

Bachelorarbeit

Die Bedeutung der Arsen-Schwefel-Spezies für die Reduktion
der Arsen-Toxizität durch Knoblauch

vorgelegt von

Michael Burkard

betreut von

Prof. Dr. Britta Planer-Friedrich

Universität Bayreuth, Juniorprofessur Umweltgeochemie

Zweitgutachter

Prof. Dr. Egbert Matzner

Bayreuth, September 2009

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die im Literaturverzeichnis angegebenen Quellen benutzt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder noch nicht veröffentlichten Quellen entnommen sind, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Zeichnungen oder Abbildungen in dieser Arbeit sind von mir selbst erstellt worden oder mit einem entsprechenden Quellennachweis versehen.

Diese Arbeit ist in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Prüfungsbehörde eingereicht worden.

Bayreuth September 2009

Michael Burkard

Abstract

Arsenic is ubiquitous, and chronic or acute exposure through food and water can contribute to a spectrum of diseases. Despite arsenic being a health hazard and a human carcinogen, no effective or preventive means for treating arsenic-induced toxicity exist. The motivation for this work was a published study claiming that arsenite cytotoxicity for rats is reduced in the presence of garlic, allegedly due to oxidation of arsenite to arsenate. However, as garlic extracts contain S-substances and recent reports show that arsenite and sulfur react to form thioarsenates, the question arose as to their contribution in toxicity reduction. Oxidation of arsenite to thioarsenates can be explained by the high affinity between As(III) and sulfur. However, in the experiments of the afore-mentioned study, arsenic speciation was done based on hydride generation, which is not suitable for arsenic determination in sulfidic solutions because thioarsenates are either ignored or wrongly classified in the As(III) or As(V) fraction. In this work, the analysis was performed using chromatographic separation with an alkaline eluent able to preserve thioarsenate species and simultaneous detection of As and S by ICP-MS. The first part of the investigations addressed arsenite conversion in synthetic sulfur solutions and showed the ability of sulfide to oxidize over 50% of the arsenite originally applied to 6,9% mono-, 15% di-, and 32% trithioarsenate. In the second part of the work the abiotic in-vitro conversion of arsenite in the presence of natural garlic and garlic-like substances was investigated. In general, arsenite remained the dominant species after reaction and we never observed full conversion to arsenate. Abiotically, the share of thioarsenates formed was low. Warming or shaking the solution was ineffective to increase conversion rates. Even products with a longer reaction time or those prepared under reducing conditions showed little conversion. The highest share of newly formed thioarsenates (>45%; predominantly as monothioarsenate) was found in leek extracts at pH 9. These findings prove that in general less toxic thioarsenates can form even abiotically from arsenite in the presence of garlic or garlic-like substances. Similarly, the conversion of arsenite to arsenate by the influence of garlic could be confirmed - up to 82% of arsenate were formed in some of the experiments. In in-vivo studies, the effect of enzymes will further complicate reaction patterns and might lead to even greater conversion to arsenate or thioarsenates.

Kurzfassung

Arsen ist eine allgegenwärtige Verbindung, chronische oder akute Belastungen in Nahrungsmitteln und Wasser können zu einem breiten Spektrum an Krankheiten beitragen. Obwohl Arsen für den Menschen gesundheitsgefährdend und krebserregend ist, gibt es weder eine wirksame noch eine vorsorgende Maßnahme, um eine von Arsen induzierte Toxizität zu behandeln. Als Motivation für diese Arbeit dient eine Studie, die behauptet, dass die Zytotoxizität von Arsenit bei Ratten durch die Anwesenheit von Knoblauch reduziert wurde, angeblich durch die Oxidation von Arsenit zu Arsenat durch den Einfluss schwefelhaltiger Komponenten, die aus Knoblauch entstehen können. Wenn allerdings die Knoblauchextrakte schwefelhaltige Substanzen enthalten und wie jüngste Berichte zeigen, Arsenit und Schwefel zu Thioarsenaten reagieren, stellt sich die Frage über ihre Beteiligung bei der Reduzierung der Toxizität. Die Oxidation von Arsenit zu den Thioarsenaten kann durch die hohe Affinität zwischen As(III) und Schwefel erklärt werden. In den Experimenten der eben genannten Studie wurde jedoch eine auf Hydridgenerierung basierende Speziesanalytik verwendet, die nicht für die Arsen Bestimmung in sulfidischen Lösungen geeignet ist, da Thioarsenate entweder komplett ignoriert oder fälschlicherweise in der As(III)- oder in der As(V)-Fraktion mitbestimmt werden. Die Analyse dieser Arbeit wurde dagegen mit Hilfe einer chromatographischen Trennung und unter Verwendung eines alkalischen Eluenten, durch den die Thioarsenatspezies erhalten bleiben, und der gleichzeitigen Detektion von As und S mittels ICP-MS, durchgeführt. Im ersten Teil der Untersuchungen wurde die Arsenitumwandlung in synthetischen Schwefellösungen getestet, und es zeigte sich die Fähigkeit von Sulfid, über 50% des ursprünglichen Arsens zu 6,9% Mono-, 15% Di-, und 32% Trithioarsenat zu oxidieren. Im zweiten Teil der Arbeit wurde die abiotische in-vitro Umwandlung von Arsenit durch den Einfluss von Knoblauch und dem Knoblauch-ähnlichen Substanzen untersucht. In der Regel blieb Arsenit auch nach der Umwandlung die dominante Spezies und es konnte nie eine vollständige Umwandlung beobachtet werden. Abiotisch war der Anteil der gebildeten Thioarsenates sehr gering. Auch durch Erwärmen oder Schütteln konnten die Umwandlungsraten nicht erhöht werden. Ebenso zeigten Präparate mit einer längeren Reaktionszeit oder das Herstellen unter reduzierenden Bedingungen kaum einen Effekt. Der höchste Anteil von neu gebildeten Thioarsenaten (>45%; überwiegend als Monothioarsenat) wurde in einem Lauch-Extrakte bei pH 9

gefunden. Diese Ergebnisse beweisen, dass generell aus Arsenit auch abiotisch die weniger giftigen Thioarsenate in Gegenwart von Knoblauch oder Knoblauch-ähnlichen Substanzen gebildet werden können. Auch die Umwandlung von Arsenit zu Arsenat durch den Einfluss von Knoblauch konnte bestätigt werden, in den Experimenten entstanden bis zu 82% Arsenat. Bei in-vivo-Studien beeinflusst zusätzlich die Wirkung von Enzymen das Reaktionsmuster und könnte noch zu einer größeren Umwandlung zu Arsenat oder Thioarsenat führen.

Inhaltsverzeichnis

1 Problemstellung.....	3
2 Grundlagen.....	6
2.1 Arsen.....	6
2.2 Toxizität.....	7
2.2 Knoblauch.....	8
2.2.1 Allgemeines.....	8
2.2.2 Heilende Wirkung.....	9
2.2.3 Inhaltsstoffe.....	10
2.3 Aktueller Stand zu Arsen-Knoblauch.....	13
3 Methodik.....	16
3.1 Verwendete Chemikalien.....	16
3.2 Experimente.....	17
3.2.1 Experimente in Abwesenheit von Luftsauerstoff.....	17
3.2.1.1 Glovebox Setup.....	17
3.2.1.2 Synthetische Lösungen.....	17
3.2.1.3 Natürliche Präparate.....	19
3.2.2 Experimente in Anwesenheit von Luftsauerstoff.....	19
3.2.2.1 Synthetische Lösungen.....	19
3.2.2.2 Natürliche Präparate.....	20
3.3 Analytik.....	22
3.3.1 Instrumentelles Setup der IC-ICP-MS.....	22
3.3.2 Durchführung und Lagerung.....	23
3.3.3 Kalibrierung.....	24
4 Ergebnisse und Diskussion.....	25
4.1 Gesamtarsengehalt.....	25
4.2 Arsenspeziiierung in Abwesenheit von Luftsauerstoff.....	28
4.2.1 Synthetische Lösungen.....	28
4.2.1.1 Messung unmittelbar nach dem Herstellen der Lösungen.....	28
4.2.1.2 Zeitliche Veränderung.....	29
4.2.1.3 Veränderungen durch Luftsauerstoff.....	31
4.2.2 Natürliche Präparate.....	33
4.3 Arsenspeziesverteilung in Anwesenheit von Luftsauerstoff.....	34
4.3.1 Synthetische Lösungen.....	34
4.3.2 Natürliche Präparate.....	34
4.3.2.1 Messung von Säften, Pulver und frischen Präparaten.....	34
4.3.2.2 Quantitativer Einfluss der frischen Substanzen.....	36
4.3.2.3 Unbehandelte Proben mit längerer Reaktionszeit.....	37
4.3.2.4 Entwicklung der Speziesverteilung über die Zeit.....	38
4.3.2.5 Unterschiedlich lange Erwärmungszeiten.....	39
4.3.2.6 Unterschiedliche Bearbeitungsform.....	41
4.3.2.7 Allinzugabe.....	42
4.3.2.8 Erhöhung des pH-Wertes.....	44
4.4 Vergleich der natürlichen Substanzen.....	48
4.5 Arsenatgehalt.....	49
4.6 Wesentliche Ergebnisse.....	51

5. Empfehlungen	53
6 Zusammenfassung	55
Literaturverzeichnis	57
Abbildungsverzeichnis	59
Tabellenverzeichnis	59
Anhang.....	60

1 Problemstellung

„Knoblauch könnte für Millionen Bangladescher die Rettung vor Arsenvergiftungen sein: Eine indische Forscherin hat entdeckt, dass Knoblauch im Tierversuch, die Arsenwerte im Körper drastisch reduzieren kann, berichtet das Wissenschaftsmagazin Food and Chemical Toxicology“[1]. Der Grund für diese Forschung hat weit reichende Hintergründe. Bangladesch stellte in den 1970er Jahren die Trinkwasserversorgung auf Brunnenwasser um, da die meisten Oberflächengewässer kontaminiert waren. Insgesamt wurden rund zehn Millionen Trinkwasserbrunnen errichtet. Allerdings wies das Brunnenwasser eine starke Arsenbelastung auf. Messungen ergaben, dass eine Vielzahl der Brunnen mehr als 50 µg Arsen pro Liter Wasser aufwies. In Deutschland liegt der von der WHO vorgeschriebene Grenzwert bei 10 µg pro Liter [2]. Über 70 Millionen Menschen in West-Bengalen, Indien und Bangladesch sind von arsenbelastetem Trinkwasser abhängig und leiden unter seinen Auswirkungen. Derartige Belastungen stellen ein globales Problem dar, auch in Argentinien, Mexiko, Chile, Taiwan, der Mongolei und den USA konnten schon erhöhte Arsenwerte festgestellt werden. Die Arsenbelastung hat einen topographischen Hintergrund. Die Flüsse Ganges, Brahmaputra und Meghna haben mit ihrer Ablagerung ein riesiges Flussdelta gebildet. Nach einem Meeresspiegelabfall füllten sich die entstandenen Täler mit einem Ton, der als Träger des Arsens vermutet wird. Ein weiteres Problem besteht darin, dass das Wasser auch für Bewässerungen herangezogen wird. Daraufhin konnten auch im Reis erhöhte Werte nachgewiesen werden [1].

