert, in der zweiten und dritten Versuchsreihe über einen HVLP 0,45 µm-Filter. Der Überstand wurde verdünnt und im Ionenchromatographen die Sulfatkonzentration bestimmt. In der ersten Versuchsreihe lag die Wiederfindungsrate an Sulfat (bzgl. der Thiosulfatausgangskonzentration) bei im Mittel (104,1±4,2) % (*n*=16), bei den zweiten und dritten Versuchsreihen lagen diese Raten mit (107,0±4,5) % (*n*=3) bzw. (99,3±15,4) % (*n*=5) ähnlich, bei letzterer variierten sie jedoch deutlich stärker. Auch bei den ersten beiden Versuchsreihen sind die relativen Fehler ziemlich hoch, aber noch akzeptabel. Die Raten über 100 % lassen sich durch Sulfatverunreinigungen im Thiosulfat oder mit oxidativen Nebenreaktionen bei der Destillation erklären.

Die Versuchsbedingungen bei der anschließenden Destillation wurden jeweils etwas variiert hinsichtlich HCl-Konzentration (5 bis 10 mol/l), Falleninhalte (2 %ige Zinkchlorid- oder 5 %ige Zinkacetatlösung), Fallenvolumen (5, 8 oder 10 ml Lösung in einem 12 ml Reagenzröhrchen) oder Destillationsdauer (10, 15, 20 oder 25 Minuten).

Die Wiederfindungsraten an Sulfid schwankten dementsprechend stark – zwischen 51 und 232 %. Die besten Ergebnisse ließen sich mit einer Säurekonzentration von 9,2 mol/l, 8 ml 5 %iger Zinkacetatlösung als Falleninhalte und einer Destillationsdauer von 15 bis 20 min erzielen (96 bzw. 113 % Wiederfindungsrate). Auch 5 ml 20 %ige

Zinkacetatlösung bei 15 min brachten relativ gute Ergebnisse mit $(92,7 \pm 0,3) \%$ Wiederfindungsrate.

Zu große Falleninhalte (z. B. 10 ml) führen zu Verlusten durch Aerosolbildung. Es erwies sich als günstig, eine Wasserfalle am Anfang vorzuschalten, um salzsaure Gase abzufangen, die den Falleninhalt ansäuern und seine Fällungskapazität mindern könnten.

Cyanidverfahren

Für die erste Reihe an Vorversuchen wurden noch keine Filter verwendet, sondern die Lösungen einfach zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Der Niederschlag wurde einmal mit 1 ml Wasser gewaschen. Im Mittel fanden sich $(80,8 \pm 4,9) \%$ ($n=10$) der eingesetzten Aktivität wieder. $(80,2 \pm 1,7) \%$ der wiedergefundenen Aktivität waren im Ag_2S , $(19,8 \pm 1,7) \%$ im Überstand zu finden. Dieses Ergebnis erschien unplausibel (ein reineres Produkt war erwartet worden) und war daher nicht befriedigend.

Bei der zweiten Vorversuchsreihe wurden komplette *Sartorius*-Spritzenfilterhalter mit verschiedenen Filtertypen ausprobiert und die Proben jeweils mit einer Spritze durchgedrückt. Die Wiederfindungsraten waren noch schlechter als in der ersten Versuchsreihe: $(50 \pm 11) \%$ für GF/F-Filter ($n=3$), $(53 \pm 3) \%$ ($n=3$) für GSWP 0,22 μm -Filter sowie $(69 \pm 4) \%$ ($n=4$) für HVLP 0,45 μm -Filter. Die Anteil der Ag_2S -Aktivität betragen jeweils $(73 \pm 10) \%$, $(73 \pm 6) \%$ und $(80 \pm 3) \%$ der wiedergefundenen Aktivität, waren also nur für den letzten Filtertyp vergleichbar mit denen ohne Filtration aus der ersten Versuchsreihe.

Ab der dritten Vorversuchsreihe wurden die Proben direkt auf einen Filter gegeben, der sich auf der Unterhälfte eines Spritzenfilterhalters befand, und mit Hilfe einer Membranpumpe durchgesaugt. Es ergaben sich immer noch stark schwankende Wiederfindungsraten zwischen 41 und 122 %.

Bei der vierten Vorversuchsreihe zur Thiosulfatauftrennung wurde an der Methode an sich nichts weiter verändert, jedoch stellten sich GSWP 0,22 μm - und HVLP 0,45 μm -Filter nunmehr als gleichwertig heraus. Auch *Whatman* Mini-Spritzenfilter (0,45 μm) lieferten gute Ergebnisse, setzten sich wegen ihres geringen Durchmessers (ca. 5 mm) aber schnell mit dem Ag_2S -Niederschlag zu.

Der erste Filtertyp gab Wiederfindungsraten von $(111,9 \pm 3,9) \%$ ($n=2$), der zweite von $(112,3 \pm 6,3) \%$ ($n=2$). Die Mini-Filter ergaben $(89,3 \pm 2,8) \%$ ($n=4$).

Der Aktivitätsanteil der Ag_2S -Fraktion betrug $(93,3 \pm 1,8) \%$ (GSWP-Filter), $(91,9 \pm 3,3) \%$ (HVLP-Filter) bzw. $(90,0 \pm 1,3) \%$ (Mini-Filter). Bei der ionenchromatographischen Bestimmung lag der Aktivitätsanteil von Thiosulfat bei 92,5 %, was mit den durchschnittlichen Ergebnissen der Filtration bedeutet, daß die Markierung des äußeren Thiosulfat-Atoms zu $(98,7 \pm 2,1) \%$ ($n=8$), an der richtigen Stelle lag.

4.5 Diskussion

4.5.1 Sulfidbestimmung (Methylenblau-Methode)

pH-Abschätzung einer Sulfidlösung

Zur Abschätzung des pH-Wertes einer wäßrigen Sulfidlösung ohne Gasraum ist nur das Gleichgewicht $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$ maßgeblich, weil – wie aus Tabelle 3-1 ersichtlich – der zweite pK_s -Wert (≈ 17) weit über dem Ionenprodukt des Wassers liegt ($\text{pK}_w=14$). Der pH-Wert einer nicht angesäuerten Sulfidlösung läßt sich somit direkt aus der scheinbaren Sulfidionen-Konzentration $c_0(\text{S}^{2-})$ berechnen, die aus der Einwaage bekannt ist. Es werden Aktivitätskoeffizienten von 1 angenommen.

$$c(\text{OH}^-) = c_0(\text{S}^{2-}) \quad (56)$$

$$\text{bzw. pH} = -\lg a(\text{H}^+) \quad (57)$$

$$= 14 + \lg a(\text{OH}^-) \\ \approx 14 + \lg c_0(\text{S}^{2-}) \quad (58)$$

Eine Sulfidlösung der Konzentration 1 mmol/l sollte also einen pH-Wert von etwa 11 haben.

Wird die Lösung dagegen weiter angesäuert, muß zunächst soviel Säure zugegeben werden, daß alle durch die Auflösung des Sulfidsalzes gebildeten Hydroxidionen neutralisiert werden. Die weitere Titration von HS^- läßt H_2S entstehen, dessen Konzentration damit bekannt ist. Dann läßt sich mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung der pH-Wert berechnen:

$$\text{pH} = \text{pK}_s + \lg [a(\text{HS}^-)/a(\text{H}_2\text{S})] \quad (59)$$

$$\approx 7,1 + \lg [c_0(\text{S}^{2-})/c(\text{H}_2\text{S})-1] \quad (60)$$

Umgekehrt kann man dann auch – wenn eine Sulfidlösung bestimmter Konzentration gewünscht ist – die erforderliche Säuremenge berechnen (sofern es sich um eine starke Säure wie HCl handelt):

$$c(\text{H}^+) = c(\text{H}_2\text{S}) = c_0(\text{S}^{2-}) / (10^{\text{pH}-7,1} + 1) \quad (61)$$

Bei Phosphorsäure dagegen muß man beachten, daß H_3PO_4 bei $\text{pH}=2,2, 7,2$ und $12,3$ [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 241] puffert. Die Lösung der zugrunde liegenden Gleichungen aus Gleichgewichtsbeziehungen (zwischen $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^- + \text{H}^+$, $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+$ und $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^- + \text{H}^+$), der Ladungsbilanz und der Massenbilanzen führt zu einer Gleichung vierten Grades für $c(\text{H}^+)$, deren Lösung noch rein analytisch möglich ist, hier jedoch nicht gezeigt wird. Mit Hilfe dieser Überlegungen war es möglich, die zur pH-Einstellung der Sulfidlösungen in den Austauschexperimenten benötigten Säuremengen zu berechnen.

In Tabelle 4-3 ist ein Vergleich zwischen den berechneten und den abgeschätzten pH-Werten vorgenommen worden. Es scheint, als ob die für Phosphorsäure vorge-

nommenen Berechnungen viel genauer sind als die für Salzsäure (mit Ausnahme des Austauschexperimentes 4, in dem Polysulfid aus Tetrathionat generiert wurde, genauere Berechnungen würden hier die Berücksichtigung der Gleichgewichtsverteilungen von Polysulfidionen erfordern [GIGGENBACH 1972]). Die Ursache liegt wohl weniger in der Berechnungsweise als vielmehr in der experimentellen Methodik, die beim ersten Austauschexperiment noch nicht gut etabliert war: Das unvermeidliche Entweichen von H_2S in die Gasphase hat eine Erhöhung des pH-Wertes zur Folge. Auch ungenaue Einwaagen mögen die Ursache sein. Bei Phosphorsäure werden diese Ungenauigkeiten anscheinend durch die doppelte Pufferung (Hydrogensulfid-Schwefelwasserstoff- und Dihydrogenphosphat-Hydrogenphosphat-Gleichgewichte) ausgeglichen.

Experiment	Säure	pH (berechnet)	pH (gemessen)
Austauschexperiment 1	HCl	7,25	7,71
Austauschexperiment 2	H_3PO_4	7,16	7,16
Austauschexperiment 3	H_3PO_4	7,26	7,25
Austauschexperiment 4 (mit Polysulfid)	H_3PO_4	7,24	7,56
Austauschexperiment 4 (Sulfid-Kontrolle)	H_3PO_4	7,11	7,10

Tabelle 4-3: Vergleich der abgeschätzten und der gemessenen pH-Werte einiger Sulfidlösungen

Abweichung der eingewogenen Na_2S -Menge von der spektrometrisch bestimmten

Die durch Einwaage ermittelten Sulfidkonzentrationen lagen im Mittel 15 % über den photometrisch ermittelten. Die wahrscheinlichste Ursache ist die Freisetzung von H_2S -Gas während der Einstellung des pH-Wertes im Handschuhsack. Da die Lösung dabei zudem gerührt werden mußte, kann eine deutliche Reduktion der Sulfidkonzentration gegenüber dem erwarteten Wert eintreten. CLINE (1969) fand dagegen nur Abweichungen des gravimetrisch bestimmten Wertes von $\pm 2\%$ auf dem 95 %-Vertrauensniveau.

