

## Elementarer Schwefel

### Prinzip

Elementarer Schwefel kann von Organismen intrazellulär (*Chromatiaceae*, *Beggiatoaceae*) gespeichert oder extrazellulär (*Ectothiorhodospiraceen*, *Purple Nonsulfur Bacteria*, *Green Sulfur Bacteria*) abgelagert werden. Er stellt auch ein Zwischenprodukt der chemischen Sulfidoxidation dar. Da Schwefel in Wasser unlöslich ist, liegt er in wässrigen Lösungen in kolloidaler Form vor.

Schwefeileinschlüsse in Bakterien können mit Ethanol extrahiert werden und durch Messung der UV-Absorption bei 260 nm quantifiziert werden (Van Gernerden, 1968). Eine von Del Don (1994) angewandte Methode beruht auf der vollständigen Oxidation des Schwefels zu Sulfat in O<sub>2</sub>-gesättigter Atmosphäre. Sulfat wird anschliessend mittels Ionenchromatografie analysiert.

Ein Test nach Jørgensen et al. (1979) umfasst folgende Schritte: Umwandlung von Schwefel in Thiosulfat und iodometrische Titration des Thiosulfats.

a) Elementaren Schwefel durch Filtration (GF/F, 0.7 µm Porengrösse) aus der Probe eliminieren.

b) Filter in Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Lösung überführen und 90 Minuten bei 100 °C autoklavieren:



c) Das in geringen Mengen gebildete Sulfid mit Zinkacetatlösung ausfällen:



Ausgefälltes Sulfid stört den Test nicht.

d) Iodometrische Titration. Formalinlösung zur Maskierung des verbleibenden Sulfits, Essigsäure zur pH-Einstellung und Stärkelösung als Farbindikator werden zugegeben. Die Probenansätze werden mit Iodlösung bis zum ersten Farbumschlag titriert:



Sobald alles Thiosulfat zu Tetrathionat oxidiert ist, lagern sich I<sub>2</sub>-Moleküle an Stärke an, was den Farbumschlag nach violett verursacht.

### Anwendungsbereich

Daten zur Schwefeileichkurve (nach Känel & Mez, 1992)

Element	Schwefel
Eichgerade	$y = -5.8496 + 2.1061e^{-2} x$ $R^2 = 0.996$
Gültigkeitsbereich (in µM)	6.5-800
LQDC (in µM)	6.5
Rel. Standardfehler <5% (µM)	7-800
Rel. Standardfehler >5% (µM)	6.5-7

LQDC lowest quantitatively determinable concentration

### Reagenzien und Messapparatur

- **Natriumsulfitlösung (5%)**

Natriumsulfit entsteht durch folgende Reaktion aus Natriumsulfopentoxid.



Nach Reaktion (4) benötigt man 2.5 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 ml Lösungsmittel. Pro Mol Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> werden 2 Mol NaOH verbraucht, bei 2.5 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> entspricht dies 13.65 ml NaOH (2N). Salz in Natronlauge lösen, mit destilliertem Wasser auf 100 ml auffüllen und pH mit HCl oder NaOH auf 7.5-8 einstellen.

- **Zinkacetatlösung (2%)**

2 g Zinkacetat

90 ml destilliertes H<sub>2</sub>O

Salz in destilliertem Wasser lösen und auf 100 ml auffüllen.

- **Formalin**

- **Essigsäure konz. (Eisessig)**
- **Stärke (1%)**  
1 g lösliche Stärke  
90 ml destilliertes H<sub>2</sub>O  
Stärke unter Erwärmen auf Heizplatte (90°C) unter ständigem Rühren lösen und auf 100 ml auffüllen.
- **Iodlösung: Titrationslösung (0.010 M)**  
200 ml 0.05 M Iodstandardlösung (Merck)  
+ 800 ml destilliertes H<sub>2</sub>O  
Lösung in dunkler Flasche aufbewahren.
- **Titriereinheit**  
Dosimat 665 (Metrohm, Schweiz) mit 20 ml Wechseleinheit (Rate = 0.02 ml/Minute)