Das Thema der vorliegenden Arbeit lautet „Die Bedeutung der Arsen-Schwefel-Spezies für die Reduktion der Arsen-Toxizität durch Knoblauch“. Aber wo kann nun ein Zusammenhang mit Knoblauch hergestellt werden? Wie schon zu Beginn dieses Kapitels erwähnt, gelang es einer indischen Forschergruppe bei Versuchen mit Ratten, denen gleichzeitig Arsen und Knoblauch verabreicht wurde, eine Verminderung des Arsengehaltes im Körper festzustellen. Als Ergebnis konnten sie festhalten, dass Ratten, denen Arsen und Knoblauch verabreicht wurde, zum einen um 40 Prozent weniger Arsen in Blut und Leber aufwies, und zum anderen ca. 45 Prozent höhere Arsenwerte im Urin hatten, verglichen mit Ratten denen nur Arsen verabreicht worden ist. Als Grund werden schwefelhaltige Substanzen wie etwa das Allicin im Knoblauch angegeben, das Arsen aus dem Blut und aus dem Gewebe

reinigen soll. Die Wirkung ist auf S-Verbindungen, die sich aus dem Allicin bilden, zurückzuführen. Bilden können sich diese Substanzen nur, wenn die Zellstruktur des Knoblauchs zerstört wird. In ihren in vitro und in vivo Versuchen untersuchte die Forschergruppe unter anderem auch die Spezierung des Arsens und gibt als Grund für die Reduktion der Toxizität die Oxidation des Arsenits (dreiwertige Arsenspezies) zu Arsenat (fünfwertige Arsenspezies) an. Für den Menschen gilt generell die fünfwertige Form als weniger toxisch. Die Motivation dieser Arbeit beruht auf der Annahme, warum nicht bei Anwesenheit von schwefelhaltigen Substanzen, ein Schwefelatom an das Arsenit angelagert bzw. eine OH-Gruppen des Arsenits gegen eine SH-Gruppe der schwefelhaltigen Substanzen ausgetauscht werden sollte? Dadurch könnten sich Arsen-Schwefel-Verbindungen, so genannte Thioarsenite, Thioarsenate oder methylierte Thioarsenverbindungen bilden. Derartige Verbindungen hätten allerdings mit der Speziesanalytik, die die indische Forschungsgruppe verwendete, nicht erkannt werden können. Die Analyse wurde mit der Hydridgenerierung durchgeführt, die definitionsgemäß nur zwischen Arsenit als „As(III)“- und Arsenat als „As(V)“-Fraktion unterscheiden kann. Folglich würden bei dieser Speziesanalytik die Arsen-Schwefel-Verbindungen unentdeckt bleiben, da sie in einer der beiden Fraktionen vorliegen. Entweder würden sie nicht erkannt oder unerkannt in einer der beiden Fraktionen vorliegen. Weiter ist für die Analyse mit dieser Methode ein Ansäuern auf pH 2 notwendig, durch das mögliche Arsen-Schwefel-Verbindungen entweder ausfallen oder – wenn gleichzeitig ein Reduktionsmittel zugegeben wird - zu Arsenit umgewandelt werden und somit in der As(III) Fraktion mitbestimmt werden.

In der durchgeführten Arbeit fand die Analyse dagegen mit Hilfe einer etablierten chromatographischen Trennung im Alkalischen und der gleichzeitigen Detektion von As und S mittels ICP-MS (inductively-coupled-plasma mass-spectrometry) statt. Durch diese Analyse kann man sicher feststellen welche Arsenspezies und speziell ob Arsen-Schwefelverbindungen gebildet werden. Auch ein Ansäuern ist bei dieser Methode nicht notwendig, so dass die möglichen Verbindungen auch während der Analyse relativ stabil bleiben. In dieser Arbeit soll speziell auf die quantitative und qualitative Bildung von Thioarsenaten eingegangen werden. Einerseits soll dies an Mischungen von Arsenit und synthetischen Reinsubstanzen der schwefelhaltigen Verbindungen, die sich in Knoblauchextrakten bilden können, bestimmt werden, andererseits an Mischungen von Arsenit und Extrakten aus natürlichen Knoblauch-

oder Knoblauch-ähnlichen Verbindungen. Dabei sollen verschiedene Knoblauchextrakte z.B. ein Öl oder ein Pulver, aber auch ähnliche Lauchgewächse wie Zwiebel, Bärlauch, Lauch und Lauchzwiebeln untersucht werden. Zusätzlich wurden noch unterschiedliche Varianten bei der Herstellung der Extrakte, unterschiedliche Standzeiten und verschiedene Reaktionsbedingungen (pH, Temperatur) getestet. Außerdem wurden die Versuche sowohl bei Anwesenheit als auch bei Abwesenheit von Luftsauerstoff durchgeführt. Auch im Hinblick auf die Möglichkeit ein potentiell wirksames Heilmittel gegen Arsenvergiftung zu entwickeln, kann diese Arbeit einen wichtigen Beitrag leisten, denn herkömmliche Methoden wie das Verabreichen von chelatbildenden Reaktionspartnern, die mit Arsen einen unlöslichen Komplex eingehen und es von belastetem Gewebe entfernen, weisen oft erhebliche Nebenwirkungen auf. So bewirkt das British Anti Lewisite (BAL), was eine sehr starke Affinität zu Arsen aufweist, Muskelbrennen, Bluthochdruck, Brechreiz, Kopfweh, Bindehautentzündung, Tränensekretion und Brust-Schmerzen [3,4]. Und verglichen mit Arsenit würden auch die gebildeten Thioarsenate eine geringere Toxizität aufweisen.

Abschließend bleibt zu bemerken, dass die Lieblingsspeise von Jeanne Calment, die im Alter von 122 Jahren als bisher ältester Mensch der Welt verstarb, die französische Knoblauchmayonnaise Aioli war [7].

2 Grundlagen

2.1 Arsen

Arsen ist ein Halbmetall mit der Ordnungszahl 33 und befindet sich in der fünften Hauptgruppe. Als Spurenelement kommt es ubiquitär sowohl in Form anorganischer als auch organischer Verbindungen in der Umwelt vor. Bekannt ist es als Mordgift par excellence, das vermehrt zu den Römerzeiten und im Mittelalter angewandt wurde. Als Gift diente meist das geruchlose und geschmacklose weiße Pulver Arsen trioxid As_2O_3 , von dem schon weniger als 0,1 g tödlich wirken können. Das elementare Arsen dagegen ist ebenso wie die organischen Arsenspezies nur wenig giftig. Die Toxizität wird aufgrund ihrer hohen Mobilität und Bioverfügbarkeit den anionischen, anorganischen Formen zugeschrieben [6,9]. Der Konfigurationszustand von s^2p^3 ermöglicht Arsen ein vielfältiges chemisches Verhalten. Es kann bis zu fünf Elektronen abgeben und die drei ungefüllten p-Orbitalen können kovalente Bindungen eingehen. Von Arsin (AsH_3) mit der Oxidationszahl -3 über das Arsen trioxid mit +3 bis hin zum Arsen pentaoxid, das die Oxidationszahl +5 hat, existiert das Arsen in den verschiedensten Formen. Vermehrt tritt es mit den Oxidationszahlen +3 und +5 auf. Die Bindungszustände As(III) und As(V) können die Arsenige Säure ($\text{As}(\text{OH})_3$) sowie die Arsensäure (H_3AsO_4) ausbilden, welche in den weiteren Ausführungen als Arsenit und Arsenat bezeichnet werden. Diese Formen tendieren dazu, Bindungen mit Sauerstoff und Schwefel einzugehen. Auch eine Bindung mit Methylgruppen ist möglich. Arsenspezies sind über einen sehr weiten pH- und Redoxbereich in Wasser löslich und somit sehr mobil, speziell das Arsenit, welches erst im Alkalischen dissoziiert [8,10]. Schwefelhaltige Spezies, in denen Arsen in der fünfwertigen Oxidationsstufe vorliegt, werden in der weiteren Ausführung vereinfachend Thioarsenate genannt. Beurteilt man diese nach der Anzahl ihrer Schwefelatome, heißen sie unabhängig von ihrem Protonierungsgrad Mono-, Di-, Tri-, und Tetrathioarsenat. Sie bilden sich durch eine Anlagerung eines Schwelatoms im Austausch mit einem Sauerstoffatom. Ihr Auftreten ist stark von pH-Wert und Redoxpotential abhängig. Während Monothioarsenat selbst bei pH-Werten im leicht sauren Bereich stabil ist, wird Tetrathioarsenat schon bei pH-Werten ab 12 zu Trithioarsenat umgewandelt. Dieses zerfällt ab pH 7 direkt in Arsenit, ebenso wie Dithioarsenat ab einem pH-Wert von 4 [4,5].

2.2 Toxizität

Bei einer akuten Vergiftung mit dem Mordgift Arsen trioxid tritt spätestens nach 1-3 Tagen der Tod ein. Ausgehend von Gewebsödemen, Übelkeit mit Erbrechen und einer massiven Gastroenteritis folgt ein zum Tod führender Wasser- und Elektrolytverlust. Die chronische Aufnahme von Arsen über das Trinkwasser löst beim Menschen schwere Hauterkrankungen bis hin zum Hautkrebs aus. Weiter schädigt es das Nervensystem, die peripheren Blutgefäße und verursacht Tumore an den inneren Organen. Beim Menschen verursacht seine stark kanzerogene Struktur neben Hautkrebs auch Leber- und Lungenkrebs. Auch Lymphome und Lungentumore können durch Arsen hervorgerufen werden. Das Arsen ist ein als Co-Karzinogen, das DNA-Reparaturmechanismen abschwächt. Seine Wirkung beruht auf der hohen Affinität zu den Thiolgruppen von Enzymen, mit denen es Komplexe bildet. Die Toxizität der Arsenverbindungen schwankt sehr stark. Während das Arsen trioxid und der Arsenwasserstoff als hochgiftig gelten, wird elementares Arsen und arsenhaltige Erze als ungiftig eingestuft. Generell weisen dreiwertige Arsenformen eine höhere Toxizität auf, das fünfwertige Arsenat dagegen gilt als weniger toxisch. Die Toxizität des Arsenats ist zum einen auf dessen chemische Ähnlichkeit mit Phosphat, und zum anderen auf dessen Reduktion im Körper zu Arsenit, zurückzuführen [5,11,12].

Wenngleich Arsen sowohl ein hohes Gesundheitsrisiko beherbergt als auch ein wohl bekanntes Kanzerogen ist, gibt es immer noch keine sichere, effektive und vorsorgende Methode durch Arsen induzierte Toxizität zu behandeln. Bei einer Metallvergiftung werden Chelatbildner verabreicht. Diese weisen eine hohe Affinität zu körperfremden Metallen auf und vermögen diese in stabilen Komplexen zu binden. Sie sollen Metalle auch in ihren Depots (Knochen, ZNS) erreichen, harngängige Komplexe bilden, gegen Änderungen des pH-Wertes stabil sein und weder selbst noch als Chelat giftig sein. Jedoch kaum ein Chelatbildner erfüllt diese Idealvorstellungen, dagegen treten eine große Anzahl an Nebenwirkungen auf. Das bei Arsenvergiftungen angewendete Dimercaptol (British Anti Lewisite) hat zum Beispiel selbst eine hohe Eigentoxizität. Und daher können als Nebenwirkungen Schwindel, Erbrechen, Blutdruckanstieg, erhöhter Puls, Darmkoliken und ein Temperaturanstieg auftreten [3,13].

2.2 Knoblauch

2.2.1 Allgemeines

Knoblauch (*Allium sativum*) stammt aus der Familie der Lauchgewächse (*Alliaceae*). Er gehört zu der Gattung Lauch (*Allium*), die etwa 700 botanische Arten umfasst. Es befinden sich jedoch nur 5 Arten in Kultur, dargestellt in Tabelle 1. Gemeinsames Merkmal der Gattung *Allium* ist die Bildung von ätherischen Ölen, deren Grundlage Schwefelverbindungen sind. Die Öle besitzen einen charakteristischen Geruch, der am stärksten bei den Arten *A. sativum* und *A. cepa* ausgeprägt ist.

Tabelle 1: Kulturarten der Gattung Lauch (<i>Allium</i>)	
<i>Allium cepa</i> L.	Küchenzwiebel
<i>Allium fistulosum</i> L.	Röhrenzwiebel
<i>Allium schoenoprasum</i> L.	Schnittlauch
<i>Allium porrum</i> L.	Porree
<i>Allium sativum</i> L.	Knoblauch

Die aus Zehen bestehende Zwiebel des Knoblauchs wird als Gemüse und Gewürz verwendet, die Knolle gilt aber auch als ein natürlicher Biokatalysator - eine Heilpflanze, die Krankheiten vorbeugen und viele Leiden heilen sollen. 1989 ist Knoblauch sogar zur Arzneipflanze des Jahres gewählt worden [14,15,16].