Experiment	$c(\Sigma H_2S)$	$c(\Sigma H_2S)$	Abweichung
	gravimetrisch	photometrisch	
Austauschexperiment 1	5,33 mmol/l	4,76 mmol/l	+53%
Austauschexperiment 2	4,56 mmol/l	3,98 mmol/l	+41%
Austauschexperiment 3	1,77 mmol/l	1,35 mmol/l	+117%
Austauschexperiment 4 (mit Polysulfid)	0,84 mmol/l bis 0,92 mmol/l ²⁵	0,81 mmol/l	+4 % bis +14 %
Austauschexperiment 4 (Sulfid-Kontrolle)	0,71 mmol/l	0,67 mmol/l	+6%

Tabelle 4-4: Vergleich der gravimetrisch berechneten mit den photometrisch gemessenen Konzentrationen einiger Sulfidlösungen

²⁵ Die Berechnung der zu erwartenden Sulfidkonzentration ist nicht mehr trivial, weil dazu die Speziation des Polysulfids in der Lösung bekannt sein muß (vgl. 3.1). Eine Übersicht über die erforderlichen Gleichgewichtskonstanten findet sich in [GIGGENBACH 1974].

4.5.2 Filtrierbarkeit des Zinksulfid-/Schwefel-Niederschlags

Die Bildung sehr fein verteilten oder kolloidalen Zinksulfids durch die Ultraschallbehandlung der letzten Probe im Austauschexperiment 4 (4.4.7) könnte durch die Beobachtung eines Peaks in der $S_2O_3^{2-}$ -HPLC gestützt werden. Zum Beispiel wurden bei der Thiosulfat-Analyse für Austauschexperiment 3 Peaks bei 1,3 min beobachtet, die so hoch und teilweise höher als der Thiosulfat-Peak (bei 2,0 min, Elutionsbedingungen: 100 mmol/l NaCl, 10 % MeOH, 1 ml/min) lagen, obwohl die Proben filtriert worden waren. Gealterte Proben zeigten diesen Peak dagegen nicht. Vielleicht absorbiert Zinksulfid auch in einer Suspension UV-Strahlung. Kristallisiertes Zinksulfid zeigt ja bekanntlich Phosphoreszenz beim Bestrahlen mit ultraviolettem Licht oder auch Röntgen- und Elektronenstrahlen [HOLLEMAN & WIBERG 1985, S. 1039].

LUTHER ET AL. (1996) berichteten von löslichen Zinkkomplexen der Stöchiometrie ZnS und $Zn_2S_3^{2-}$, die in Seewasser bei $pH > 7$ stabil sein, bei $pH < 6,7$ jedoch dissoziieren sollten. Bei den vorliegenden pH-Werten der fixierten Proben (um 6) kommen sie daher als Erklärung nicht in Frage.

4.5.3 Austauschexperimente

Methoden

Die Arbeitsweise mit Polyethylen-Handschuhsäcken hat Vor- und Nachteile. Ein Vorteil gegenüber fest installierten Handschuhboxen („Trockenboxen“) ist ihre leichte Transportabilität und die Tatsache, daß man genau weiß, was sich in der Atmosphäre im Innenraum befinden kann. Nachteile sind die immer vorhandene, wenn auch geringfügige Gasdurchlässigkeit des Materials, Abwesenheit einer Schleuse, Unhandlichkeit und Reißanfälligkeit.

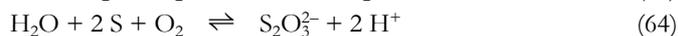
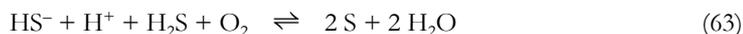
Immer wieder gab es auch Probleme mit der Sauerstoffdichtheit der Reaktionsgefäße beziehungsweise mit der hohen Affinität der Teflonspritzendichtungen zur Sorption von Sauerstoff. Eine Alternative könnte die Anwendung der HUNGATE-Technik oder Varianten davon sein. Sie arbeitet mit Glasampullen, die zugeschmolzen werden und so einen vollständigen und homogenen Abschluß gegenüber der Umgebung ermöglichen. UYAMA ET AL. (1985) verwendeten z. B. eine Vakuumapparatur, um H_2S in Pyrexkolben mit gefrorener Thiosulfatlösung einzukondensieren. Die Kolben wurden zugeschmolzen und dabei von der Apparatur getrennt.

Versuchsergebnisse

In den Kontrolleexperimenten wurden völlig stabile Sulfidkonzentrationen nur beim Einsatz von Fortunaspitzen bei 20 °C beobachtet (Abbildung 4-6). Die sowohl bei Verwendung von „gasdichten“ Spritzen (Abbildung 4-6) als auch von Serumflaschen (Abbildung 4-8) beobachteten Abnahmetendenzen (30 bzw. 15 % der Anfangskonzentrationen innerhalb von 6 Tagen) könnten im ersten Fall durch Sauerstoff aus dem Teflon verursacht werden, im zweiten durch eine Reaktion des Sulfids mit dem Butylgummistopfen (Anhaften an Schwefelbrücken zwischen den Isopreneinheiten des synthetischen Kautschuks).

Bei 80 °C war die Abnahme in den Serumflaschen ausgeprägter (50 % nach 6 Tagen, Abbildung 4-8), während sich die HP-Spritzen der völligen Oxidation näherten (80 %, Abbildung 4-6). Bei höheren Temperaturen scheinen die Sulfid-Abfangreaktionen schneller vonstatten zu gehen.

Ein Teil des verschwundenen Sulfids wird zu Thiosulfat oxidiert. Auch Schwefel kann ein Oxidationsprodukt sein, das aber möglicherweise auch weiterreagiert (vgl. Reaktionen 27, 28 und 64). Bei Oxidation zu Thiosulfat wird eine vorher neutrale Lösung durch freigesetztes H^+ saurer:



Die Thiosulfatkonzentrationen in den Kontrollexperimenten blieben im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant (Abbildung 4-7 und Abbildung 4-9). In den Serumflaschen bei 80 °C bildete sich jedoch etwas Sulfid, wahrscheinlich durch die Disproportionierungsreaktion (66):



Es ist zwar nicht ganz auszuschließen, daß bakterielle Kontaminationen diese Disproportionierung katalysiert haben könnten, jedoch ist die Versuchszeit von etwa einer Woche zu kurz, als daß sich eine Kultur gebildet haben könnte.

Bei 20 °C in Fortunaspritzen bleiben Konzentrationen, Aktivitäten und spezifische Aktivitäten des Systems $HS^-/H_2S/S_2O_3^{2-}$ im Rahmen der Meßgenauigkeit konstant, wenn man von den aus dem Rahmen fallenden Werten für $t=0$ absieht (Austauschexperiment 1, Abbildung 4-13, Abbildung 4-14, Abbildung 4-15 und Abbildung 4-16). Diese wurde durch Relikte der Spritzenbefüllung erklärt, die sich im Totvolumen befanden und sich dadurch nicht mit dem restlichen Inhalt durchmischen konnten.

Dieses Ergebnis war aufgrund früherer Untersuchungen [VOGE & LIBBY 1937, VOGÉ 1937, UYAMA 1985] erwartet worden.

Austauschexperiment 2, das bei 80 °C in „gasdichten“ *SGE*-Spritzen durchgeführt wurde, war von deutlichen Oxidationserscheinungen begleitet. Nach sechs Tagen war in beiden Spritzen die Sulfidkonzentration von anfangs 350 bis 450 $\mu\text{mol/l}$ auf Null abgesunken, begleitet von einer Zunahme der Thiosulfatkonzentrationen (Abbildung 4-17 und Abbildung 4-18). Besonders kraß war diese Zunahme vom Zeitpunkt $t=0$ zur nächsten Probennahme. Hierbei fiel auch die spezifische Aktivität deutlich ab (Abbildung 4-20), weil die Oxidationsprodukte des Sulfids die Aktivität des Thiosulfatpools verdünnten. Diese Abnahme setzt sich über die gesamte Experimentdauer fort. Interessant ist, daß gleichzeitig die absolute und spezifische Aktivität des Sulfidpools zunehmen (Abbildung 4-19 und Abbildung 4-20). Eine bevorzugte Oxidation von ^{32}S und ^{34}S gegenüber ^{35}S ist unwahrscheinlich. Eher findet eine Zersetzung des Thiosulfats nach (66) statt, so daß ein Teil der Aktivität des äußeren Thiosulfat-Schwefelatoms zu Sulfid übergeht. Durch diese Vorgänge wird ein Isotopenaustausch vorgetäuscht.

Eventuell wurden zu Beginn des Experiments die an der Oberfläche des Teflons absorbierten Sauerstoffreste schnell aufgebraucht, während später Sauerstoff aus tieferen Bereichen des Teflons heraus diffundieren mußte, bevor er wirksam werden konnte.

In Austauschexperiment 3, das eine Wiederholung von Austauschexperiment 2 in Serumflaschen war, zeigte sich eine ähnliche Oxidationsneigung, allerdings deutlich weniger ausgeprägt (nach 5 Tagen hatten sich die Sulfidkonzentrationen von anfangs 460 $\mu\text{mol/l}$ etwa halbiert, Abbildung 4-21). Auch der deutliche Abfall der Thiosulfataktivität erfolgte am Anfang.

Die spezifische Aktivität des Thiosulfats fällt zwar etwas ab (Abbildung 4-23), jedoch bleibt die absolute relativ konstant (Abbildung 4-22), was für die Annahme spricht, daß oxidiertes Sulfid den radioaktiven Thiosulfatpool langsam verdünnt.

Es findet wohl kein Isotopenaustausch statt, denn die spezifische Aktivität des Sulfidpools bleibt konstant. Die Werte der ersten beiden Meßzeitpunkte sind probenbehandlungsbedingt niedriger und sollten außer acht gelassen werden.

UYAMA ET AL. (1991) meinten bei 50 °C einen Isotopenaustausch zwischen Thiosulfat und Sulfid gefunden zu haben. Allerdings nahmen die Sulfidkonzentrationen in ihrem Experiment über 4 Tage etwa auf die Hälfte des Anfangswertes ab, was nicht durch eine entsprechende Zunahme der Thiosulfat- oder Sulfatkonzentrationen wettgemacht wurde. Wahrscheinlich entstand elementarer Schwefel, der mit Sulfid zu Polysulfid reagiert haben könnte. Dies hätte dann seinerseits wieder einen Isotopenaustausch mit Thiosulfat eingehen (quasi katalysieren) können.

In 4.5.4 wird das Austauschexperiment 3 noch einmal auf eine andere Weise auf einen möglichen Isotopenaustausch hin betrachtet.

Bei Austauschexperiment 4 schließlich, das mit Polysulfid/Hydrogensulfid/ Schwefelwasserstoff/Thiosulfat durchgeführt wurde (pH=7,56) fanden sich Hinweise auf einen Isotopenaustausch, zumindest bei 80 °C.

Diesmal blieben die Sulfidkonzentrationen bei 20 °C außer einer kleinen Abnahme am Anfang konstant. Auch die bei 80 °C fielen erst gegen Ende der 6,5tägigen Versuchsdauer ab (Abbildung 4-24).

Wieder zeigte sich eine abrupte Zunahme der spezifischen Aktivität des Sulfidpools vom Zeitpunkt $t=0$ zur zweiten Probennahme bei $t=0,5$ d (Abbildung 4-26). Jedoch nahm seine spezifische Aktivität auch danach weiter zu. Die Abnahme beim letzten Zeitpunkt ist auf eine Ultraschallbehandlung der Doppelprobe vor der Filtration zurückzuführen. Mit der Zunahme von x („Sulfid“-Filter) ging eine Abnahme von x („Thiosulfat“-Filtrat) einher.

Bei allen Experimenten (außer Austauschexperiment 1) wurde also eine Abnahme der spezifischen Aktivität der Thiosulfatfraktion beobachtet, während sich die Absolutwerte jeweils kaum änderten. Jene Abnahme muß daher auf Verdünnungseffekte durch oxidiertes Sulfid zurückgeführt werden.