#### Vorgehen (Jørgensen et al. 1979; verändert)

- 100 ml Seewasser oder 5-15 ml Bakterienkultur filtrieren (GF/F, 0.7 µm Porengröße).
- Filter mit 10 ml H<sub>2</sub>O dest. spülen.
- Filter in 12 ml-Reagenzglas mit 10 ml vorgelegter 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Lösung (in 2N NaOH) geben.
- Bis zur weiteren Analyse kühl und dunkel aufbewahren.
- Filter im Reagenzglas 90 Minuten lang ‚autoklavieren‘ (100°C).
- Abkühlen lassen.
- 1 ml 2% Zinkacetatlösung zugeben, mischen.
- Lösung filtrieren (0.45 µm Porengröße).
- Unter Rühren folgende Reagenzien zum Filtrat zugeben: 0.5 ml Formalin (36%); 1 ml Essigsäure konz. (Eisessig), 0.5 ml Stärke (1%).
- 5 Minuten vollständig mischen lassen.
- Iodometrische Titration mit 0.01 M Iodlösung bis zum ersten Farbumschlag nach blau.

#### Standards

Die Erstellung einer Eichkurve für elementaren Schwefel ist schwierig, Weder Jørgensen (1979) noch andere Autoren machen Angaben zur Herstellung einer quantitativen Schwefellösung.

#### Herstellung einer 0.1 M Schwefellösung (Reaktionen nach Karchmer, 1970)

Elementaren Schwefel in 2N NaOH und 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> durch zweifaches ‚Autoklavieren‘ (je 30 Minuten bei 100°C) lösen. Aus dieser gelblichen 100 mM Schwefellösung werden durch Verdünnen mit 5% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> Eichstandards hergestellt, die nach Zugabe eines Filters (GF/F) 90 Minuten bei 100°C autoklaviert werden. Danach wird mit diesen Ansätzen wie mit Proben verfahren, ohne jedoch durch Filtration den Schwefel aus der Lösung zu entfernen. Dieser Ansatz führt zu einer brauchbaren Eichkurve.

#### Hinweise

Reaktionsmechanismen: S<sup>0</sup> löst sich in 2N NaOH, Elementarer Schwefel liegt dann in Form von Polysulfiden (S<sub>n</sub>S<sup>2-</sup>, n=1-4) vor, welche die gelbliche Farbe der Lösungen verursachen (Giggenbach, 1971). Wird dann wie im von Jørgensen (1979) vorgeschlagenen Verfahren HCl zugegeben, wandeln sich die Polysulfide wiederum in S<sup>0</sup> um. Dieser Schritt wird aber aufgrund der schlechten Pipettierbarkeit der Suspension weggelassen. Die Polysulfide reagieren direkt mit Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> zu Thiosulfat, welches durch iodometrische Titration erfasst werden kann. Die Mengen verbrauchter Iodlösung für die verschiedenen Konzentrationen stimmen gut mit den theoretisch berechneten Werten überein, die angewandte Methode ist also zuverlässig.

#### Literatur

- Boulegue J. 1978. Solubility of elemental sulfur in water at 298 K. In Phosphorus and Sulfur (5), 127-128. Gordon and Breach Science Publishers Ltd., Great Britain
- Del Don C, Hanselmann K, Peduzzi R, Bachofen R. 1994. Biomass composition and methods for the determination of metabolic reserve polymers in phototrophic sulfur bacteria. *Aquat. Sci.* 56:1-15
- Giggenbach WF. 1971. Optical spectra and equilibrium distribution of polysulfide ions in aqueous solution at 20°C. *Inorg. Chem.* 11:1201-1207
- Jørgensen BB, Kuenen J, Cohen Y. 1979. Microbial transformations of sulfur compounds in a stratified lake (Solar Lake, Sinai). *Limnol. Oceanogr.* 24:799-822

- Känel B, Mez K. 1992. Vielfalt und Dynamik mikrobieller Stoffwechselaktivitäten in der Redoxtransitionszone des Lago di Cadagno. Diplomarbeit Universität Zürich
- Karchmer JH. 1970. The analytical chemistry of sulfur and its compounds. Wiley-Interscience Vol 29, New York
- Van Gemerden H. 1968. Utilization of reducing power in growing cultures of *Chromatium*. *Arch. Mikrob.* 64:111-117