Vor 5000 Jahren von den Sumerern erstmals erwähnt ist, gelangte er aus Asiens über das Mittelmeer nach Europa. Aber auch schon ägyptische Sklaven nahmen ihn zur Stärkung beim Pyramidenbau zu sich. Der Knoblauch solle den Körper sättigen, dem Geist Klarheit geben, die Manneskraft stärken und Parasiten aus dem Darm vertreiben. Im ersten Jahrhundert empfahl der griechische Pharmakologe Pedanios Dioscurides in seinem Buch „*De materia medica*“ Knoblauch für vielfältige Einsätze in der Medikation, um etwa Bisswunden, Haarausfall, Zahnschmerzen, Hautausschläge, Lungenleiden oder Menstruationsstörungen damit zu behandeln. Im Spätmittelalter, als Mittel gegen Cholera- und Pestepidemien angewendet, nutzte man seine desinfizierende und antibiotische Wirkungsweise aus.

Weiter werden dem Knoblauch auch viele Mythen nachgesagt. Indianer trugen ihn zur Abwehr von Schlangen, in Böhmen verstreute man ihn auf den Feldern, um Vögel zu vertreiben, in der Slowakei trug man ihn zum Schutz als Kette um den Hals

und im Baltikum legte man gar den Neugeborenen Knoblauch in die Wiege [16,17,18].

2.2.2 Heilende Wirkung

Neben seinen Geschmackseigenschaften und den mystischen Vorstellungen werden dem Knoblauch auch viele heilende Wirkungen nachgesagt. Eingeordnet wird er als ein Phytopharmakum, damit sind mild wirkende pflanzliche Stoffe mit einem breiten therapeutischen Spektrum gemeint, deren Wirkungen aber nicht unmittelbar in Erscheinung treten. Seine Inhaltsstoffe wirken unterstützend und werden insbesondere zur Therapie von chronischen Krankheiten eingesetzt. Er besitzt aber auch eine aktive Wirkung. Er hat einen unmittelbaren, antibiotische Einfluss auf Bakterien, Schimmelpilze, Viren und Protozoen. Die Wirkung wird dem im Knoblauch enthaltenen Allicin zugeschrieben, von welchem 1 mg dieselbe Wirksamkeit wie 15 IU (international unit) Penicilin hat. Es ist auch möglich mit Allicin viele Viren wie den Erreger der Maul- und Klauenseuche zu bekämpfen. Weiter wird seine antibiotische Wirkungsweise als Insektizid, in der Diätetik oder als Prophylaktikum bei Darmkrankheiten ausgenutzt. Eine der wichtigsten Effekte ist die Wirkung auf Herz und Blutkreislauf. Ajoene, die aus Allicin entstehen, setzen die Cholesterinbildung herab und verhindern eine Thrombozytenaggregation, welche andernfalls zur Thrombose führen kann. Aufgrund seiner Fähigkeit, die Gefäße zu erweitern, senkt Knoblauch den Blutdruck, erhöht den Herztonus und den Rhythmus der Herzkontraktionen. Dies bewirkt einen verbesserten Blutfluss durch die Gefäße, senkt das Risiko für die Entstehung von Arteriosklerosen und das Auftreten eines Herzinfarktes. Ebenso hilft Knoblauch bei Respirationskrankheiten. Die schwefelhaltigen Stoffe wirken als so genannte Expektorantien, welche das Husten erleichtern[16,19].

Eine der größten Effekte des Knoblauchs liegt in der Krebsbekämpfung. Dies wird auch daran ersichtlich, dass 1986 in den USA die Weltkonferenz über Knoblauch zum Thema Krebsbekämpfung stattfand. Es wurden sowohl Tierversuche als auch Applikationen bei Menschen durchgeführt. Aus den Ergebnissen wird ersichtlich, dass Knoblauch die Krebswucherung hemmt. Er erhöht auch die Immunität gegenüber Kanzerogenen und kann somit die Entstehung von Krebs unterbinden. Der Mechanismus der Antikrebswirkung besteht darin, den Verlauf der mitotischen Zellteilung zu hemmen.

Allerdings bereitet es immer noch Schwierigkeiten die verschiedenen Effekte den einzelnen Inhaltsstoffen eindeutig zuzuordnen. Auch heute sind noch viele Inhaltsstoffen, Wirkungsmechanismen und Wirkstoffe unbekannt. Denn die meisten Inhaltsstoffe im Knoblauch entstehen erst durch enzymatische oder thermische Prozesse [16,18,19].

2.2.3 Inhaltsstoffe

Tabelle 2 zeigt die Hauptinhaltsstoffe von Knoblauch als Durchschnittswerte. Weiter enthält Knoblauch Mineralsalze sowie Vitamin A, B und C. Der Gehalt der einzelnen Inhaltsstoffe schwankt im Knoblauch stark in Abhängigkeit von der Sorte, vom Ursprung, vom Boden, von der Düngung und von der Behandlung. Besonders der Schwefelgehalt kann um mehrere Größenordnungen schwanken [16].

Tabelle 2: Inhaltsstoffe des Knoblauchs	
68,9%	Wasser
28,0%	Kohlenwasserstoffe
3,0%	Proteine bzw. Aminosäuren
2,0%	schwefelhaltige und schwefelfreie Wirkstoffe
1,5%	Rohfasern
0.5%	Mineralstoffe

Den schwefelhaltigen Stoffen im Knoblauch wird auch die Hauptwirkung zugeschrieben. Abbildung 1 zeigt den Ausgangsstoff aller Schwefelverbindungen, das Alliin, welches selbst geruchlos und unwirksam ist.

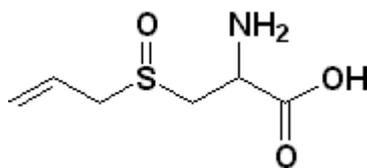


Abbildung 1: Strukturformel Alliin [20]

Alliin (+)-S-Allyl-L-Zysteinsulfoxid hat als Ausgangsstoff 2 Homologe. Die Fraktion Zysteinsulfoxid besteht zu 85 Prozent aus Alliin, zu 13 Prozent aus S-Methyl-L-Zysteinsulfoxid und zu 2 Prozent aus S-Propyl-L-Zysteinsulfoxid. Jede dieser Fraktionen kann durch das Enzym Allinase gespalten werden. Dieses Enzym

ist in fast allen Arten *Allium* enthalten und ist auch Voraussetzung für die Entstehung von Allicin (2-Propen-1-thiosulfinsäure-(S)-allylester). In unbehandelten Knoblauchzehen ist das Substrat von dem Enzym räumlich getrennt, sie werden in unterschiedlichen Kompartimenten gelagert. Beschädigt man aber die Zellstruktur der Knoblauchzehe durch Anschneiden, kann das Enzym Allinase mit dem Alliin reagieren. Als Zwischenprodukt entsteht Allylsulfensäure, von welcher 2 Moleküle unter Kondensation spontan zu Allicin reagieren (vgl. Abbildung 2) [16,19,20].

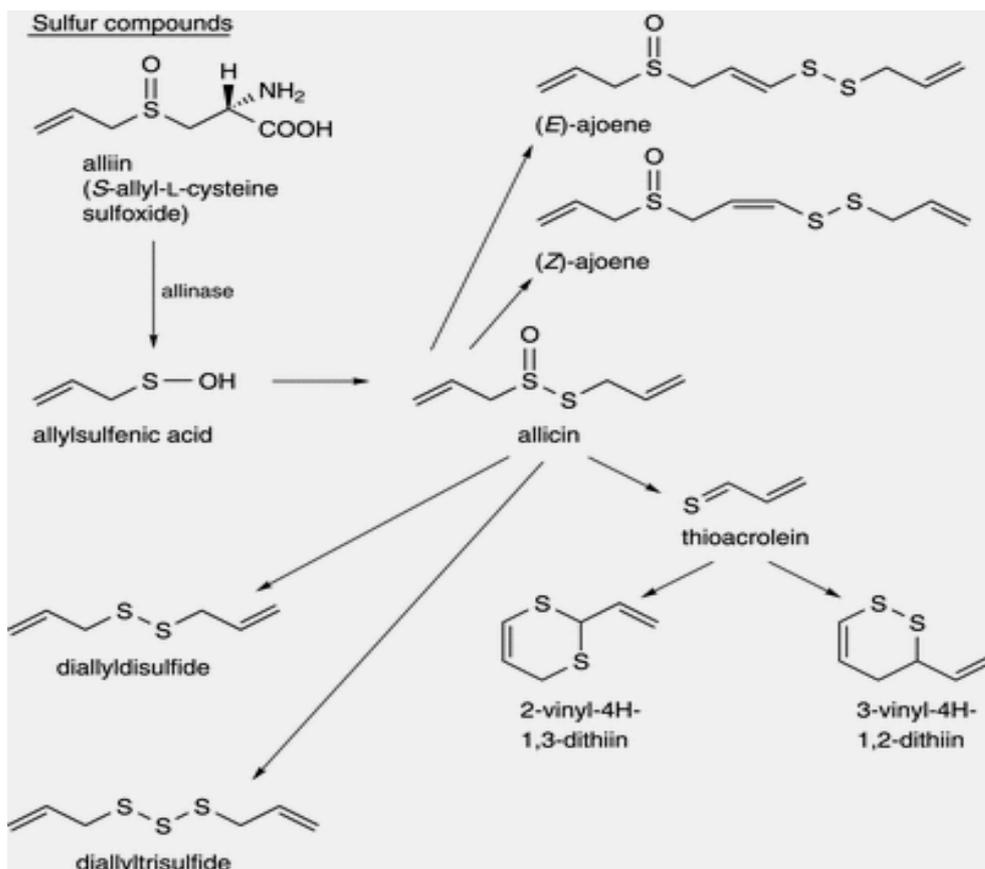


Abbildung 2: Entstehung von Allicin und seinen Reaktionsprodukte [21]

Diese Reaktion findet auch dann statt, wenn Knoblauchpulver mit Wasser angefeuchtet wird. Wird Knoblauch verzehrt, hemmt die Magensäure die Aktivität der Allinase irreversibel, und es kommt je nach pH-Wert des Mageninhaltes zu einer geringeren Bildung von Allicin.

Allicin ist eine sehr instabile, ölartige Flüssigkeit, die sich daher schwer in Wasser löst. Es ist verantwortlich für die antibiotische Wirksamkeit des Knoblauchs. Diese hängt zudem von der Sauerstoffanwesenheit ab und durch eine Reduktion wird es bedeutend inaktiviert. Auch starkes Erwärmen unter alkalischen Bedingungen zerlegt Allicin schnell. Aufgrund seiner hohen Reaktivität ist das Allicin Ausgangsprodukt

für fast alle im Knoblauch auftretenden schwefelhaltigen Verbindungen, wie Abbildung 2 zeigt. So entsteht über die Zwischenprodukte Thioacroleins und das Sulfonium-Ion aus Allicin unter anderem Ajoen ((E,Z)-4,5,8-Trithioundeca-1,6,10-trien-8-oxid). Es hat sowohl eine -cis als auch eine -trans Form und wird bevorzugt beim Erhitzen von Knoblauch und unter Anwesenheit von organischen Lösungsmitteln gebildet [19,23,24].

Mit zu den Hauptwirkstoffen des Knoblauchs zählen die in Abbildung 3 dargestellten Sulfide. Sie verursachen den eigentlichen Knoblauchgeruch. Zu den wichtigsten Sulfiden zählen Diallyldisulfid (DADS) und Diallyltrisulfid (DATS), zusätzlich spielen Diallylsulfid (DAS) sowie Methylallyldisulfid (MADS) und Methylallyltrisulfid (MATs) eine wichtige Rolle. Tabelle 3 listet die Sulfide nach ihrem Anteil im Knoblauch auf und Abbildung 3 zeigt ihre Strukturformeln, angeordnet nach ihrer Löslichkeit.