4.5.4 Kinetische Abschätzung des zu erwartenden Isotopenaustauschs – Vergleich mit den Experimenten

Der Isotopenaustausch zwischen Sulfid und Thiosulfat



hat die allgemeinere Form



wobei X^* für radioaktiven ^{35}S und X für inaktiven S stehen.

MCKAY (1938) hat die zugrunde liegenden kinetischen Gleichungen für einen bimolekularen Austausch unter der Annahme einer allgemeinen Formel für die Reaktionsgeschwindigkeit R des Austauschs gelöst und fand

Größe	Bedeutung
a	$\alpha(\text{HS}^-) + \alpha(\text{H}^{35}\text{S}^-) \approx \alpha(\text{HS}^-)$
b	$\alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) + \alpha(^{35}\text{SSO}_3^{2-}) \approx \alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$
x	$\alpha(\text{H}^{35}\text{S}^-) \ll \alpha(\text{HS}^-)$
y	$\alpha(^{35}\text{SSO}_3^{2-}) \ll \alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$
R	$k, f(a), g(b)$

Tabelle 4-5: Abkürzungen zur Reaktionskinetik einer bimolekularen Austauschreaktion

$$-\ln\left(1 - \frac{x}{x_\infty}\right) = R \frac{a+b}{ab} t \quad (69)$$

Bei $f(a)$ und $g(b)$ wird es sich im allgemeinen um Potenzfunktionen der Konzentrationen a und b handeln, also Funktionen in der Form a^m oder b^n . Ein einfacher Fall ist $m=n=1$, d. h. die Reaktion ist erster Ordnung bezüglich beider Verbindungen, wie es etwa für den Austausch zwischen Sulfid und Thiosulfat von AMES UND WILLARD (1951) gefunden wurde.

Verschiedene Autoren haben die kinetischen Parameter einiger Austauschreaktionen untersucht und die Temperaturabhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k meist in einem Gesetz vom Typ der Arrhenius-Gleichung beschrieben (mit Ausnahme von Reaktion 1b, vgl. Tabelle 4-6):

$$k = A \cdot e^{-E_a/(RT)} \quad (70)$$

Die Werte für die Reaktionen 2f bis 2h wurden eigentlich für den Isotopenaustausch zwischen Sulfat und Sulfid berechnet, jedoch mit einem Modell erklärt, in dem der intramolekulare Isotopenaustausch im Thiosulfat der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist (vgl. 4.1). Sie wurden deshalb hier als Näherung für die kinetischen Parameter des intramolekularen Austauschs verwendet.

Interessant für die vorliegende Arbeit sind insbesondere die Reaktionen 2g und 3. Die Geschwindigkeitskonstanten k wurden daher auf 20 °C, 80 °C und 120 °C extrapoliert (Tabelle 4-7) mit Anwendung des Fehlerfortpflanzungsgesetzes [SKOOG & LEARY 1996, S. 770]. Letztere Temperatur diente zum Vergleich mit den von CHU & OHMOTO (1991b) aus den Daten von UYAMA ET AL. (1985) ermittelten Werten.

Die Standardabweichungen der berechneten Werte sind wegen der Ungenauigkeiten der Aktivierungsenergien so groß.

Die für 120 °C berechneten Werte weichen also für Reaktion 2f (intramolekularer Austausch) um ein bis zwei Größenordnungen nach oben, für Reaktion 3 (intermolekulare Austausch des äußeren Schwefelatoms) um etwa eine Größenordnung nach unten ab. Das ist Anbetracht der Tatsache, daß die Werte für Reaktion 2f um 100 °C nach unten extrapoliert wurden und es nicht klar ist, ob der intramolekulare Schwefelaustausch tatsächlich der geschwindigkeitsbestimmende Schritte in dem von ihnen untersuchten System Sulfat-Sulfid ist, als nicht zu großer Unterschied zu sehen.

Deshalb wurde weiter versucht, die tatsächlichen Umsatzraten unter *in vitro*-Bedingungen der durchgeführten Experimente zu berechnen, mit $\alpha(\text{HS}^-) = 800 \mu\text{mol/l}$, $\alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) = 200 \mu\text{mol/l}$, $R_{\text{Sulfid-Sulfan}} = k_{\text{Sulfid-Sulfan}} \alpha(\text{HS}^-) \alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ und $R_{\text{Sulfan-Sulfonat}} = k_{\text{Sulfan-Sulfonat}} \alpha(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ (Tabelle 4-8; notabene! unterschiedliche Einheiten).

Nr.	Reaktion	T/°C	lg {A}	E _a /kJ mol ⁻¹	Referenz
Thiosulfat-Disproportionierung					
1a	4 Na ₂ S ₂ O ₃ → 3 Na ₂ SO ₄ + Na ₂ S ₅	345–375	22,1±1,2	320±15	MCAMISH & JOHNSTON 1976
1b	Na ₂ S ₂ O ₃ → Na ₂ SO ₃ + 1/2 S ₂ ↑ (wasserfreies Na ₂ S ₂ O ₃)	222–275	(9,8) ²⁶	(113) ²⁶	XU & CHANG 1984
Intramolekulare Austauschreaktionen 1. Ordnung ([A]=s⁻¹)					
2a	Na ₂ ³⁵ SSO ₃ ⇌ Na ₂ S ³⁵ SO ₃ (wasserfreies β-Na ₂ S ₂ O ₃)			837±126	NEUMANN ET AL. 1974 (zit. n. SEIBERT 1975)
2b	Na ₂ ³⁵ SSO ₃ ⇌ Na ₂ S ³⁵ SO ₃ (wasserfreies γ-Na ₂ S ₂ O ₃)			335±84	NEUMANN ET AL. 1974 (zit. n. SEIBERT 1975)
2c	Na ₂ ³⁵ SSO ₃ ⇌ Na ₂ S ³⁵ SO ₃ (wasserfreies Na ₂ S ₂ O ₃)	307–358	20±2	289±21	BUNTROCK & NEUMANN 1965
2d	Na ₂ ³⁵ SSO ₃ ⇌ Na ₂ S ³⁵ SO ₃ (wasserfreies Na ₂ S ₂ O ₃)	290–350	17,4±0,6	250±8	MCAMISH & JOHNSTON 1976
2e	Na ₂ ³⁵ SSO ₃ ⇌ Na ₂ S ³⁵ SO ₃ (KSCN-Schmelze)	218–341	5,7	116±2	SEIBERT 1975
2f	³⁵ SSO ₃ ²⁻ ⇌ S ³⁵ SO ₃ ²⁻ (wäßrige Lösung, pH≈9)	200–405	12,2±0,7	167 bis 197	OHMOTO & LASAGA 1982
2g	³⁵ SSO ₃ ²⁻ ⇌ S ³⁵ SO ₃ ²⁻ (wäßrige Lösung, pH=4 bis 7)	228–320	10,1±0,7	124±4	OHMOTO & LASAGA 1982
2h	³⁵ SSO ₃ ²⁻ ⇌ S ³⁵ SO ₃ ²⁻ (wäßrige Lösung, pH=2)	100–320	8,2±1,2	77±4	OHMOTO & LASAGA 1982
Intermolekulare Austauschreaktionen 2. Ordnung ([A]=1 mol⁻¹ s⁻¹)					
3	SSO ₃ ²⁻ + H ³⁵ S ⁻ ⇌ S ³⁵ SO ₃ ²⁻ + H ³⁵ S ⁻		5,85±0,03	63±2 ²⁷	AMES & WILLARD 1951
4	SSO ₃ ²⁻ + ³⁵ SO ₃ ²⁻ ⇌ S ³⁵ SO ₃ ²⁻ + SO ₃ ²⁻	60–100	6,36±0,01	60,7±0,2	AMES & WILLARD 1951

Tabelle 4-6: Aktivierungsenergien (E_a) und (dekadische Logarithmen der) Frequenzfaktoren A für (Austausch-) Reaktionen erster und zweiter Ordnung

Temperatur	Methode	k _{Sulfid-Sulfan} (intermolekular)	k _{Sulfid-Sulfonat} (intermolekular)	k _{Sulfan-Sulfonat} (intramolekular)
20 °C	berechnet	4,6±0,3·10 ⁻⁶ l mol ⁻¹ s ⁻¹	nicht berechenbar	1±2·10 ⁻¹² s ⁻¹
80 °C	berechnet	3,7±0,3 10 ⁻⁴ l mol ⁻¹ s ⁻¹	nicht berechenbar	6±10·10 ⁻⁹ s ⁻¹
120 °C	berechnet	3,2±0,2 10 ⁻³ l mol ⁻¹ s ⁻¹	nicht berechenbar	4±7·10 ⁻⁷ s ⁻¹
120 °C	experimentell	4,3·10 ⁻² l mol ⁻¹ s ⁻¹	2,7·10 ⁻³ l mol ⁻¹ s ⁻¹	1·10 ⁻⁸ s ⁻¹

Tabelle 4-7: Geschwindigkeitskonstanten k für Austauschreaktionen mit Thiosulfat

²⁶ berechnet aus ΔH[#]=108,8 kJ/mol und ΔS[#]=-62,3 J K⁻¹ mol⁻¹ mit E_a≈ΔH[#]+RT und lg A≈lg (k_BT/h)+ΔS[#]/(R ln 10) für T=523,15 K

²⁷ Meßfehler geschätzt

Temperatur	$R_{\text{Sulfid-Sulfan}}$ (intermolekular)	$R_{\text{Sulfan-Sulfonat}}$ (intramolekular)	$\frac{R_{\text{Sulfan-Sulfonat}}}{R_{\text{Sulfid-Sulfan}}}$
20 °C	64±5 nmol l ⁻¹ d ⁻¹	0,019±0,032 nmol l ⁻¹ d ⁻¹	0,030±0,056 %
80 °C	5,0±0,4 μmol l ⁻¹ d ⁻¹	0,10±0,15 μmol l ⁻¹ d ⁻¹	2,0±3,3 %

Tabelle 4-8: Umsatzraten für Isotopenaustausch bei 20 °C und 80 °C

Bei 80 °C macht der intramolekulare Isotopenaustausch nur ca. 2 % des intermolekularen Austauschs aus und kann daher vernachlässigt werden. Bei 20 °C liegt der Anteil noch niedriger.

CHU & OHMOTO (1991a, 1991b) haben jedoch anhand eines Datensatzes von UYAMA ET AL. (1985) gezeigt, wie man die Geschwindigkeitskonstanten von intra- und intermolekularem Isotopenaustausch ermitteln kann und dazu die entsprechenden kinetischen Gleichungen analytisch gelöst. Sie führten dies für stabile Isotopen durch, doch ließe sich die Rechnung auch analog für radioaktive Isotopen durchführen.

Am Ende eines Experiments ($t \rightarrow \infty$) sollte die spezifische Aktivität von Sulfid und Thiosulfat gleich hoch sein, vorausgesetzt, der thermodynamische Isotopeneffekt ist klein. TUDGE & THODE (1950) haben mit Hilfe von Methoden der statistischen Thermodynamik die erwarteten Gleichgewichtskonstanten für Austauschreaktionen zwischen den Schwefelisotopen ³⁴S und ³²S bei 0°C und 25 °C berechnet. Bei Austausch zwischen H₂S (für HS⁻ konnten keine Werte berechnet werden) und anderen Schwefelverbindungen bei 25 °C sollte man nach diesen Berechnungen eine Anreicherung des schwereren Isotops in der oxidierten Verbindung um 0,1 % (Austausch mit Thiocyanat) bis 7,4 % (Austausch mit Sulfat) erwarten. Für ³⁵S dürfte dieser Isotopeneffekt etwa das Anderthalbfache betragen. Da der Austausch hier zwischen dem (reduzierten) äußeren Schwefelatom und Sulfid stattfindet, kann man einen Wert kleiner als 1 % annehmen. Wegen dieses nur geringen Betrages wurde für die Berechnungen hier von einer Gleichgewichtskonstanten $K=1$ ausgegangen.