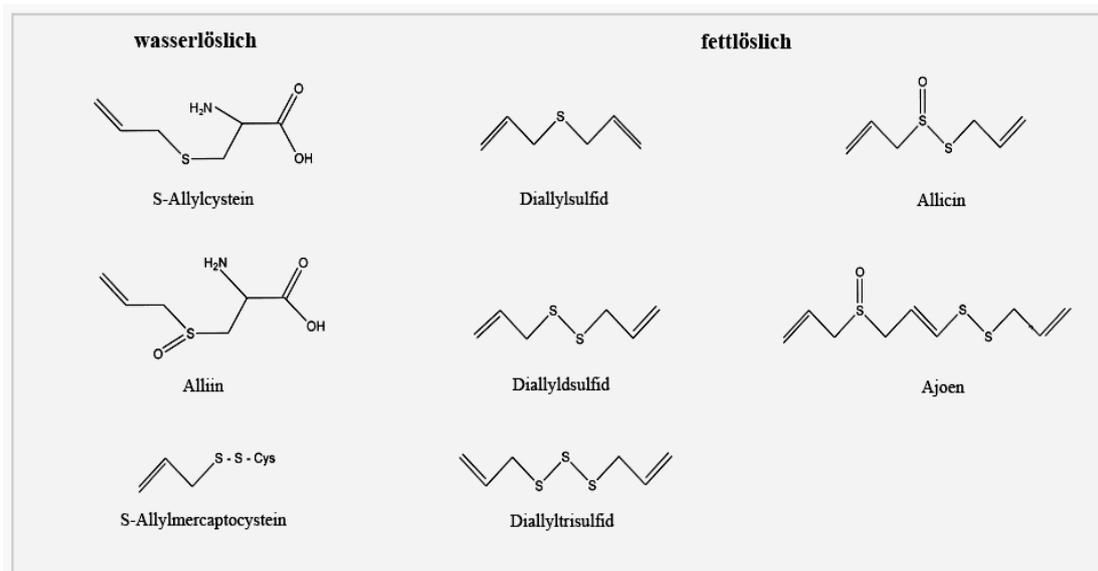


Abbildung 3: Sulfide im Knoblauch, angeordnet nach ihrer Löslichkeit [26]

Tabelle 3: Sulfide im Knoblauch

Sulfide	µg/g Knoblauch
Diallylsulfid	30–99
Methylallyldisulfid	83–104
Methylallyltrisulfid	251–271
Diallyldisulfid	530–613
Diallyltrisulfid	903–1 025

Die Wirkung der Sulfide konnte dadurch nachgewiesen werden, dass bei einer selektiven Entfernung die spezifischen Knoblaucheffekte ausblieben. Als weitere schwefelhaltige Stoffe im Knoblauch sind Schwefeldioxid, Oligosulfid und Thiosulfinat zu nennen.

Wie schon in Tabelle 2 angeführt wurde, enthält Knoblauch auch andere als schwefelhaltige Stoffe. Davon sind auch einige therapeutisch wirksam, wie das Adenosin, Garlicin oder die Flavonoide. Auch Lipide, Steroide und Aminosäuren spielen eine wichtige Rolle. Für das Gesamtbild des Knoblauchs spielen sie eine wichtige Rolle, in der vorliegenden Arbeit hingegen liegt das Augenmerk ausschließlich auf den schwefelhaltigen Substanzen [16,22,25,26].

2.3 Aktueller Stand zu Arsen-Knoblauch

Im Folgenden soll der aktuelle Wissensstand zu der Knoblauch-Arsen-Beziehung dargelegt werden. Mit der Motivation „to evaluate the therapeutic efficacy of aqueous garlic (*Allium sativum* L.) extract (AGE) in terms of normalization of altered biochemical parameters particularly indicative of oxidative stress following sodium arsenite (NaAsO_2) exposure and depletion of inorganic arsenic burden, in vitro and in vivo [3].“ führte eine indische Forschergruppe um die Wissenschaftlerin Keya Chaudhuri vom Indischen Institute of Chemical Biology in Kolkata Versuche zu dieser Beziehung durch. Sie untersuchten zum einen, inwiefern eine durch Arsenit induzierte Toxizität durch Verabreichen von Knoblauchextrakten reduziert werden kann. Dazu verabreichten sie Ratten arsenhaltiges Trinkwasser. Und zum anderen wurde auch auf die Kapazität der schwefelhaltigen Komponenten mit Arsen Chelate zu bilden eingegangen. Für die Versuche wurde jedes Mal wässriger Knoblauchextrakt, bezeichnet als AGE (aqueous garlic extract), hergestellt. Dazu wurden 1g des frischen Knoblauchs (*allium sativum* L.) in 5g destilliertem Wasser gelöst, gemörsert, 20 min gerührt, anschließend durch Gaze und eine 0,22 mikromolare Membran gefiltert. Der Arsengehalt und die Speziesverteilung wurden mit Hilfe einer Fluss-Injektion-Hydridgenerierung-Atomabsorptionsspektrometrie (FI-HG-AAS) durchgeführt.

Als Ergebnis lässt sich folgendes herausstellen. AGE (2 mg/mL) zusammen mit 10 μM Arsenit in vitro verabreicht, lässt die durch Arsenit induzierte Zytotoxizität, welche direkte Zellschädigungen verursacht, senken. Weiter wurde eine Reduktion

der reaktiven Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) festgestellt. Bei den ROS handelt es sich um sehr reaktive Formen des Sauerstoffes wie das Hydroxyl-Radikal oder das Hyperoxid-Anion. Sie spielen bei vielen Erkrankungen eine wichtige Rolle und bewirken oxidativen Stress, welcher auf den Alterungsprozess Einfluss nimmt und auch die DNA schädigen kann. Die Reduktion dieser Spezies wurde unter anderem bei menschlichen Melanomzellen getestet. Die in vivo Versuche wurden mit Sprague–Dawley–Ratten durchgeführt. Die indizierte Arsenkonzentration entsprach jenen Werten, die im Trinkwasser belasteter Gebiete vorkommt. Es wurde eine geringere Bildung an Lipidperoxidantien, welche einen oxidativen Abbau von Fett bewirken, festgestellt. Dies war jedoch nur der Fall, wenn den vergifteten Ratten zusätzlich das AGE, welches das Level an Schwefelhydroxid Gruppen erhöht, verabreicht wurde. Auch bei den antioxidativen Enzymen, Superoxiddismutasen und Katalasen, die den oxidativen Stress verhindern können, konnte eine Normalisierung nach der Verabreichung festgestellt werden. Zusätzlich wirkte das AGE den veränderten Blut- und Blutzuckerwerten entgegen. Ratten, denen Knoblauch verabreicht wurde, hatten bis zu 40 Prozent weniger Arsen in Blut und Leber als jene, die keinen Knoblauch erhielten. Gleichzeitig hatten mit AGE behandelte Ratten bis zu 45 Prozent mehr Arsen in ihrem Urin als unbehandelte Tiere.

Bevor die Proben auf ihren Arsengehalt mittels FI-HG-AAS bestimmt werden konnten, wurde ein Teil der Proben für die Bestimmung von Gesamtarsen mit Salzsäure verdünnt, damit sich die fünfwertige Arsen-Fraktion vollständig in die dreiwertige umwandelt. Der andere Teil wurde unbehandelt gemessen – nur Arsenit reagiert somit. Aus der Differenz beider Messungen ließ sich der Gehalt der fünfwertigen Arsen-Fraktion berechnen. Um festzustellen, ob das Allicin im AGE in der Lage ist, Arsenit zu Arsenat zu oxidieren, wurden die folgenden Versuche durchgeführt. AGE (2 mg/mL) und Arsenit (0,05 M) wurden gemischt und über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dies führte zur Bildung eines gelblich-weißen Niederschlages. Kein Niederschlag bildete sich dagegen bei Arsenit ohne AGE. In dem entstandenen Niederschlag wurde ein deutlich höherer Arsenitanteil im Vergleich zum Überstand festgestellt. Außerdem zeigte sich in beiden Kompartimenten ein relativ hoher Arsenatanteil. Daher wurde vermutet, dass das AGE eine Chelatierung des Arsenits fördert und zu seiner fünfwertigen Form oxidiert wird. Als Niederschlag bildeten sich Arsensulfide (As_2S_3 und As_2S_5). Es

wurde angenommen, dass die nach dem Zerkleinern von Knoblauch gebildeten organischen Schwefelverbindungen auch an der chemischen Reaktion mit Arsenit beteiligt sind. Diese schwefelhaltigen Komponenten könnten aufgrund ihrer Elektroaffinität und der hohen Elektronegativität als Lewis-Säuren mit positiv geladenen Ionen Komplexe bilden. Arsenit und Arsenat dagegen sind sehr elektropositiv und würden als aktive Lewisbase wirken. Durch die hohe Affinität für negative Ionen und könnten sich stabile Komplexe bilden. Weiter würden die als Oxidantien wirkenden organischen Schwefelverbindungen möglicherweise reduziert, das dreiwertige Arsenit würde dagegen zu seiner weniger toxischen fünfwertigen Form oxidiert werden. Danach soll gebildetes Arsenat und verbleibendes Arsenit als Arsensulfid ausfallen. Gestärkt wird diese Vermutung dadurch, dass im Niederschlag ein hoher Anteil an Arsenit und Arsenat gemessen wurde. Auch eine Messung der Allicin Reaktivität bestätigte die Bildung eines Komplexes zwischen den Schwefel-Komponenten von AGE und Arsenit. Daher ist die Bildung der stabilen und löslichen Salze (As_2S_3 und As_2S_5) sehr wahrscheinlich. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden die AGE Komponenten Allicin, SAC, DADS und DAS als Heilmittel bei chronischen Arsenvergiftungen empfohlen, da sie das Arsen aus Blut und Gewebe reinigen. Insgesamt beweisen die Ergebnisse, dass AGE eine mögliche Schutzmaßnahme für Arsen-induzierte Toxizität werden kann. An die Menschen in den arsenbelasteten Risikogebieten wurde der Appell gerichtet, rund drei Zehen Knoblauch täglich als Prävention zu essen [1,3].

3 Methodik

3.1 Verwendete Chemikalien

Alle Chemikalien, die im Rahmen der Untersuchungen verwendet wurden, sind in Tabelle 4 aufgeführt, gelistet mit der jeweiligen Bezugsquelle, Molmasse und Reinheitsgrad.

Tabelle 4: Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Summenformel	Molmasse	Reinheit	Hersteller
Allylsulfid	$C_6H_{10}S$	114,21	97%	SAFC
Alliin	$C_6H_{11}NO_3S$	177,22	90%	Sigma-Aldrich
Allyldisulfid	$C_6H_{10}S_2$	146,28	80%	Sigma-Aldrich
Ammoniumsulfat	$(NH_4)_2SO_4$	132,14	100%	Fluka
Arsenat	$AsHNa_2O_4 \cdot 7H_2O$	312,02	98,50%	Fluka
Arsenit	$AsNaO_2$	129,91	100%	Fluka
Dimethyl Disulfid	Me_2S_2	94,19	99%	Acros Organics
Dimethyl Trisulfid	Me_2S_3	126,27	98%	Acros Organics
Dinatriumhydrogenphosphat	Na_2HPO_4	142,13	99%	Grüssing
Elementarer Schwefel	S	32,06	99,98%	Sigma-Aldrich
Hyposulfit	$Na_2S_2O_4$	174,11	95%	Fluka
Methanol	CH_4O	32,04	100%	Sigma-Aldrich
Natriumdihydrogenphosphat	NaH_2PO_4	156,02	99%	Grüssing
Natriumhydroxid	NaOH	40	99%	Merck
Pyrosulfit	$Na_2S_2O_5$	190,1	99%	Fluka
Schwefelblüte	S	unbekannt	unbekannt	unbekannt
Sulfid	Na_2S	240,18	99,99%	SAFC
Sulfit	Na_2SO_3	126,04	97%	Fluka
Thiosulfat	$Na_2S_2O_3$	158,11	100%	Sigma-Aldrich

Bei allen Chemikalien handelt es sich um hochreine Produkte. Keine Angaben kann über die Schwefelblüte gemacht werden, da es sich um eine unbeschriftete Chemikalie aus einer älteren Sammlung handelte. Aus diesem Grund wurden für die Berechnungen eine Molmasse von 32,06 g/mol und eine Reinheit von 100% angenommen.