Durch Umstellung von Gleichung (69) unter Berücksichtigung der Annahmen zur Reaktionsordnung findet man für den Fraktionierungsfaktor $F=x/x_{\infty}$:

$$F = 1 - e^{-(a+b)kt} \quad (71)$$

Zu Beginn des Experiments gilt $F=0$, im Gleichgewicht gilt $F=1$.
Für den intramolekularen Austausch gilt $a=b$ und $R=ka=kb$, also

$$F = 1 - e^{-2kt} \quad (72)$$

Der intramolekulare Austausch ist damit in diesem einfachen Modell bemerkenswerterweise nicht konzentrationsabhängig.

In Abbildung 4-28 sind die anhand der Angaben aus Tabelle 4-6 berechneten Fraktionierungsfaktoren für eine Gesamtkonzentration an Sulfid und Thiosulfat ($a+b$) von 1 mmol/l und 1 oder 7 Tage Versuchsdauer in Abhängigkeit von der Temperatur gezeigt. Die Kurven für den intramolekularen Austausch verschieben sich nicht, wenn sich die Thiosulfatkonzentration ändert. Die für den intermolekularen Austausch verschieben sich dagegen bei Änderung der Gesamtkonzentration zu höheren Temperaturen hin und kommen dann unter denen für den intramolekularen Austausch zu liegen.

Nach 6,5 Tagen beträgt $F(20\text{ °C})$ 0,0026, $F(80\text{ °C})$ 0,185, nach 42 Tagen $F(20\text{ °C})$ 0,017, $F(80\text{ °C})$ 0,73. In einem einwöchigen Experiment, wie es von mir durchgeführt wurde, sollte man also bei 80 °C einen merklichen Austausch beobachten können.

Dieses einfache Modell berücksichtigt nicht, daß die drei Austauschreaktionen gekoppelt sind, sondern betrachtet den Austausch Sulfid-Sulfan getrennt vom Austausch Sulfan-Sulfonat. Korrekterweise müßten die Gleichungen für das Differentialgleichungssystem 3. Ordnung verwendet werden, wie sie von CHU & OHMOTO (1991) gelöst wurden. Sie zeigen in ihrer Arbeit einige Zeitserien für $\delta^{34}\text{S}$ -Werte, jedoch keine Darstellung der Temperaturabhängigkeit von F wie in Abbildung 4-28.

Für die Austauschexperimente 3 und 4 wurden die Fraktionierungsfaktoren auf Grundlage der zu erwartenden spezifischen Aktivität im isotopischen Gleichgewicht berechnet. Für Austauschexperiment 2, wo auch ein Isotopenaustausch beobachtet wurde, war dies nicht möglich, weil sich die Konzentrationen stark von den Ausgangskonzentrationen entfernt hatten. Bei Austauschexperiment 4 wurden die mittleren Konzentrationen im Verlauf der Experimentdauer berechnet und verwendet, bei Austauschexperiment 3 wurden die ersten beiden (stark abweichenden Werte) weggelassen.

Die spezifischen Aktivitäten im Gleichgewicht des Austauschexperiment 4 sollten um $(3,117 \pm 0,079)$ Bq/nmol bei 20 °C und um $(2,954 \pm 0,043)$ Bq/nmol bei 80 °C liegen, wobei der etwas niedrigere Wert für 80 °C die Abnahme der Sulfidkonzentration im Laufe des Experiments reflektiert. Bei Austauschexperiment 3 beträgt der entsprechende Wert $(5,58 \pm 0,26)$ Bq/nmol.

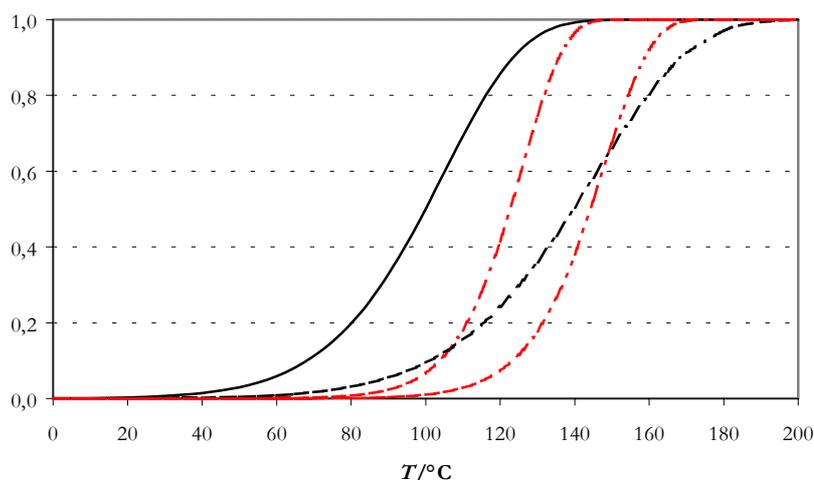


Abbildung 4-28: Abhängigkeit des Fraktionierungsfaktors F von der Temperatur T für $a+b=1$ mmol/l
intermolekular, 7 Tage Dauer: durchgezogene Linie (—)
intermolekular, 1 Tag Dauer: gestrichelte Linie (---)
intramolekular, 7 Tage Dauer: Strich-Punkt-Markierung (-·)
intramolekular, 1 Tag Dauer: Strich-Punkt-Punkt-Markierung (-··)

Da in den hier betrachteten Experimenten die Anfangswerte der spezifischen Aktivität nicht Null sind, muß eine etwas kompliziertere Beziehung für den Fraktionierungsfaktor F eingeführt werden [STRANKS & WILKINS 1957]. Sie erscheint plausibel, denn sie geht für $x_0=0$ in die einfachere Form $F=x/x_\infty$ über:

$$F = \frac{x_0 - x}{x_0 - x_\infty} \quad (73)$$

Die „linearisierte“ Auftragung der Fraktionierungsfaktoren für Austauschexperiment 4 in der Form der Gleichung (69) ist in Abbildung 4-29, Abbildung 4-30, Abbildung 4-31 und Abbildung 4-32 im Vergleich zu aus den Daten von Tabelle 4-7 berechneten Werten dargestellt.

Zunächst fällt an den experimentellen Graphen auf, daß es sich um keine Geraden handelt wie zu erwarten war. Statt dessen scheint am Anfang der Austausch schneller vorstatten zu gehen als später. Außerdem gibt es große Diskrepanzen zwischen den aus der „Thiosulfat“-Fraktion und den aus der „ZnS“-Fraktion berechneten Fraktionierungsfaktoren. Auch wenn man den Anfangspunkt verschiebt (Abbildung 4-30, Abbildung 4-32) bessert sich dies nicht sehr.

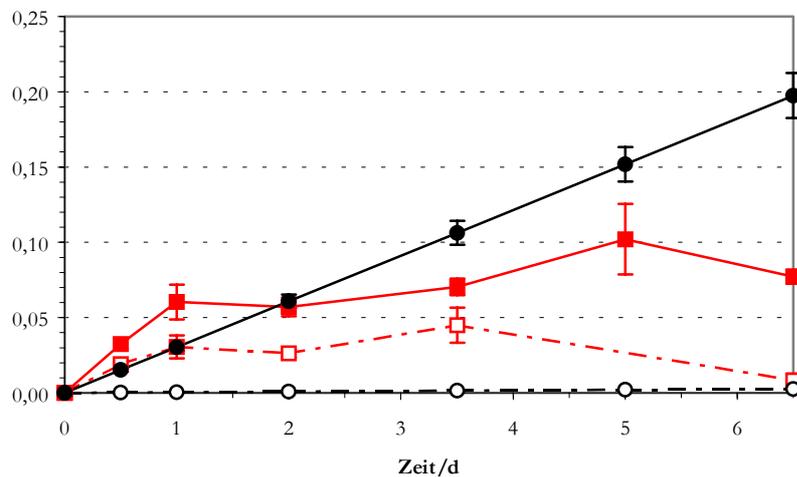


Abbildung 4-29: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $x_0=x(t=0\text{ d})$,
 berechnet aus x („Sulfid“-Filter) (20 °C: □, 80 °C: ■)
 theoretische Werte (20°C: ○, 80°C: ●)

Von Tag 1 bis 3,5 laufen die Austauschreaktionen bei 20 °C und 80 °C parallel. Danach ist es schwierig Schlüsse zu ziehen wegen der abweichenden Behandlung der letzten Probe (vgl. 4.4.7). Zumindest bei 80 °C scheint der Austausch aber weiter zu gehen und sich der theoretisch berechneten Geraden anzunähern.

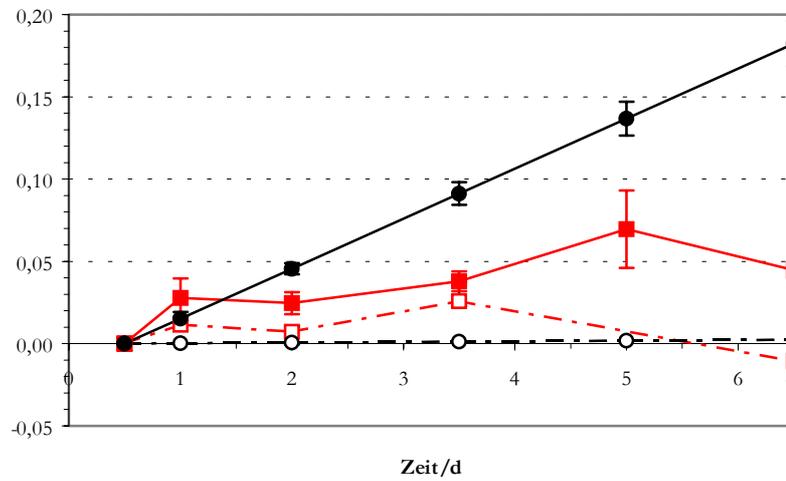


Abbildung 4-30: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $x_0=x(t=0,5\text{ d})$,
 berechnet aus x_0 („Sulfid“-Filtrat) (20 °C: □, 80 °C: ●)
 theoretische Werte (20°C: ○, 80 °C: ●)

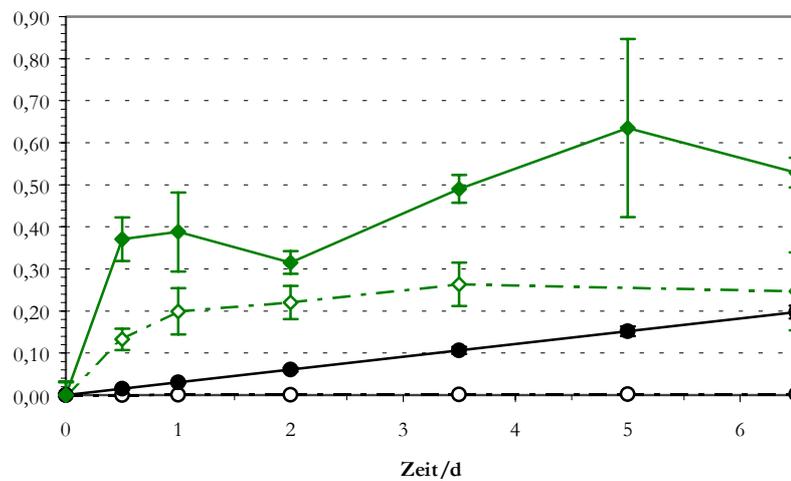


Abbildung 4-31: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $x_0=x(t=0\text{ d})$,
 berechnet aus x_0 („Thiosulfat“-Filtrat) (20 °C: ◇, 80 °C: ●)
 theoretische Werte (20°C: ○, 80 °C: ●)