3.2 Experimente

3.2.1 Experimente in Abwesenheit von Luftsauerstoff

3.2.1.1 Glovebox Setup

Ein Teil der Versuche wurde in einer Glovebox (Stickstoffzelt, flexible Vinylkammer) der Firma COY durchgeführt. Eine Glovebox ist ein abgeschlossener Raum, der gegenüber der Umgebung luftdicht abgetrennt ist. Geräte und Chemikalien können über eine Schleuse seitlich der Box ein- und ausgebracht werden. Gummihandschuhe, die in die Box hineinführen, ermöglichen ein isoliertes Arbeiten. Innerhalb der Glovebox befinden sich zu 95% Stickstoff und zu 5% Wasserstoff. Falls während des Einbringens von Gegenständen durch die Schleuse geringe Mengen an Sauerstoff mit in die Box gelangen, kann dieser zu Wasser reagieren. Weiter ist die Box mit einem Molekularsieb ausgestattet, durch welches beim Umwälzen der Luft die Restfeuchtigkeit entfernt wird. Man arbeitet in der Glovebox, um die Chemikalien vor Einflüssen der Umgebung abzuschirmen, da Edukte, Zwischenprodukte und Produkte empfindlich auf Luft und/oder Feuchtigkeit reagieren können [27]. Im vorliegenden Fall war vor allem der Schutz der Produkte vor Oxidation durch Luftsauerstoff ausschlaggebend.

3.2.1.2 Synthetische Lösungen

Im ersten Teil der Untersuchungen waren synthetische Lösungen herzustellen und auf ihre Reaktionsfähigkeit mit Arsenit zu untersuchen. Es handelt sich dabei um biologisch aktive, lipophile, schwefelhaltige Verbindungen, die sich aus dem Alliin in Lauchgewächsen bilden, wenn man die Zellstruktur zerstört. Alle in Tabelle 4 aufgeführten Chemikalien waren im kommerziellen Handel erhältlich und mussten nicht extra synthetisiert werden. Die Mischungen der Substanzen in Tabelle 5 wurden aufgrund ihrer hohen Sensitivität gegenüber Luftsauerstoff in der Glovebox hergestellt. Bevor jedoch die schwefelhaltigen Substanzen mit dem Arsenit vermischt werden konnten, musste sowohl vom Arsenit als auch von den Substanzen eine Stammlösung hergestellt werden (siehe Anhang 1). Mit Ausnahme der 2000 μM Dimethyldisulfid Lösung und der 2000 μM Dimethyltrisulfid Lösung wurden 1000 μmolare Stammlösungen hergestellt. Außerdem ist festzuhalten, dass die methylierten Substanzen Allylsulfid, Allyldisulfid, Dimethyldisulfid und

Dimethyltrisulfid aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit in 80-prozentiger Methanollösung gelöst wurden. Elementarer Schwefel löste sich sowohl in Wasser als auch in der Methanollösung nur zu einem geringen Teil und wurde daher nicht für weitere Experimente herangezogen. Wie Tabelle 5 zeigt, wurden alle Schwefel-Spezies sowohl im 1:1 (10 μM As(III) mit 10 μM S-Spezies) als auch im 1:10 (10 μM As(III) mit 100 μM S-Spezies) Verhältnis mit 5 mL P-Puffer vermischt und in einem entsprechenden Vial auf 10 mL aufgefüllt (vgl. Anhang 4).

Tabelle 5: Mischung der synth. Lösungen in Abwesenheit von Luftsauerstoff

Lösungen	As(III)[μM]	1:1 Verhältnis	1:10 Verhältnis
		S-Spezies[μM]	S-Spezies[μM]
As(III)-Sulfid	10	10	100
As(III)-Allylsulfid	10	10	100
As(III)-Allyldisulfid	10	10	100
As(III)-Dimethyldisulfid	10	10	100
As(III)-Dimethyltrisulfid	10	10	100

Aus den 1000 millimolaren Stammlösungen von Natriumdihydrogenphosphat und Dinatriumhydrogenphosphat (vgl. Anhang 2) war eine 20 mM P-Pufferlösung herzustellen. Die Pufferkonzentration wurde so gewählt, dass sich ein neutraler pH-Wert einstellte. Im Gegensatz zu den schwefelhaltigen Substanzen konnte die Pufferlösung unter Luftatmosphäre gemischt werden. Analysiert wurden diese Mischungen mehrmals, einmal am Tag der Herstellung und ein zweites Mal nach 5 Tagen, um eine mögliche zeitliche Veränderung feststellen zu können. Um eine Änderung durch Luftsauerstoff festzustellen, wurden außerdem die 1:10 Präparate nach 5 Tagen mit an die Luft genommen und anschließend analysiert. Bevor die Proben für die IC-ICP-MS abgefüllt werden konnten, wurden noch der pH-Wert und das Redoxpotential gemessen.

3.2.1.3 Natürliche Präparate

Im Vorfeld der Aufbereitung der natürlichen Präparate wurde eine As(III)-P-Puffer-Lösung (im weiteren Text als Arsenitlösung bezeichnet) hergestellt. Dazu wurde 1 mL der 1000 μM As(III)-Stammlösung mit 50 mL der 20 mM P-Puffer-Lösung vermischt und auf 100 mL verdünnt, um schließlich 10 μM As(III) in einer 10 mM P-Pufferlösung zu erhalten. Dadurch ersparte man sich umständliches Pipettieren nach der Probenaufbereitung.

Unter reduzierenden Bedingungen wurden nur frische Produkte getestet. Es wurde je eine Probe von frischem Lauch, Knoblauch, Lauchzwiebel und Zwiebel hergestellt. Die natürlichen Substanzen wurden gepellt, klein geschnitten und im Mörser ca. 5 min zerrieben, bis ein Extrakt von fest-flüssiger Konsistenz entstand. Daraufhin konnten die Substanzen mit 5 mL der Arsenitlösung vermischt und in ein 15 mL Vial gefüllt werden. Es wurde je ein 1g der Substanz aufbereitet und mit Arsenit ein 1:1 Mischungsverhältnis erstellt. Anschließend wurden 0,5 mL für die Analyse in die entsprechenden IC-Vials abgefüllt. Für weitere Analysen blieben die Lösungen in der Glovebox stehen, damit Proben mit interessanten Resultaten nach längeren Standzeiten nochmals analysiert werden konnten. Der gesamte Ablauf von der Probenaufbereitung bis zum Abfüllen für die Analyse hatte in der Glovebox stattzufinden, um gegenüber dem Luftsauerstoff sensible Substanzen zu schützen. Auch bei den natürlichen Präparaten wurde von den Substanzen pH-Wert und Redoxpotential gemessen.

3.2.2 Experimente in Anwesenheit von Luftsauerstoff

3.2.2.1 Synthetische Lösungen

Weitere synthetische Lösungen wurden analog zu Punkt 3.2.1.2 hergestellt. Jedoch konnte dabei unter normalen Laborbedingungen in Gegenwart von Luftsauerstoff, gearbeitet werden. Die hergestellten Stammlösungen waren alle 1000 μmolar (Anhang 1). Wie in Tabelle 6 dargestellt, wurden nach dem obigen Prinzip je eine 1:1 und eine 1:10 Mischung hergestellt. Ähnlich wie elementarer Schwefel zeigte auch die Schwefelblüte keinerlei Löslichkeit und wurde daher nicht weiter behandelt. Vor der Abfüllung für die Analyse waren wiederum pH- Wert und Redoxpotential zu messen.

Tabelle 6: Mischung der synth. Lösungen in Gegenwart von Luftsauerstoff

Mischung	As(III) ¹ [μ M]	1:1 Verhältnis	1:10 Verhältnis
		S-Spezies ² [μ M]	S-Spezies ² [μ M]
As(III)-Hyposulfit	10	10	100
As(III)-Pyrosulfit	10	10	100
As(III)-Sulfite	10	10	100
As(III)-Thiosulfat	10	10	100

¹ von der 1000 μ M Arsenit-Stammlösung² von den 1000 oder 2000 μ M S-Stammlösungen

3.2.2.2 Natürliche Präparate

In einem ersten Versuchsdurchlauf wurden die in Tabelle 7 dargestellten Substanzen getestet. Bei den Säften handelte es sich um 100-prozentige Direktsäfte ohne Zusatzstoffe, die frischen Produkte entsprachen den haushaltsüblichen Waren.

Tabelle 7: Hersteller und Konsistenz der natürlichen Substanzen

Substanz	Konsistenz	Hersteller
reiner Knoblauchsaft	flüssig	Schoeneberger
reiner Bärlauchsaft	flüssig	Schoeneberger
Knoblauchpulver	fest	Brecht
frischer Knoblauch	fest	Gomi Top
frischer Lauch	fest	unbekannt
frische Gemüsezwiebel	fest	Erlenhof

Die Säfte und das Pulver mussten für die Vermischung nicht weiter aufbereitet werden. Es sollten je einmal 1 g und 10 g der Substanzen mit der Arsenitlösung vermischt werden, um wiederum ein 1:1 und 1:10 Verhältnis zu erhalten, damit eine Vergleichbarkeit bezüglich der Mischungsverhältnisse zu den synthetischen Präparaten besteht. Das 1:10 Verhältnis herzustellen war jedoch nicht bei allen Substanzen ohne weiteres möglich. Zum einen war das Knoblauchpulver nur sehr schwer in den 5 mL der Arsenitlösung löslich und es konnte daher nur das 1:1 Verhältnis aufbereitet werden. Auch der Extrakt der frischen Substanzen hatte ein zu großes Volumen bezüglich der 5mL Arsenitlösung, so dass nur 1 g und teils 5 g der Extrakte mit der Lösung aufbereitet wurden. Von den natürlichen Präparaten wurden in einem ersten Durchgang je drei Sets erstellt, ein Set wurde unbehandelt stehen gelassen, so dass die Lösung 5 Tage mit den natürlichen Substanzen reagieren

konnte, erst dann fand die Analyse statt. Ein zweites Set wurde mit einem Schüttelgerät (Edmund Büttler KS 10) für 20 min geschüttelt und das dritte Set wurde mit einem Heizer (Yellowline MST basic) bei gleichzeitigem Rühren 20 min bei 50°C erwärmt. Anschließend wurden die gemischten Präparate mit Kimberly-Clark-Professional-Tüchern grob-gefiltert und nochmals mit einem 0,2 µm Membranfilter fein-gefiltert, bevor 0,5 mL in die IC-Vials abgefüllt werden konnten. Analog zu den synthetischen Präparaten wurde auch hier von den Proben pH-Wert und Redoxpotential gemessen. Welche Substanzen und nach welchen Methoden weiter beprobt werden sollten, richteten sich immer nach den Ergebnissen des vorherigen Versuchsdurchganges. Im Anhang 11 bis 20 sind alle Probenaufgaben mit den Ergebnissen dargestellt. Extrakte mit positiven Ergebnissen wurden nach längeren Standzeiten nochmals untersucht oder entsprechend neu hergestellt. Dagegen wurden von weniger ergiebigen Sets keine weiteren Versuche mehr durchgeführt. Ferner wurden in weiteren Sets die Extrakte 1,5 und 3 Stunden erwärmt. Zusätzlich zu den in Tabelle 7 aufgeführten Substanzen wurde noch frische Lauchzwiebel beprobt. Ein Set wurde durchgeführt, bei dem die frischen Substanzen bereits in der Arsenitösung zerkleinert wurden, um eine spontane Reaktion zwischen Arsenit und den frisch gebildeten reaktiven S-Verbindungen beobachten zu können. Weiter wurden bei einem Set die Präparate durch Zugabe einer 0,005 molaren Natronlauge auf einen höheren pH-Wert eingestellt. Und auch der Einfluss von 100 µmolaren Alliin auf das Arsenit wurde untersucht.

3.3 Analytik

3.3.1 Instrumentelles Setup der IC-ICP-MS

Die qualitative und quantitative Analyse der verschiedenen Arsenspezies erfolgte mit einer Kopplung aus Ionenchromatographie und induktiv gekoppelter Plasma Massenspektroskopie (ICP-MS). Eine ausführliche Beschreibung der Methodik findet man in Planer-Friedrich et al. (2007) [34].