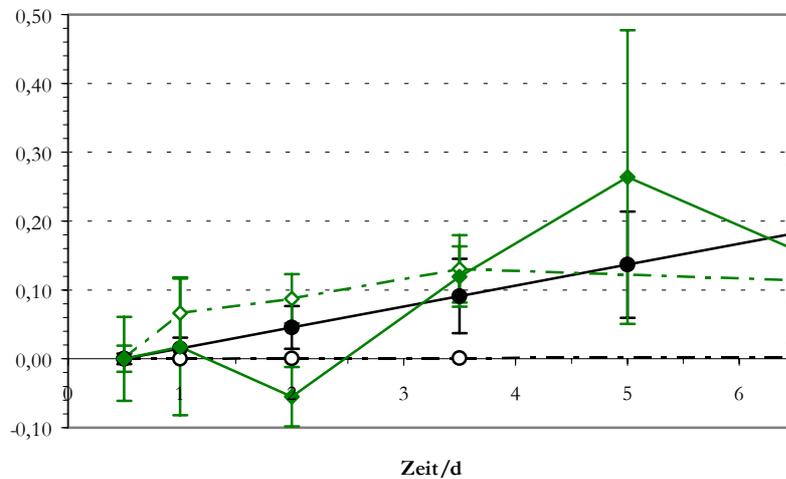


Abbildung 4-32: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ °C}/80\text{ °C}$, $x_0=x(t=0,5\text{ d})$, berechnet aus $x(, \text{Thiosulfat-Filtrat})$ (20 °C: \diamond , 80 °C: \blacklozenge) theoretische Werte (20°C: \circ , 80 °C: \bullet)

Theoretisch war bei 20 °C kein Austausch zu erwarten. Tatsächlich scheint aber selbst dort ein wenig Austausch vor sich zu gehen, insbesondere wenn man die „Thiosulfat“-Fraktion betrachtet. Eventuell agiert Polysulfid dabei als Katalysator.

Im Experiment ohne zugesetztes Polysulfid scheinen die Ergebnisse zunächst einen Isotopenaustausch anzuzeigen, wenn man sich auf den Zeitpunkt $t=0$ bezieht (Abbildung 4-33). Allerdings wichen ja die ersten beiden Meßpunkte stark von den anderen ab, so daß es sinnvoller ist, erst $x(t=1,8\text{ d})$ als Bezugspunkt zu wählen.

Dann zeigen sowohl die für Thiosulfat als auch die für Sulfid berechneten Fraktionierungsfaktoren keinen Isotopenaustausch an (Abbildung 4-34). Die Werte für Sulfid schwanken um den Nullpunkt, während die für Thiosulfat zwar darüber liegen, jedoch große Standardabweichungen aufweisen. Der Isotopenaustausch wird hier wohl nur durch Verdünnungseffekte durch oxidiertes Sulfid vorgetäuscht (4.5.3).

Abschließend bedeutet dies, daß man in einem rein chemischen System aus Thiosulfat und Hydrogensulfid mit oder ohne Polysulfid bei Temperaturen, wie sie denen in den Sedimenten der Ostsee entsprechen (in jedem Fall unter 20 °C), keinen Isotopenaustausch erwarten kann.

Die beobachteten Diskrepanzen zwischen Umsatz an am äußeren und inneren Schwefelatom markierten Thiosulfat lassen sich so nicht erklären (vgl. 2.1).

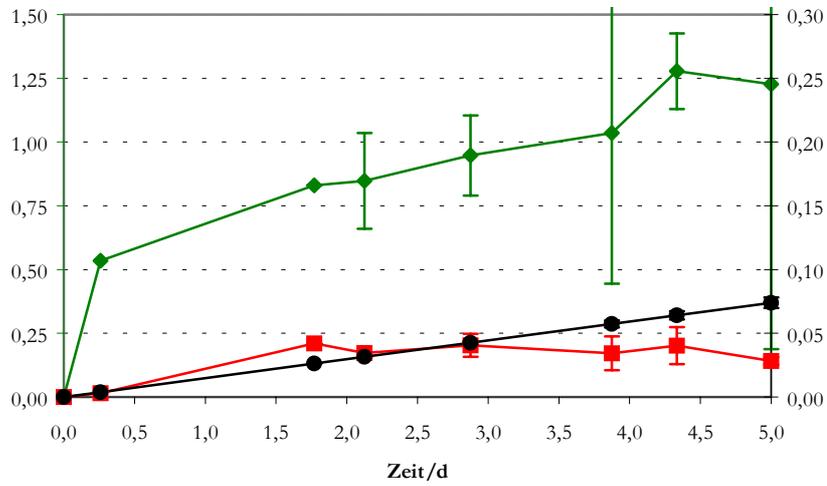


Abbildung 4-33: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 3, $T=80\text{ °C}$, $x_0=x(t=0\text{ d})$,
 berechnet aus $x_{\text{Sulfid}}^{\text{Filter}}$ (■, rechte Skala)
 berechnet aus $x_{\text{Thiosulfat}}^{\text{Filtrat}}$ (◆, linke Skala)
 theoretische Werte (●, linke Skala)

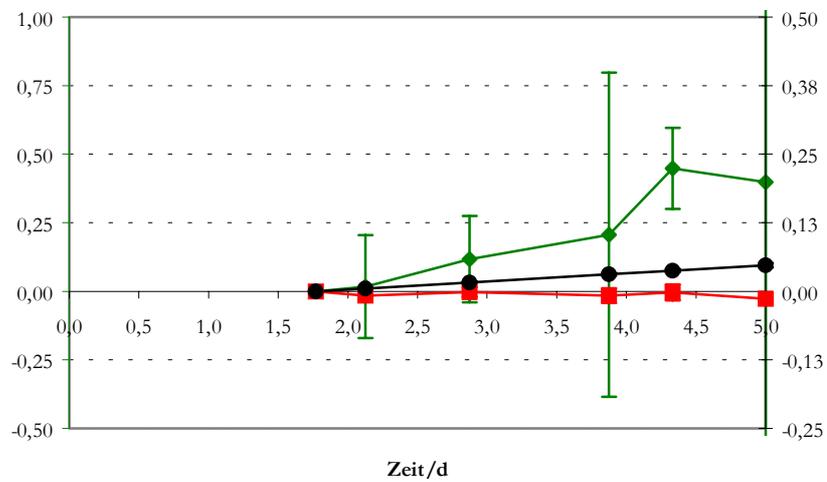


Abbildung 4-34: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 3, $T=80\text{ °C}$, $x_0=x(t=1,8\text{ d})$,
 berechnet aus $x_{\text{Sulfid}}^{\text{Filter}}$ (■, rechte Skala)
 berechnet aus $x_{\text{Thiosulfat}}^{\text{Filtrat}}$ (◆, linke Skala)
 theoretische Werte (●, rechte Skala)

5 Ausblick

5.1 Weitere Untersuchungen

In weiteren Experimenten sollte – wie ursprünglich beabsichtigt – der Isotopenaustausch in kontrollierten mikrobiellen Systemen untersucht werden. Selbst wenn in abiotischen Systemen der Isotopenaustausch keine hinreichende Erklärungsmöglichkeit darstellt, könnte in einem natürlichen biogeochemischen System ein Vorgang dieser Art stattfinden.

Zum Beispiel wurde in marinen Sedimenten bei 25 °C scheinbar sogar ein intramolekularer Isotopenaustausch in Thiosulfat gefunden [BO BARKER JØRGENSEN, persönliche Mitteilung], der nach den Abschätzungen in 4.5.4 bei diesen Temperaturen keine Rolle spielen sollte. Auch HABICHT ET AL. (1997) schlossen aus den Ergebnissen von Versuchen zur Fraktionierung stabiler Isotope bei der Disproportionierung von Thiosulfat in Wattsedimenten auf einen intramolekularen Isotopenaustausch.

Die Disproportionierungsreaktion selbst sollte ebenfalls mit radioaktiven Isotopen untersucht werden, um zu klären, ob der vorgeschlagene zweischrittige Mechanismus (vgl. 2.1) tatsächlich so abläuft [CYPIONKA ET AL. 1998]. Die Untersuchungen wurden bisher nur mit stabilen Isotopen angestellt.

5.2 Danksagungen

Einen besonderen Dank möchte ich Dr. Tim Ferdelman für die geduldige Betreuung dieser Arbeit, ausführliche Hintergrundinformationen und wertvolle Diskussionen aussprechen.

Ich danke auch Prof. Bo Barker Jørgensen und Prof. Wolfgang Balzer dafür, daß sie mir diese Diplomarbeit ermöglicht haben.

Für das Überlassen von unveröffentlichten Forschungsergebnissen sei Henrik Fosling herzlichst gedankt.

Ich bedanke mich bei meinen KorrekturleserInnen Carmen Gerlach, Antje Rusch und Jakob Zopfi für das Aufspüren zahlreicher syntaktischer und sachlicher Fehler und für nützliche Tips zur Gliederung.

Jakob Zopfi möchte ich auch herzlichst für seine großartige praktische Hilfe und zahllose Tips und theoretische Hinweise danken. Auch für einen abwechslungsreichen Forschungsaufenthalt in Israel und am „Solar Lake“ verdienen er und alle anderen Teilnehmer aus Bremen und Israel ein großes Dankeschön .

Kirsten Neumann sei für Hilfestellung im Labor und bei der Betreuung von Geräten gedankt. Bernd Stickfort gebührt ein großes Dankeschön für das immer wieder erstaunlich schnelle Besorgen exotischster oder beinahe „antiker“ Literatur.

Mein Dank gilt auch den anderen Mitarbeitern aus dem Max-Planck-Institut und speziell der Abteilung für Biogeochemie für interessante Diskussionen und gesellige Stunden.

Vielen Dank auch an alle Freundinnen und Freunde, in Hamburg, Bremen und anderswo, die mich durch mein Studium und bisheriges Leben begleitet haben und ohne die ich nicht an der Stelle stehen würde, an der ich heute stehe.

Last, not least möchte ich meinen Eltern und Brüdern danken, die mich immer, wo es ging, großartig unterstützt und mir prompt und zuverlässig geholfen haben. Meiner Mutter einen Extradank für das Korrigieren einer früheren Fassung dieser Arbeit.