Die Ionenchromatographie ist eine Methode zur Analyse von ionischen Spezies. Hierzu nutzt man die Eigenschaft der Ionen, dass sie an polaren Adsorbenten verschieden stark gebunden werden. Die Verwendung der ICP-MS bietet eine selektive und zugleich empfindliche Detektion von verschiedenen Isotopen verschiedener Elemente gleichzeitig. Auch lassen sich sehr niedrige Nachweisgrenzen für Arsen z.B. im ng/L Bereich erzielen. Die ICP-MS beruht auf der Ionisierung des zu analysierenden Materials in einem Plasma bei etwa 5000 °C. Für die Erzeugung des Plasmas wird ein hochfrequenter Strom in ionisiertes Argon induziert. Aus dem Plasma werden die Ionen durch zwei Blenden in das Vakuum-System des Massenspektrometers eingeleitet. Das Massenspektrometer trennt anschließend die Ionen nach ihrer unterschiedlichen Masse. In Abbildung 4 ist der technische Aufbau einer IC-ICP-MS-Kopplung schematisch dargestellt. Dieser Aufbau entspricht auch der verwendeten Variante, nur wurde das destillierte Wasser ohne die Hilfe einer Pumpe zugeleitet.

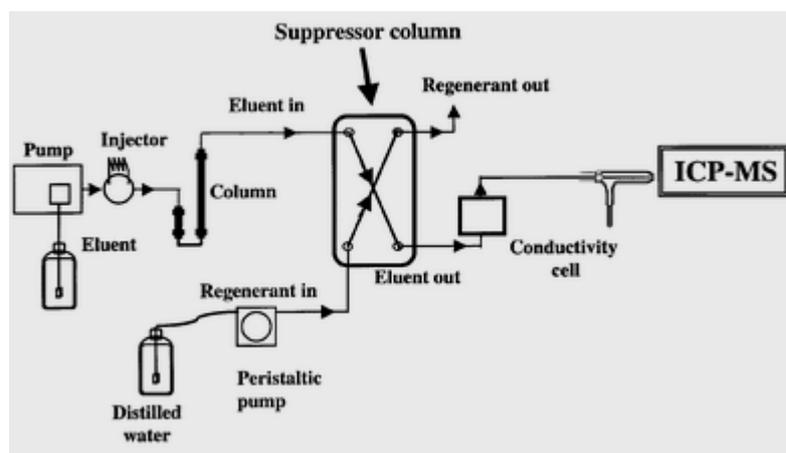


Abbildung 4: Aufbau IC-ICP-MS [28]

Gibt man die Probe über ein Sixport-Ventil in die Probeschleife, kann sie mit Hilfe des Eluenten (20 - 100 mM NaOH im Gradienten gefahren) über eine Vorsäule (Dionex AG 16) auf die IC-Trennsäule (Dionex AS16) transportiert werden. Im Anschluss daran folgt ein Suppressor (Dionex ASRS 4mm), in dem das Na^+ im Eluentenstrom gegen H^+ - Ionen ausgetauscht wird. Dies dient überwiegend dem Schutz der nachfolgenden ICP-MS. Hohe Salzfrachten würden sich sonst auf den Cones ablagern und die ICP-Empfindlichkeit im Lauf der Analyse drastisch senken. Eine mögliche Störung von Molekülinterferenzen, wie durch das $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ -Molekülion auf $^{75}\text{As}^+$, kann durch die gezielte Reaktion mit Sauerstoff-Gas in der Reaktions-/Kollisionszelle umgangen werden. As^+ reagiert dabei zu AsO^+ und wird auf der Masse 91 störungsfrei gemessen. In gleicher Weise kann S mit dem Sauerstoff reagieren und störungsfrei von O_2 (m/z 32! = m/z von S^+) auf SO^+ (m/z 48) gemessen werden [5,29,30].

Für die qualitative Analyse der unterschiedlichen Spezies ist die Retentionszeit entscheidend, da jede Spezies eine spezielle Retentionszeit aufweist. Diese ist von der Zusammensetzung des Ionenaustauschers in der Trennsäule, der Suppressorsäule, der Flussrate und dem pH-Wert des Eluenten abhängig. Die Retentionszeiten von Arsenit und Arsenat können mit Hilfe kommerziell erhältlicher Standards bestimmt werden. Die Retentionszeiten der Thioarsenate wurden aus einer vorherigen Studie, wo sie extra synthetisiert wurden, verglichen und somit bestimmt.

Bei der quantitativen Analyse wird als Messgröße die Peakfläche über der Basislinie des Chromatogrammes ausgewertet. Im Idealfall sollte diese geradlinig und parallel zur Zeitachse verlaufen. In der Praxis ist dies oft nicht gegeben und es treten Störungen in Form von Kurzzeitrauschen, Langzeitrauschen und Drift auf. Mit dieser optimierten Arsenspeziesanalytik lassen sich sowohl Arsenit und Arsenat als auch die 4 Thioarsenatspezies in einem Analysengang nachweisen [31,32,33,35].

3.3.2 Durchführung und Lagerung

Für die Analyse per IC-ICP-MS wurden je 0,5 mL der synthetischen Lösungen und der natürlichen Präparate in ein entsprechendes IC Vial abgefüllt. Alle in Abwesenheit von Luftsauerstoff hergestellten Proben wurden auch in der Glovebox gelagert. Die an der Luft hergestellten Proben hingegen wurden in den 15 mL Vials verschlossen, wobei jedoch nach dem Schließen noch ein Luftpolster zwischen Probe und Deckel vorhanden war, durch das die Reaktionen beeinflusst werden konnte. Es

war darauf zu achten, dass vor der Analyse längere Standzeiten vermieden wurden, damit keine wesentlichen Veränderungen der Arsenspezies auftraten. Somit wurden die Proben direkt im Anschluss an die Probenaufbereitung in die IC-Vials abgefüllt und auch innerhalb der nächsten Stunden analysiert.

3.3.3 Kalibrierung

Durch eine Kalibrierung werden die Peakflächen, die bezüglich der Basislinie korrigiert werden, in ein lineares Verhältnis zur Konzentration des Analyten gesetzt. Mit Hilfe der ermittelten Koeffizienten können die Konzentrationen der Proben berechnet werden. Zu Beginn der Messung wurde mit einer Arsenit-, Arsenat- und Ammoniumsulfatösung eine Dreipunkt-Kalibrierung durchgeführt. Die Lösungen wurden aus den jeweiligen Stammlösungen hergestellt (siehe Anhang 3) und enthielten die in Tabelle 8 dargestellten Konzentrationen. Bei längeren Messreihen wurden in regelmäßigen Abständen Blindproben und eine Kalibrierlösung mit untersucht, damit mögliche Veränderungen der IC-ICP-MS Bedingungen erfasst werden [5,33].

Tabelle 8: Konzentrationen der Kalibrierlösungen

	Arsenit[μM]	Arsenat[μM]	Ammoniumsulfat[μM]
Kalibrierlösung 1	1	1	5
Kalibrierlösung 2	5	5	10
Kalibrierlösung 3	10	10	50

4 Ergebnisse und Diskussion

Im Laufe des Ergebnis- und Diskussionsanteiles soll eine mögliche Bildung von Thioarsenaten bzw. die Oxidation von Arsenit gezeigt werden. Diese Reaktion soll durch das Einwirken verschiedener schwefelhaltiger Substanzen, die in Knoblauch enthalten sind oder aus ihm entstehen, eingeleitet werden. Dies wurde zum einen mit synthetischen Lösungen, zum anderen mit verschiedenen Extrakten von Lauchgewächsen getestet und dabei der Einfluss unterschiedlicher Bedingungen und Behandlungen untersucht.

4.1 Gesamtarsengehalt

Die Summe der Konzentrationen der analysierten Arsen Spezies wich sowohl bei den synthetischen als auch den natürlichen Proben in den meisten Fällen von den eingesetzten 10 μM Gesamtarsen ab. Die verschiedenen Gründe hierfür sind im Folgenden diskutiert.

Bei den Allyl- und Methylsulfid-Lösungen lag der gemessene Gehalt aus der Summe aller Spezies deutlich über der zugegebenen Gesamt-Konzentration von 10 μM . Tabelle 9 stellt diese Abweichungen dar. So weist z.B. Allylsulfid eine Differenz von 6 μM auf, was über der Hälfte der ursprünglichen Arsenitkonzentration entspricht.

Tabelle 9: Abweichende Gesamtarsengehalte synthetischer Lösungen

Synthetische Präparate	zugegebenes As(III) in μM	gemessenes As-Gesamt in μM	Differenz in μM
Allylsulfid 100 μM	10	16	6
Allyldisulfid 100 μM	10	15	5
Dimethyldisulfid 100 μM	10	11	1
Dimethyltrisulfid 100 μM	10	12	2

Da alle Lösungen, bei denen diese hohen Abweichungen beobachtet wurden, aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit in Methanol hergestellt worden waren, ist ein analytisches Artefakt zu vermuten. Schon geringe Mengen Methanol (wenige %) können die Signalintensität der ICP-MS deutlich erhöhen, teils bis zu einer Größenordnung und mehr. Da die Kalibrierung in Wasser hergestellt wurde und nicht in Methanol, kann es somit zu einer Überschätzung der eigentlich vorhandenen Arsen-Konzentration kommen. Somit hätte für diese Proben eine matrix-angepasste Kalibrierung durchgeführt werden müssen. Da die Speziesverteilung sich während

der Lagerung auch in der Glovebox ändert, konnten die Proben nicht einfach nochmals gemessen werden. Zum komplett neuen Ansatz aller Experimente verblieb letztlich nicht genug Zeit.

Aber auch bei vielen natürlichen Präparaten kam es zu Abweichungen von der zugegebenen Gesamt-Konzentration an Arsen. In den in Tabelle 10 dargestellten Proben liegt die Gesamtkonzentration bei manchen Präparaten bis zu 9 μM über den eigentlichen 10 μM (vgl. Tabelle 10). Diese Erhöhung ist durch einen Verdünnungsfehler bei der Herstellung der Arsen-Puffer-Lösung zu erklären, bei der anstatt der „10 μM Arsenit in einem 10mmolaren P-Puffer“ „20 μM Arsenit in einem 20mM P-Puffer“ hergestellt wurden.

Tabelle 10: Abweichende Gesamtarsengehalte natürlicher Präparate durch einen Verdünnungsfehler

Natürliche Präparate	zugegebenes As(III) in μM	gemessenes As-Gesamt in μM	Differenz in μM
1g Bärlauchsaff erwärmt	20	19	1,5
1g frischer Lauch geschüttelt	20	17	3,5
5g frischer Lauch geschüttelt	20	10	10,5
1g frischer Lauch erwärmt	20	16	4,5
1g frische Zwiebel geschüttelt	20	17	3,5
1g frische Zwiebel erwärmt	20	17	3,5
1g frischer Lauch unbehandelt	20	11,00	9,5

Folglich waren bei den Untersuchungen dieser Präparate erhöhte Arsenwerte festzustellen. Wie aber auch in Tabelle 10 zu erkennen ist, liegen die gemessenen Arsenwerte deutlich unter der zugegebenen Menge von 20 μM . Ein ähnliches Verhalten ist bei allen anderen natürlichen Präparaten auch beobachtbar. Tabelle 11 zeigt auszugsweise die Abweichungen von Knoblauchsaff, die absoluten Werte und Gesamtarsengehalte aller Substanzen sind im Anhang 11 – 19 aufgeführt. Eine mögliche Ursache der niedrigen Arsengehalte kann an auftretenden Matrixeffekten liegen. Eine entsprechende Kalibrierung könnte Abhilfe verschaffen. Bei Proben mit geringen Abweichungen um 1 – 2 μM ist der Matrixeffekt, wie z.B. bei „1g Knoblauchsaff geschüttelt“ und „1g Knoblauchsaff erwärmt“, als Erklärung möglich. Die meisten Präparate zeigen aber noch deutlichere Abweichungen. Hier ist dagegen eine Adsorption an die Festsubstanz als Erklärung viel wahrscheinlicher, durch die der Gesamtarsengehalt abnimmt. Es zeigt sich ein Trend, dass einerseits weniger

Arsen in Lösung beobachtet wurde bei Einsatz von mehr Festsubstanz (= Sorptionsmasse; 10 g im Vergleich zu 1 g), andererseits dass nach längeren Standzeiten das Gesamt-Arsen abnimmt und somit die adsorbierte Arsenmenge zunimmt. Die Adsorption wird zusätzlich dadurch begünstigt, dass die Lagerung der Proben in dem ungefilterten Extrakt stattfand und die Proben erst vor der Analyse gefiltert wurden. Dementsprechend weist „1g Knoblauchsaff unbehandelt“ nach einer Standzeit von 7 Tagen auch nur noch eine Arsenkonzentration von 0,41 μM auf.

Tabelle 11: Abweichende Gesamtarsengehalte der Knoblauchsaffpräparate

Natürliche Präparate	zugegebenes As(III) in μM	gemessenes As-Gesamt in μM	Differenz in μM
1g Knoblauchsaff geschüttelt	10	8,6	1,4
10g Knoblauchsaff geschüttelt	10	3,9	6,1
1g Knoblauchsaff erwärmt	10	8,4	1,6
10g Knoblauchsaff erwärmt	10	3,8	6,2
1g Knoblauchsaff unbehandelt	10	4,0	6,0
10g Knoblauchsaff unbehandelt	10	3,4	6,6

Aufgrund dieser analytischen Probleme und der möglichen Adsorption können keine Aussagen und Vergleiche bezüglich der absoluten Arsengehalte gemacht werden. Für die weitere Auswertung wird die Arsenspeziesverteilung daher in relativen Werten, die abhängig von der Gesamtarsenkonzentration der jeweiligen Präparate sind, dargestellt. Allerdings geschieht das unter der Annahme, dass bei einer Adsorption die einzelnen Arsen-Spezies gleichermaßen betroffen sind und keine Veränderung in der Arsenspeziesverteilung auftreten.

4.2 Arsenspezifizierung in Abwesenheit von Luftsauerstoff

4.2.1 Synthetische Lösungen

4.2.1.1 Messung unmittelbar nach dem Herstellen der Lösungen

Betrachtet man die Ergebnisse der synthetischen Lösungen, in denen Arsenit mit Sulfid, Allylsulfid, Allyldisulfid, Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid unter Abwesenheit von Luftsauerstoff gemischt wurde, lässt sich erkennen, dass in fast keiner der Lösungen Thioarsenate und auch nur sehr wenig Arsenat gebildet wurde (siehe Anhang 5-8). Das Arsenit liegt also noch im unveränderten Zustand vor, reagiert abiotisch anscheinend kaum. Jedoch gibt es eine interessante Ausnahme. Wie Tabelle 12 zeigt, entsteht bei der Reaktion von Sulfid mit Arsenit Mono-, Di- und Trithioarsenat. Der Anteil ist abhängig von dem Verhältnis As/S. Bei einem Verhältnis von As/S 1:1 entstanden insgesamt 0,9 % Thioarsenate, bei der As/S 1:10 Verdünnung dagegen mit 6 Prozent deutlich mehr. Auch ist ungefähr siebenmal soviel Arsenat bei der höheren Sulfidkonzentration entstanden. Dies lässt darauf schließen, dass durch eine hohe Sulfidkonzentration, quantitativ auch mehr Arsenit zu seinen fünfwertigen Formen oxidiert werden kann.

Tabelle 12: Ergebnisse der Arsenspeziesverteilung in den Sulfidlösungen der Messung unmittelbar nach der Probenherstellung

Sulfid-Lösung	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	SUM ¹
in %						
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	97	1,5	0,3	0,4	0,2	0,9
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	85	9,3	0,8	2,8	2,4	6,0

¹ Summe aus Mono-, Di- und Trithioarsenat

Folglich kann angenommen werden, dass Allylsulfid, Allyldisulfid, Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid in Bezug auf die abiotische Oxidation des Arsenits wenig reaktiv sind. Als mögliche Ursache kann ihre organische Struktur genannt werden, durch die angehängten Allylgruppen sind sie reaktionsträger als anorganische Sulfide. Sulfid dagegen zeigt eine stärkere Reaktivität und es kann angenommen werden, dass Sulfid neben anorganischen Polysulfiden, die sich vermutlich teils aus dem Sulfid bilden, hier aber aufgrund fehlender Standards nicht getestet werden

konnten, zu einem der Hauptwirkstoffe in Knoblauch gehören, die es vermögen Arsenit zu oxidieren.

4.2.1.2 Zeitliche Veränderung

Um eine zeitliche Veränderung der synthetischen Lösungen feststellen zu können, wurden die Proben ein zweites Mal gemessen und die Ergebnisse der Messung am Tag der Herstellung mit denen der Messung nach 5 Tagen verglichen (vgl. Tabelle 13 und Abbildung 5). Abgesehen von Sulfid zeigten Allylsulfid, Allyldisulfid, Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid keine wesentlichen Veränderung, keine der Spezies zeigte Veränderungen größer einem Prozent. Somit kann angenommen, dass diese S-Verbindungen keine Entwicklung über die Zeit zeigen und auch bei längeren Standzeiten nicht mit Arsenit reagieren.

Tabelle 13: Vergleich der Arsenspezies zwischen den unmittelbar nach der Herstellung abgefüllten und den 5 Tage lang aufbewahrten Proben. Herstellung und Lagerung fand unter reduzierenden Bedingungen statt. Negative Werte weisen auf eine Abnahme und die positiven Werte auf eine Zunahme der jeweiligen Spezies hin.

synthetische Lösung*	Δ As(III)	Δ As(V)	Thioarsenate		
			Δ Mono	Δ Di	Δ Tri
in %					
Sulfid 10 μ M	-4,8	2,3	0,78	0,83	0,97
Sulfid 100 μ M	-48	0,18	6,1	12	29
Allylsulfid 100 μ M	-0,69	0,07	0,03	0,33	0,25
Allyldisulfid 100 μ M	-0,16	0,20	-	-	-
Dimethyl Disulfid 100 μ M	-0,71	0,75	-	-	-
Dimethyl Trisulfid 100 μ M	-0,45	0,43	-	-	-

* + 10 μ M As(III)

Eine Ausnahme bildete wiederum das Sulfid. Wie in der Tabelle 13 und Abbildung 5 dargestellt, nahm bei dem As/S 1:10 Verhältnis die Arsenitmenge um 48 Prozent ab, während dagegen der Gehalt der Thioarsenate um 48 Prozent stieg, was ungefähr der Abnahme des Arsenits entspricht. Daraus kann geschlossen werden, dass nach den 5 Tagen zusätzlich 48 Prozent Arsenit in Thioarsenate umgewandelt wurden.

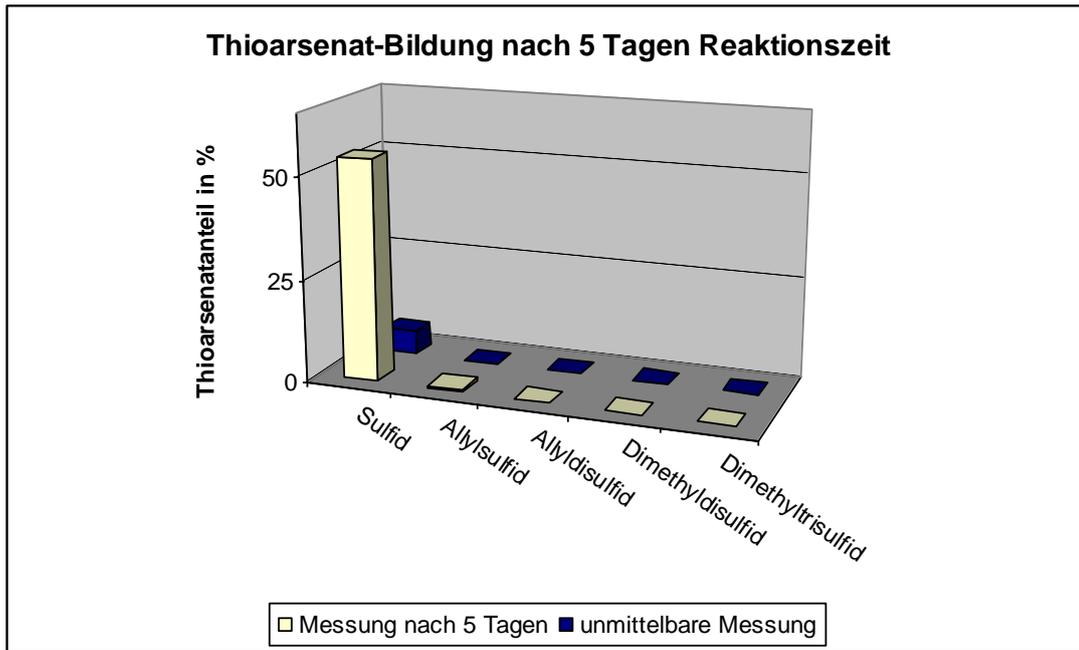


Abbildung 5: Veränderungen der Sulfide bezüglich der Thioarsenatentwicklung nach 5 Tagen; Die Balken entsprechen jeweils der Summe aus Mono-, Di- und Trithioarsenat der jeweiligen S-Verbindungen und es ist jeweils das As/S 1:10 Verhältnis dargestellt.

Tabelle 14 zeigt die Ergebnisse der Sulfidmessung nach 5 Tagen. Dabei wurden insgesamt 63 Prozent des ursprünglichen Arsenits zu einer fünfwertigen Arsenform und immerhin 54 Prozent zu Thioarsenaten oxidiert.

Tabelle 14: Messung der Arsenspezies in der Sulfidlösung nach 5 Tagen

Sulfid Lösung	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	SUM ¹
in %						
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	37	9,5	6,9	15	32	53,9

¹Summe Mono-, Di- und Trithioarsenat

In Abbildung 6 ist die zeitliche Veränderung der einzelnen Spezies anschaulich abgebildet. Es zeigt sich, dass aus dem Arsenit vermehrt Di- und Trithioarsenat gebildet wurde, während die Arsenatkonzentration keine große Veränderung zeigte. Der pH-Wert aller untersuchten Sulfidlösungen liegt zwischen pH 7,3 und pH 7,5 (vgl. Anhang 21) und befindet sich somit im leicht alkalischen Bereich. Dieser pH-Wert nimmt noch keinen wesentlichen Einfluss auf die Stabilität der Thioarsenate, d.h. bei diesem pH-Wert sollten noch keine Thioarsenate zu Arsenit umgewandelt worden sein. Basierend auf publizierten Stabilitätsangaben für Thioarsenate [4] hätte sich mögliches Tetrathioarsenat allerdings schon zu Trithioarsenat umgewandelt.