6 Literaturverzeichnis

- AGARWALA, U., REES, C. E. & THODE, H. G. (1965): Sulfur isotope effects in the hydrogen ion decomposition of thiosulfate.- *Can. J. of Chemistry*, **43**, 2802-2811
- AKAGI, J. M. (1981): Dissimilatory sulfate reduction, mechanistic aspects.- In: BOETHE, H. & TREBST, A. (HRSG.): *Biology of Inorganic Nitrogen and Sulfur*, Springer Verlag, New York, 178-187
- AKAGI, J. M. (1995): Respiratory sulfate reduction.- in: BARTON, L. L. (HRSG.): *Sulfate-reducing bacteria*.- Plenum Press, New York, 89-111
- AMES, D. P. (1949): Ph. D. Thesis, University of Wisconsin, Madison
- AMES, D. P. & WILLARD, J. E. (1951): The kinetics of the exchange of sulfur between thiosulfate and sulfite.- *Journal of the American Chemical Society*, **73**, 164-172
- ANDERSEN, E. B. (1936): Ein radioaktives Isotop des Schwefels.- *Zeitschrift für physikalische Chemie/Abteilung B*, **32**, 237-242
- ATEN, A. H. W., JR., KRIEK, E., HOVENKAMP, S. G., DERROOS, A. M. & SPOON, W. A. (1956): Absence of rapid exchange in solutions of thiocyanate and elementary sulphur.- *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, **2**, 203
- BAK, F. & CYPIONKA, H. (1987): A novel type of energy metabolism involving fermentation of inorganic sulphur compounds.- *Nature*, **326**, 891-892
- BAK, F. & PFENNIG, N. (1987): Chemolithotrophic growth of *Desulfovibrio sulfodismutans* sp. nov. by disproportionation of inorganic sulfur compounds.- *Archives of Microbiology*, **147**, 184-189
- BAK, F., SCHUHMANN, A. & JANSEN, K. H. (1993): Determination of tetrathionate and thiosulfate in natural samples and microbial cultures by a new, fast and sensitive ion chromatographic technique.- *FEMS Microbiology Ecology*, **12**, 257-264
- BARBERÁ, J. J., METZGER, A. & WOLF, M. (1994): Sulfites, thiosulfates and dithionites.- In: ELVERS, B. (HRSG.): *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, Band A 25, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **5. Auflage**, 477-486

- BASSETT, H. & DURANT, R. G. (1927): The inter-relationships of sulphur acids.- Journal of the Chemical Society, 1401-1468
- BEAN, S. L. (1997): Thiosulfates.- In: HOWE-GRANT, M. (HRSG.): Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, Band 24, John Wiley & Sons, New York, **4. Auflage**, 51-68
- BELKIN, S., WIRSEN, C. O. & JANNASCH, H. W. (1985): Biological and abiological sulfur reduction at high temperatures.- Applied and Environmental Microbiology, **49 (5)**, 1057-1061
- BRAUER, G. (HRSG.) (1975): Handbuch der präparativen anorganischen Chemie. Erster Band.- Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, **3. Auflage**, 608 Seiten
- BUDAVARI, S., O'NEIL, M. J., SMITH, A., HECKELMAN, P. E. (1989): The Merck Index, Merck & Co., Inc., Rahway, New Jersey, **11. Auflage**
- BUNTROCK, D. & NEUMANN, K. (1966): Über den Platzwechsel der Schwefelatome in Natriumthiosulfat.- Zeitschrift für Physikalische Chemie, Neue Folge, **48**, 290-306
- BURTON, C. P. & AKAGI, J. M. (1971): Observations on the rhodanese activity of *Desulfomatuaculum nigrificans*.- Journal of Bacteriology, **107 (1)**, 375-376
- CANFIELD, D. E. & THAMDRUP, B. (1996): Fate of elemental sulfur in an intertidal sediment.- FEMS Microbiology Ecology, **19**, 95-103
- CHEMISCHE INSTITUTE DER UNIVERSITÄT HAMBURG (1981): Tabelle chemischer Potentiale.- Universität Hamburg, 32 Seiten
- CHU, X. L. & OHMOTO, H. (1991a): Kinetic equations of isotopic exchange reactions in a complex two-compound system involving intramolecular exchange.- Chinese Science Bulletin, **36 (16)**, 1355-1459
- CHU, X. L. & OHMOTO, H. (1991b): Kinetics of isotope exchange reactions involving intra- and intermolecular reactions: I. Rate law for a system with two chemical compounds and three exchangeable atoms.- Geochimica et Cosmochimica Acta, **55**, 1953-1961
- CHU, S. Y. F., EKSTRÖM, L. P. & FIRESTONE, R. B. (1998): WWW Table of Radioactive Isotopes.- <http://nucleardata.nuclear.lu.se/Database/toi>, **Version 1998-04-03**
- CLARK, R. J. H. & COBBOLD, D. G. (1978): Characterization of sulfur radical anions in solutions of alkali polysulfides in dimethylformamide and hexamethylphosphoramide and in the solid state in ultramarine blue, green, and red.- Inorganic Chemistry, **17 (11)**, 3169-3174
- CLARK, R. J. H., DINES, T. J. & KURMOO, M. (1983): On the nature of the sulfur chromophores in ultramarine blue, green, violet, and pink and of the selenium chromophore in ultramarine selenium: Characterization of radical anions by electronic and resonance raman spectroscopy and the determination of their excited-state geometries.- Inorganic Chemistry, **22 (19)**, 2766-2772

- CLINE, J. D. (1969): Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters.- *Limnology and Oceanography*, **14**, 454-458
- COHEN, Y., KRUMBEIN, W. E., GOLDBERG, M. & SHILO, M. (1977): Solar Lake (Sinai).
1. Physical and chemical limnology.- *Limnology and Oceanography*, **22 (4)**, 597-608
- CYPIONKA, H. (1995): Solute transport and cell energetics.- in: BARTON, L. L. (HRSG.): Sulfate-reducing bacteria.- Plenum Press, New York, 151-184
- CYPIONKA, H., SMOCK, A. & BÖTTCHER, M. (1998): A combined pathway of sulfur compound disproportionation in *Desulfovibrio desulfuricans*.- *FEMS Microbiology Letter*, **166**, 181-186
- DAVIS, R. E. (1958): Displacement reactions at the sulfur atom. I. An interpretation of the decomposition of acidified thiosulfate.- *Journal of the American Chemical Society*, **80**, 3565-3569
- ELSGAARD, L. & JØRGENSEN, B. B. (1992): Anoxic transformations of radiolabeled hydrogen sulfide in marine and freshwater sediments.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **56**, 2425-2435
- FALBE, J. & REGITZ, M. (HRSG.) (1995): CD Römpp Chemie Lexikon, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **9. Auflage**, Version 1.0
- FAVA, A. & PAJARO, G. (1954a): *Annali di Chimica (Rome)*, **44**, 545
- FAVA, A. & PAJARO, G. (1954b): Scambio isotopico tra solfito e alchiltiosolfati.- *La Ricerca Scientifica*, **24**, 1905
- FINSTER, K., LIESACK, W. & THAMDRUP, B. (1998): Elemental sulfur and thiosulfate disproportionation by *Desulfocapsa sulfoexigens* sp. nov., a new anaerobic bacterium isolated from marine surface sediment.- *Applied and Environmental Microbiology*, **64**, 119-125
- FISCHER, U. (1984): Cytochromes and iron sulfur proteins in sulfur metabolism of phototropic sulphur bacteria.- In: MÜLLER, A. & KREBS, B. (HRSG.): Sulfur, its significance for chemistry, for the geo-, bio-, and cosmosphere and technology.- *Studies in Inorganic Chemistry*, Elsevier, **Vol. 5**, 383-407
- FITZ, I. (1993): Nichtmetalle (Kapitel 31).- In: KOLDITZ, L. (Hrsg.): *Anorganikum (Band 1)*, Barth, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Leipzig · Berlin · Heidelberg, **13. Auflage**, 630 Seiten
- FOSSING, H. & JØRGENSEN, B. B. (1990a): Oxidation and reduction of radiolabeled inorganic sulfur compounds in an estuarine sediment, Kysing Fjord, Denmark.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **54**, 2731-2742
- FOSSING, H. & JØRGENSEN, B. B. (1990b): Isotope exchange reactions with radiolabeled sulfur compounds in anoxic seawater.- *Biogeochemistry*, **9**, 223-245

- GERHARDT, P., MURRAY, R. G. E., WOOD, W. A., KRIEG, N. R. (1994): Methods for general and molecular microbiology.- American Society for Microbiology, Washington, D.C., 791 Seiten
- GERISCHER, H. (1949): Über die Auflösungsgeschwindigkeit von Schwefel und Sulfid in Polysulfidlösungen.- Zeitschrift für Anorganische Chemie, **259**, 220-224
- GIGGENBACH, W. F. (1968): On the nature of the blue solutions of sulfur.- Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry, **30**, 3189-3201
- GIGGENBACH, W. F. (1971): The blue solutions of sulfur in water at elevated temperatures.- Inorganic Chemistry, **10**, 1306-1311
- GIGGENBACH, W. F. (1972): Optical spectra and equilibrium distribution of polysulfide ions in aqueous solution at 20 °C.- Inorganic Chemistry, **11 (6)**, 1201-1207
- GIGGENBACH, W. F. (1974a): Equilibria involving polysulfide ions in aqueous sulfide solutions up to 240 °C.- Inorganic Chemistry, **13 (7)**, 1724-1730
- GIGGENBACH, W. F. (1974b): Kinetics of the polysulfide-thiosulfate disproportionation up to 240 °C.- Inorganic Chemistry, **13 (7)**, 1730-1733
- GIL, J. C. & BEATO, J. (1923): Über die Existenz der freien Thioschwefelsäure in Gegenwart von rauchender Salzsäure und über die Herstellung alkoholischer Lösungen von Thioschwefelsäure.- Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, **56**, 2451-2453
- GLATZ, J. A. & GIRARD, J. E. (1982): Factors affecting the resolution and detectability of inorganic anions by non-suppressed ion chromatography.- Journal of Chromatographic Science, **20**, 266-273
- GMELIN-INSTITUT (HRSG.) (1928): Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie, Natrium, System-Nummer 21, Hauptband, Verlag Chemie GmbH, Weinheim, **8. Auflage**, 602-623
- GMELIN-INSTITUT (HRSG.) (1960): Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie, Schwefel, System-Nummer 9, Teilband B, Verlag Chemie GmbH, Weinheim, **8. Auflage**, 853-957
- GMELIN-INSTITUT (HRSG.) (1966): Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie, Natrium, System-Nummer 21, Ergänzungsband, Verlag Chemie GmbH, Weinheim, **8. Auflage**, 247-252, 1162-1176
- GOROKHOVSKAYA, V. I. & VOROBÉVA, G. S. (1985): Acid decomposition of thiosulfate in the region of millimolar concentrations.- Zhurnal Obshchei Khimii, **55 (1)**, 156-162
- GUERRONNIERE, E. DE LA & HENRY, R. (1958): Préparation de H₂³⁵SO₄ et de quelques autres composés minéraux simples marqués à ³⁵S.- Rapport Commissariat à l'Énergie Atomique, France, **858**, 11 Seiten
- HABICHT, K., CANFIELD, D. & RETHMEIER, J. (1997): Sulfur isotope fractionation during bacterial reduction and disproportionation of thiosulfate and sulfite.- In:

- HABICHT, K.: Sulfur isotope fractionation in marine sediments and bacterial cultures (Dissertation).- Universität Bremen, Fachbereich Geowissenschaften [zur Publikation eingereicht bei *Geochimica et Cosmochimica Acta*]
- HEIJDE, H. B. VAN DER (1953): Tracer studies on a hitherto unnoticed side reaction of the decomposition of tetrathionate by sulfid.- *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, **72**, 510-512
- HEIJDE, H. B. VAN DER & ATEN, A. H. W., JR. (1952): Tracer studies on some reactions of thiosulfate and tetrathionate.- *Journal of the American Chemical Society*, **74**, 3706
- HERBER, R. H. (1962): Sulfur-35.- In: HERBER, R. H. (HRSG.): *Inorganic isotopic syntheses*, W. A. Benjamin, Inc., New York, 193-214
- HEUNISCH, G. W. (1977): Stoichiometry of the reaction of sulfites with hydrogen sulfid ion.- *Inorganic Chemistry*, **16 (7)**, 1411-1413
- HOLLEMAN, A. F. & WIBERG, N. (1985): *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*.- Verlag Walter de Gruyter, Berlin · New York, **91.-100. Auflage**, 1451 Seiten
- JANDER, G. & BLASIUS, E. (1990): *Einführung in das anorganisch-chemische Praktikum*.- S. Hirzel Verlag, Stuttgart, **13. Auflage**, 556 Seiten
- JANICKIS, J. (1937): Über das Verhalten von Thiosulfat und die Bildung höherer Polythionsäuren in rauchender Salzsäure.- *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, **234 (3)**, 193-223
- JANSSEN, P. H., SCHUHMANN, A., BAK, F. & LIESACK, W. (1996): Disproportionation of inorganic sulfur compounds by the sulfate-reducing bacterium *Desulfocapsa thiozymogenes* gen. nov., sp. nov.- *Archives of Microbiology*, **166**, 184-192
- JØRGENSEN, B. B. (1990a): A thiosulfate shunt in the sulfur cycle of marine sediments.- *Science*, **249**, 152-154
- JØRGENSEN, B. B. (1990b): The sulfur cycle of freshwater sediments: Role of thiosulfate.- *Limnology and Oceanography*, **35**, 1329-1342
- JØRGENSEN, B. B. (1994): Sulfate reduction and thiosulfate transformations in a cyanobacterial mat during a diel oxygen cycle.- *FEMS Microbiology Ecology*, **13**, 303-312
- JØRGENSEN, B. B. & COHEN, Y. (1977): Solar Lake (Sinai). 5. The sulfur cycle of the benthic cyanobacterial mats.- *Limnology and Oceanography*, **22(4)**, 657-666
- JØRGENSEN, B. B., KUENEN, J. G. & COHEN, Y. (1979): Microbial transformations of sulfur compounds in a stratified lake (Solar Lake, Sinai).- *Limnology and Oceanography*, **24 (5)**, 799-822
- JØRGENSEN, B. B. & BAK, F. (1990): Pathways and Microbiology of Thiosulfate Transformations and Sulfate Reduction in a Marine Sediment (Kattegat, Denmark).- *Applied and Environmental Microbiology*, **57 (3)**, 847-856

- JOHNSON, R. E. & HUSTON, J. L. (1950): Preparation of radioactive sulfur from barium sulfate.- Journal of the American Chemical Society, **72**, 1841-1842
- KELLY, D. P. & WOOD, A. P. (1994): Synthesis and determination of thiosulfate and polythionates.- Methods in Enzymology, **243**, 475-501
- KELLY, D. P., SHERGILL, J. K., LU, W. P. & WOOD, A. P. (1997): Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria.- Antonie van Leeuwenhoek, **71**, 95-107
- KESSLER, M. J. (1989): Liquid Scintillation Analysis – Science and Technology.- Packard Instrument Company, Meriden/Connecticut
- KING, R. B. (1994): Encyclopedia of inorganic chemistry.- John Wiley & Sons, New York
- KLIMMEK, O., KRÖGER, A., STEUDEL, R. & HOLDT, G. (1991): Growth of *Wolinella succinogenes* with polysulphide as terminal acceptor of phosphorylative electron transport.- Archives of Microbiology, **155**, 177-182
- KONOPIK, N. (1953): Zur Konstitution des Thiosulfations in wäßriger Lösung.- Monatshefte für Chemie, **84**, 1243-1247
- KOSOWER, E. M. & KOSOWER, N. S. (1995): Bromobimane probes for thiols.- Methods in Enzymology, **251**, 133-148
- KRÄMER, M. & CYPIONKA, H. (1989): Sulfate formation via ATP sulfurylase in thiosulfate- and sulfite-disproportionating bacteria.- Archives of Microbiology, **151**, 232-237
- KREKELER, D., SIGALEVICH, P., TESKE, A., CYPIONKA, H. & COHEN, Y. (1997): A sulfate-reducing bacteria from the oxic layer of a microbial mat from Solar Lake (Sinai); *Desulfovibrio oxycliniae* sp. nov., Archives of Microbiology, **167**, 369-375
- LEDERER, C. M., HOLLANDER, J. M. & PERLMAN, I. (1967): Table of Isotopes, John Wiley & Sons, New York, **6. Auflage**
- LIBES, S. M. (1992): An introduction to marine biogeochemistry.- John Wiley & Sons, New York, 734 Seiten
- LICHT, S. & DAVID, J. (1997): Disproportionation of aqueous sulfur and sulfide: Kinetics of polysulfide decomposition.- Journal of Physical Chemistry B, **101**, 2540-2545
- LIDE, D. R. (HRSG.) (1994): CRC Handbook of Chemistry and Physics (1994-1995): CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, **75. Auflage**
- LUTHER, G. W., III, RICKARD, D. T., THEBERGE, S. & OLROYD, A. (1996): Determination of metal (bi)sulfide stability constants of Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , and Zn^{2+} by voltammetric methods.- Environmental Science and Technology, **30 (2)**, 671-679
- MCAMISH, L. H. & JOHNSTON, F. J. (1976): Sulfur exchange and decomposition kinetics in solid $Na_2S_2O_3$.- Journal of inorganic and nuclear chemistry, **38**, 537-540

- MCKAY, H. A. C. (1938): Kinetics of exchange reactions.- *Nature*, **142**, 997-998
- MEL, H. C., HUGUS, Z. Z., JR. & LATIMER, W. M. (1956): The thermodynamics of thiosulfate ion.- *Journal of the American Chemical Society*, **78**, 1822-1826
- MEYER, B., PETER, L. & SPITZER, K. (1976): Trends in the charge distribution in sulfanes, sulfanesulfonic acids, sulfanedisulfonic acids and sulfurous acid.- *Inorganic Chemistry*, **16**, 27-33
- MEYER, B., OSPINA, M. & TINI, A. (1980): Decomposition of aqueous thiosulfate.- *Abstracts of papers of the American Chemical Society*, **180 (August)**, 253 (INOR)
- MIASKIEWICZ, K. & STEUDEL, R. (1992): The structures of thiosulfuric acid $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and its monoanion HS_2O_3^- .- *Angewandte Chemie International Edition in English*, **31 (1)**, 58-59
- MÖCKEL, H. J. (1984): Retention of sulphur and sulphur organics in reversed-phase liquid chromatography.- *Journal of Chromatography*, **317**, 589-614
- MOSES, C. O., NORDSTRO, D. K. & MILLS, A. L. (1984): Sampling and analysis of sulphate, sulphite, thiosulphate and polythionate.- *Talanta*, **31 (5)**, 331-339
- NEUMANN, K., SEIBERT, A. & SZIELEIT, H.-J. (1974): *Zeitschrift für physikalische Chemie, Neue Folge*, **90**, 40
- NYQUIST, R. A. & KAGEL, R. O. (1997): *Infrared spectra of inorganic compounds (3800-45 cm^{-1})*.- Academic Press, Inc., San Diego
- OHMOTO, H. & LASAGA, A. C. (1982): Kinetics of reactions between aqueous sulfates and sulfides in hydrothermal systems.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **46**, 1727-1745
- PECK, H. D., JR. (1993): Bioenergetic strategies of the sulfate-reducing bacteria.- In: ODOM, J. M.: *Sulfate-reducing bacteria, contemporary perspectives*.- Springer, New York, 41-76
- PECK, H. D., JR. & LEGALL, J. (1982): Biochemistry of dissimilatory sulfate-reduction.- *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, **298**, 443-466
- PFENNIG, G., KLEWE-NEBENIUS, H., SEELMANN-EGGEBERT, W. (1995): *Karlsruher Nuklidkarte*.- Forschungszentrum Karlsruhe, **6. Auflage**, 24 Seiten
- REES, C. E. (1973): A steady-state model for sulphur isotope fractionation in bacterial reduction processes.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **37**, 1141-1162
- RETHMEIER, J., RABENSTEIN, A., LANGER, M. & FISCHER, U. (1997): Detection of traces of oxidized and reduced sulfur compounds in small samples by combination of different high-performance liquid chromatography methods.- *Journal of Chromatography A*, **760**, 295-302
- RIEDEL, E. (1990): *Anorganische Chemie*.- Verlag Walter de Gruyter, Berlin · New York, **2. Auflage**, 849 Seiten

- ROLIA, E. & CHAKRABARTI, C. L. (1982): Kinetics of decomposition of tetrathionate, trithionate and thiosulfate in alkaline media.- *Environmental Science and Technology*, **16** (12), 852-857
- SCHAUDER, R. & KRÖGER, A. (1993): Bacterial sulphur respiration.- *Archives of Microbiology*, **159**, 491-497
- SCHMIDT, M. (1972): Oxyacids of sulfur.- In: SENNING, A. (HRSG.): *Sulfur in Organic and Inorganic Chemistry*, Volume 2, Chapter 13, Verlag Marcel Dekker, 71-112
- SCHMIDT, M. (1984): Chemical problems of flue-gas desulfurisation.- In: MÜLLER, A. & KREBS, B. (HRSG.): *Sulfur, its significance for chemistry, for the geo-, bio-, and cosmosphere and technology.- Studies in Inorganic Chemistry*, Elsevier, **Vol. 5**, 259-276
- SCHMIDT, M. & TALSKEY, G. (1959): Jodometrische und colorimetrische Bestimmung von Sulfanen, elementarem Schwefel und Sulfan-Schwefelgemischen.- *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie*, **166**, 274-283
- SEIBERT, A. (1975): Salzschnmelzen von Thiocyanaten und Thiosulfaten, II. Untersuchungen über den Platzwechsel der Schwefelatome in Natriumthiosulfat.- *Zeitschrift für Physikalische Chemie, Neue Folge*, **97**, 11-22
- SINGLETON, R., JR. (1993): The sulfate-reducing bacteria: An overview.- In: ODOM, J. M.: *Sulfate-reducing bacteria, contemporary perspectives.- Springer, New York*
- SKOOG, D. A. & LEARY, J. J. (1996): *Instrumentelle Analytik.- Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York*, 898 Seiten
- SMOCK, A. M., BÖTTCHER, M. E. & CYPIONKA, H. (1998): Fractionation of sulfur isotopes during thiosulfate reduction by *Desulfovibrio desulfuricans*.- *Archives of Microbiology*, **169**, 460-463
- STEUDEL, R. (1989): On the nature of the „elemental sulfur“ (S^0) produced by sulfur-oxidizing bacteria – a model for S^0 globules.- in: SCHLEGEL, H. G. & BOWIEN, B. (HRSG.): *Autotrophic Bacteria*, Chapter 16, Science Tech Publishers & Springer Verlag, Madison, Heidelberg, 289-303
- STEUDEL, R. GÖBEL, T. & HOLDT, G. (1988): The molecular composition of hydrophilic sulfur sols prepared by acid decomposition of thiosulfate.- *Zeitschrift für Naturforschung*, **43b**, 203-218
- STEUDEL, R. & HOLDT, G. (1988): Solubilization of elemental sulfur in water by cationic and anionic surfactants.- *Angewandte Chemie International Edition in English*, **27** (10), 1358-1359
- STRANKS, D. R. & WILKINS, R. G. (1957): Isotopic tracer investigations of mechanism and structure in inorganic chemistry.- *Chemical Reviews*, **57**, 743-866
- STUMM, W. & MORGAN, J. (1996): *Aquatic Chemistry.- John Wiley & Sons, New York*, **3. Auflage**, 1022 Seiten

- TEBBE, F. N., WASSERMAN, E., PEET, W. G., VATVARS, A. & HAYMAN, A. C. (1982): Composition of elemental sulfur in solution: Equilibrium of S₆, S₇, and S₈ at ambient temperatures.- *Journal of the American Chemical Society*, **104**, 4971
- THAMDRUP, B., FINSTER, K., FOSSING, H., HANSEN, J. W. & JØRGENSEN, B. B. (1994): Thiosulfate and sulfite distributions in porewater of marine sediments related to manganese, iron, and sulfur geochemistry.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **58**, 67-73
- THAUER, R. K., JUNGERMANN, K. & DECKER, K. (1977): Energy Conservation in chemotrophic anaerobic bacteria.- *Bacteriological Reviews*, **41**, 100-180
- TUDGE, A. P. & THODE, H. G. (1950): Thermodynamic properties of isotopic compounds of sulfur.- *Canadian Journal of Research*, **28**, 567-578
- UYAMA, F., CHIBA, H., KUSKABE, M. & SAKAI, H. (1985): Sulfur isotope exchange reactions in the aqueous system: thiosulfate-sulfide-sulfate at hydrothermal temperature.- *Geochemical Journal*, **19**, 301-315
- VAIRAVAMURTHY, A., MANOWITZ, B. & LUTHER, G. W., III (1993): Oxidation states of sulfur in thiosulfate and implications for anaerobic energy metabolism.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **57**, 1619-1623
- VOGE, H. H. (1939): Exchange Reactions with radiosulfur.- *Journal of the American Chemical Society*, **61**, 1032-1035
- VOGE, H. H. & LIBBY, W. F. (1937): Exchange reactions with radiosulfur.- *Journal of the American Chemical Society*, **59**, 2474
- WAHL, A. C. & BONNER, N. A. (HRSG.) (1951): Radioactivity applied to chemistry.- John Wiley & Sons, New York, 604 Seiten
- WATSON, H. E. & RAJAGOPALAN, M. (1925): The reaction between sodium sulphite and sulfur.- *Journal of the Indian Institute of Science*, **8A**, 275-286
- WAWRZYCZEK, W., BARDZICKI, N. & BOŹEK, E. (1956): Chemical reactions occurring in ultrasonic field.- *Proceedings of the 2nd Polish Conference on Ultrasonics*, 95-98
- WELLS, A. E. (1916): *Journal of Industrial Engineering and Chemistry*, **8**, 770
- WIDDEL, F. & HANSEN, T. A. (1991): The dissimilatory sulfate- and sulfur-reducing bacteria.- In: BALOWS, A., TRÜPER, H. G., DWORKIN, M., HARDER, W. & SCHLEIFER, K.-H. (1992): *The Prokaryotes*, Springer Verlag, **2. Auflage**, 583-624
- XU, X. B. & CHANG, S. G. (1984): Study of the disproportionation of sodium thiosulfate by x-ray photoelectron spectroscopy.- *High Temperature Science*, **17**, 165-170
- XU, Y. & SCHOONEN, M. B. (1995): Stability of thiosulfate in the presence of pyrite in low-temperature aqueous solutions.- *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **59 (22)**, 4605-4622

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Änderungen der freien Enthalpien bei Reaktionen, die im Zusammenhang mit der Thiosulfat- und Sulfitdisproportionierung diskutiert wurden	13
Tabelle 3-1: Säurekonstanten von Schwefel-Sauerstoffsäuren und Schwefelwasserstoff	17
Tabelle 3-2: Normalpotentiale E° von Sulfat, Sulfit, Thiosulfat, Schwefel und Sulfid	18
Tabelle 3-3: Kenndaten des Ultraschallbads	24
Tabelle 3-4: Biman-Methode: Retentionszeiten thiolähnlicher Verbindungen	27
Tabelle 3-5: Parameter für das Zählprotokoll auf dem <i>TRICARB TR 2500</i>	30
Tabelle 3-6: Ergebnisse der Thiosulfatsynthesen 1 bis 6	35
Tabelle 3-7: Ergebnisse der Thiosulfatsynthesen 7 bis 12	36
Tabelle 3-8: Ergebnisse der Versuche zur Identifikation des unbekanntem Peaks im Produkt der Synthesen von innen markiertem Thiosulfat	39
Tabelle 3-9: Retentionszeitenvergleich $S_2O_3^{2-}/S_4O_6^{2-}$,	40
Tabelle 4-1: Übersicht über die Austauschexperimente 0 bis 4	52
Tabelle 4-2: Vergleich der Zinksalzfällungen reiner Tracer-Lösungen (n. b.: nicht bestimmt)	82
Tabelle 4-3: Vergleich der abgeschätzten und der gemessenen pH-Werte einiger Sulfidlösungen	85
Tabelle 4-4: Vergleich der gravimetrisch berechneten mit den photometrisch gemessenen Konzentrationen einiger Sulfidlösungen	85
Tabelle 4-5: Abkürzungen zur Reaktionskinetik einer bimolekularen Austauschreaktion	89
Tabelle 4-6: Aktivierungsenergien (E_a) und (dekadische Logarithmen der) Frequenzfaktoren A für (Austausch-) Reaktionen erster und zweiter Ordnung	90
Tabelle 4-7: Geschwindigkeitskonstanten k für Austauschreaktionen mit Thiosulfat	90
Tabelle 4-8: Umsatzraten für Isotopenaustausch bei 20 °C und 80 °C	91

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2-1a: Umsatz an innen und außen markiertem Thiosulfat	11
Abbildung 2-1b: Konzentrationen von Sulfit und Thiosulfat	11
Abbildung 2-2: Struktur des Thiosulfat-Ions	12
Abbildung 3-1: Natrium-Rhodizonat	25
Abbildung 3-2: Struktur von Monobrombiman	27
Abbildung 3-3: Grenzstruktur des Methylenblau-Kations	29
Abbildung 3-4: 20 µl Stamm-5, 1:1 verdünnt	32
Abbildung 3-5: 10 µl 5,3 mmol/l „NaH ³⁵ SO ₃ “-Lösung	33
Abbildung 3-6: Sulfat-, Sulfit- und Summe beider Konzentrationen über die Lagerungszeit von 31 Tagen	41
Abbildung 3-7: Strukturen des Disulfit-Ions und des Dithionat-Ions	42
Abbildung 4-1: Modell für den Isotopenaustausch zwischen Thiosulfat und Sulfit	48
Abbildung 4-2: Probenbehandlungsschema für Austauschexperimente 2 (Spritzen/teilweise), 3 und 4 (Serumflaschen/ganz) (Konzentrationen: grau, Aktivitäten: schwarz)	52
Abbildung 4-3: Struktur des Redoxindikators Resazurin	53
Abbildung 4-4: Reduktion von Resorufin zu Hydroresorufin	53
Abbildung 4-5: Vorversuch, HS ⁻ /S ₂ O ₃ ²⁻ , T=20 °C, pH=6,99, HP-Spritzen, Konzentrationen	63
Abbildung 4-6: Nur-Sulfid-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0, T=20 °C, pH=7,0, HP- und Fortunaspritzen, Konzentrationen	64
Abbildung 4-7: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 0, T=20 °C, pH=7,0, HP- und Fortunaspritzen, Konzentrationen	64
Abbildung 4-8: Nur-Sulfid-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4, T=20 °C/80 °C, pH=7, Serumflaschen, Konzentrationen	66
Abbildung 4-9: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4, T=20 °C/80 °C, pH=7, Serumflaschen, Konzentrationen	66
Abbildung 4-10: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4, T=20 °C/80 °C, pH=7, Serumflaschen, Aktivitäten	67
Abbildung 4-11: Nur-Thiosulfat-Kontrolle parallel zu Austauschexperiment 4, T=20 °C/80 °C, pH=7, Serumflaschen, Spezifische Aktivität	67
Abbildung 4-12: Austauschexperiment 0, HS ⁻ /S ₂ O ₃ ²⁻ , T=20 °C, pH=7,0, HP- und Fortuna-Spritzen, Konzentrationen	68
Abbildung 4-13: Austauschexperiment 1, HS ⁻ /S ₂ O ₃ ²⁻ , Probe 1, T=20 °C, pH=7,0 bis 7,7, Fortunaspritzen, Konzentrationen	70

Abbildung 4-14: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,0$ bis 7,7, Fortunaspritzen, Konzentrationen	70
Abbildung 4-15: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,0$ bis 7,7, Fortunaspritzen, Aktivitäten	71
Abbildung 4-16: Austauschexperiment 1, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=20\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,0$ bis 7,7, Fortunaspritzen, Spezifische Aktivitäten	72
Abbildung 4-17: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 1, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, <i>SGE</i> -Spritzen, Konzentrationen	73
Abbildung 4-18: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, <i>SGE</i> -Spritzen, Konzentrationen	74
Abbildung 4-19: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, <i>SGE</i> -Spritzen, Aktivitäten	74
Abbildung 4-20: Austauschexperiment 2, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Probe 2, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,16$, <i>SGE</i> -Spritzen, Spezifische Aktivitäten	75
Abbildung 4-21: Austauschexperiment 3, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,25$, Serumflaschen, Konzentrationen	76
Abbildung 4-22: Austauschexperiment 3, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,25$, Serumflaschen, Aktivitäten	76
Abbildung 4-23: Austauschexperiment 3, $\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,25$, Serumflaschen, Spezifische Aktivitäten	77
Abbildung 4-24: Austauschexperiment 4, $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $H=7,56$, Serumflaschen, Konzentrationen	78
Abbildung 4-25: Austauschexperiment 4, $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,56$, Serumflaschen, Aktivitäten	79
Abbildung 4-26: Austauschexperiment 4, $\text{S}_n^{2-}/\text{HS}^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7,56$, Serumflaschen, Spezifische Aktivitäten	79
Abbildung 4-27: Quenchkorrekturkurve für die Aktivitätsmessung der AgNO_3 - haltigen Überstände aus der Trennung von innerem und äußerem Thiosulfat-Schwefelatom	81
Abbildung 4-28: Abhängigkeit des Fraktionierungsfaktors F von der Temperatur T für $a+b=1\text{ mmol/l}$ intermolekular, intramolekular, 1 und 7 Tage Dauer	92
Abbildung 4-29: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $x_0=x(t=0\text{ d})$, berechnet aus x („Sulfid“-Filter), theoretische Werte	93
Abbildung 4-30: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $x_0=x(t=0,5\text{ d})$, berechnet aus x („Sulfid“-Filter), theoretische Werte	94
Abbildung 4-31: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $x_0=x(t=0\text{ d})$, berechnet aus x („Thiosulfat“-Filtrat), theoretische Werte	94
Abbildung 4-32: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 4, $T=20\text{ }^\circ\text{C}/80\text{ }^\circ\text{C}$, $x_0=x(t=0,5\text{ d})$, berechnet aus x („Thiosulfat“-Filtrat), theoretische Werte	95
Abbildung 4-33: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 3, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $x_0=x(t=0\text{ d})$, berechnet aus x („Sulfid“-Filter), berechnet aus x („Thiosulfat“-Filtrat), theoretische Werte	96
Abbildung 4-34: $-\ln(1-F)$, Austauschexperiment 3, $T=80\text{ }^\circ\text{C}$, $x_0=x(t=1,8\text{ d})$, berechnet aus x („Sulfid“-Filter), berechnet aus x („Thiosulfat“-Filtrat), theoretische Werte	96

Ich versichere, daß ich diese Arbeit allein und selbständig erstellt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Bremen, den 5. November 1998