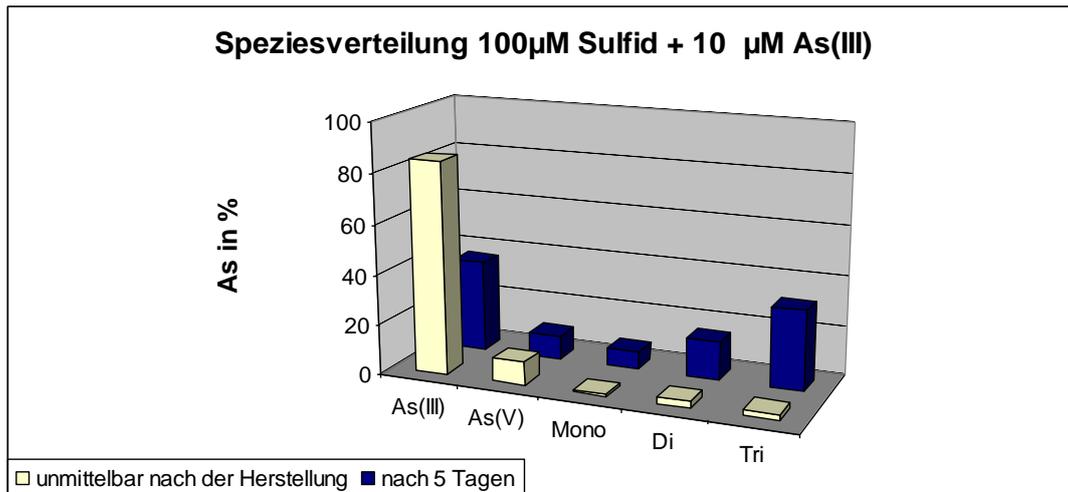


Abbildung 6: Veränderungen der Speziesverteilung des 100µmolaren Sulfid Präparates; Vergleich von Proben unmittelbar nach der Herstellung und nach 5 Tagen Reaktionszeit

4.2.1.3 Veränderungen durch Luftsauerstoff

Ein Teil der Proben wurde, nachdem sie 5 Tage in der Glovebox gelagert waren, aus der Glovebox entnommen und 6 Stunden Luftsauerstoff ausgesetzt. Bis zur Analyse lagen somit oxidative Bedingungen vor. Tabelle 15 vergleicht die Ergebnisse der luftausgesetzten Proben mit den Proben, die durchgehend unter Stickstoffatmosphäre aufbewahrt wurden. Wiederum zeigten alle S-Substanzen, ausgenommen Sulfid, keinerlei Veränderungen.

Tabelle 15: Vergleich der Arsenspeziesverteilung der 6h luftausgesetzten und der unter Stickstoffbedingungen aufbewahrten Proben mit der gleicher Reaktionszeit. Die negativen Werte weisen auf eine Abnahme und die positiven auf eine Zunahme der jeweiligen Spezies hin.

Sulfid Lösungen	As(III)	As(V)	Thioarsenate		
			Mono	Di	Tri
in %					
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	-0,1	1,3	1,9	5,2	-8,3
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	-0,1	0,1	0,1	-0,1	-
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	-0,1	0,1	-	0,1	-
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	-0,28	0,28	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM	-0,12	0,11	0,07	-0,1	-

In Abbildung 7 ist Arsenspeziesverteilung As/S 1:1 vor und nach dem Aussetzen an Luftsauerstoff dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass die Werte für Mono- und Dithioarsenat ansteigen. Dies lässt sich dadurch erklären, dass das Trithioarsenat dagegen abnimmt und es durch den Einfluss des Luftsauerstoffes teils zu Mono- und Dithioarsenat umgewandelt wird. Eine Möglichkeit wäre auch, dass sich das Trithioarsenat zu einem Teil in Arsenat umgewandelt hat, da es stärker als in den anderen Lösungen zunimmt (vgl. Tabelle 15). Somit verändern sich die Spezies der Sulfidlösung bedingt durch den Zutritt von Luftsauerstoff nach dem Öffnen relativ schnell. Wobei der Gesamtanteil an Thioarsenaten keiner bedeutenden Änderung unterliegt und sich somit die Thioarsenatspezies größtenteils nur untereinander verändern.

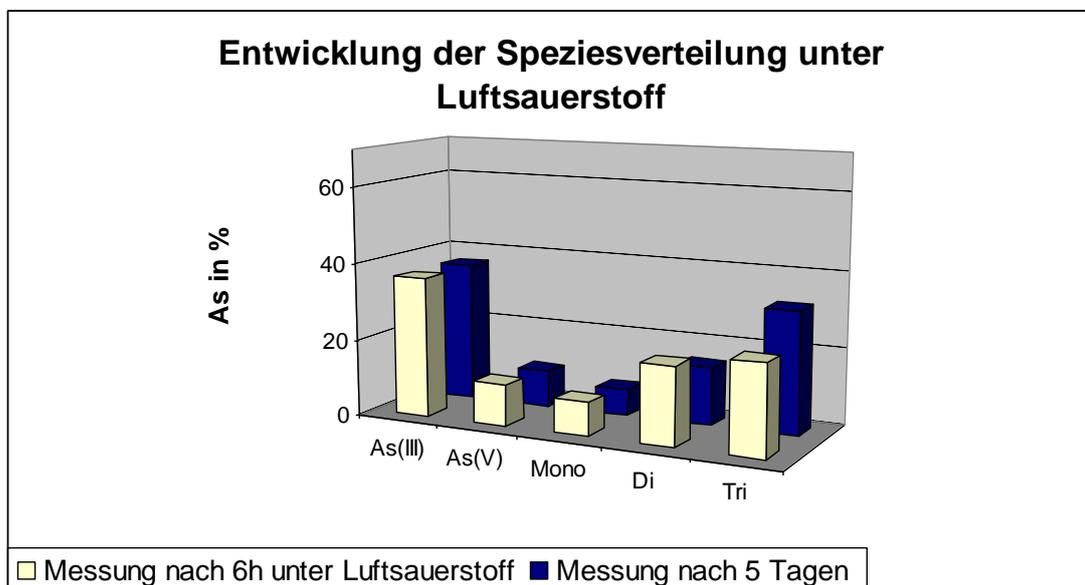


Abbildung 7: Veränderungen der Speziesverteilung des 100µmolaren Sulfid Präparates durch den Einfluss von Luftsauerstoff; Vergleich der Proben vor und nach 6h an Luftsauerstoff

Mit Hilfe dieser Ergebnisse lässt sich die obige Aussage bestätigen, dass das Sulfid zu den reaktivsten Substanzen gehört, die das Arsenit zu den fünfwertigen Thioarsenaten zu oxidieren vermögen. Weiter besteht eine Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Messung. Bei einer längeren Reaktionszeit können sich vermehrt Thioarsenate bilden, zumindest bei Sulfid. Setzt man die Proben Luftsauerstoff aus, zerfällt vor allem Trithioarsenat schnell zu Monothioarsenat, Dithioarsenat, und vermutlich Arsenat. Es muss jedoch betont werden, dass diese Versuche unter Ausschluss von Luftsauerstoff stattfanden und bei Versuchen außerhalb der Glovebox möglicherweise zu erwarten wäre, dass Sulfid sofort mit Sauerstoff

reagiert ohne mit Arsenit Thioarsenate zu bilden. Ob es dagegen bei den natürlichen Substanzen gebildet wird und Arsenit zu binden vermag, bleibt offen.

4.2.2 Natürliche Präparate

Die in Abwesenheit von Luftsauerstoff zubereiteten natürlichen Präparate standen aufgrund von Problemen mit der IC-ICP-MS 5 Tage, bevor sie analysiert werden konnten. Nach diesem Zeitraum konnten nur wenig Thioarsenate festgestellt werden. Am reaktivsten zeigte sich die Zwiebel, für „1g Zwiebel in glovebox“ lag der Anteil an Thioarsenaten von der Gesamtarsenkonzentration bei 7,1 Prozent. Die Zwiebelprobe wurde nochmals nach weiteren 2 und weiteren 7 Tagen analysiert. Aber es fanden keine positiven Veränderungen mehr statt, es war dagegen eine deutliche Abnahme an Thioarsenaten zu beobachten.

Tabelle 16: Vergleich der Arsenspeziesverteilung in Anwesenheit und Abwesenheit von Luftsauerstoff; Es handelt sich bei allen um frische, unbehandelte Substanzen, die ungefähr die gleiche Reaktionszeit hatten.

Natürliche Präparate *	As(III)	As(V)	Thioarsenate		
			Mono	Di	Tri
in %					
1g frischer Lauch unbehandelt	85	15	0,22	0,24	-
1g Lauch in glovebox	91	8,4	-	-	-
1g frischer Knoblauch unbehandelt	87	13	0,16	-	-
1g Knoblauch in glovebox	92	8,1	0,29	-	-
1 g frische Zwiebel unbehandelt	88	7,1	1,7	2,8	-
1 g Zwiebel in glovebox	80	13	3,5	3,4	0,16
1g Lauchzwiebel unbehandelt	97	2,3	0,8	0,37	-
1g Lauchzwiebel in glovebox	89	9,8	0,82	0,73	-

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

Wie in Tabelle 16 dargestellt, wurden, abgesehen von der Zwiebel, keine wesentlich höheren Konzentrationen an Thioarsenaten gebildet. Insgesamt sind im Vergleich mit den open air Präparaten keine allzu großen und eindeutigen Fluktuationen beobachtbar. Aus diesem Grund kann generell von unter reduzierenden Bedingungen hergestellten Präparaten keine höhere Thioarsenatbildung erwartet werden.

4.3 Arsenspeziesverteilung in Anwesenheit von Luftsauerstoff

4.3.1 Synthetische Lösungen

Auch von den Stoffen Thiosulfat, Hyposulfit, Pyrosulfit und Sulfit wurden analog zu 4.2 Lösungen mit Arsenit hergestellt und analysiert. Die Ergebnisse (Anhang 5-6) zeigen jedoch keine nennenswerte Bildung an Thioarsenaten. Daher kann bei diesen Stoffen nicht von einer hoher Reaktivität mit Arsenit in abiotischen Systemen ausgegangen werden.

4.3.2 Natürliche Präparate

Die Versuche mit den natürlichen Substanzen wurden durchgeführt, um Aussagen machen zu können, inwiefern Thioarsenate gebildet werden, unter welchen Bedingungen und welcher zeitlichen Veränderung sie unterliegen.

4.3.2.1 Messung von Säften, Pulver und frischen Präparaten

Tabelle 17 zeigt die Ergebnisse der unterschiedlichen Knoblauchverbindungen, Bärlauch, Lauch und Zwiebel. Insgesamt blieb die Summe der Thioarsenate bei allen Präparaten unter 1%, wobei bei Knoblauchpulver und bei Knoblauch- und Bärlauchsaft gar keine Thioarsenate gebildet wurden. Auffallend dagegen ist, dass bei „5g frischer Lauch geschüttelt“, mit einem Anteil von 47 Prozent fast die Hälfte des zugegebenen Arsenits in Arsenat umgewandelt wurde.

Tabelle 17: Messung der Arsenspeziesverteilung der Knoblauchverbindungen, Bärlauch, Lauch und Zwiebel

Präparate*	As(III)	As(V)	Thioarsenate		
			Mono	Di	SUM ¹
in %					
1g Knoblauchsft geschüttelt	98	1,9	-	-	-
10g Knoblauchsft geschüttelt	97	3,3	-	-	-
1g Knoblauchsft erwärmt	98	1,7	-	-	-
10g Knoblauchsft erwärmt	97	2,9	-	-	-
1g Knoblauchpulver geschüttelt	93	6,5	-	-	-
1g Knoblauchpulver erwärmt	95	5,3	-	-	-
1g frischer Knoblauch geschüttelt	85	14	0,24	-	0,24
1g frischer Knoblauch erwärmt	89	11	0,24	-	0,24
5g frischer Knoblauch geschüttelt	90	9,7	0,26	-	0,26
1g Bärlauchsft geschüttelt	94	5,8	-	-	-
10g Bärlauchsft geschüttelt	76	24	-	-	-
1g Bärlauchsft erwärmt	92	7,2	-	-	-
10g Bärlauchsft erwärmt	79	21	-	-	-
1g frischer Lauch geschüttelt	90	9	0,41	-	0,41
5g frischer Lauch geschüttelt	53	47	0,29	-	0,29
1g frischer Lauch erwärmt	90	9,1	0,62	0,31	0,93
1g frische Zwiebel geschüttelt	96	3,9	0,23	-	0,23
1g frische Zwiebel erwärmt	94	5,5	0,35	0,12	0,47

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

¹ Summe aus Mono- und Dithioarsenat

Basierend auf diesen Messergebnissen lassen sich folgende Annahmen machen. Das Erwärmen der Präparate bildet mehr Thioarsenate als reines Schütteln, wie dies auch Tabelle 18 zeigt.

Tabelle 18: Vergleich der Arsenspeziesverteilung der „geschüttelten“ und „erwärmten“ Proben

Natürliche Präparate* vom 01.07.09	As(III)	As(V)	Thioarsenate		
			Mono	Di	SUM ¹
in %					
1g frischer Lauch geschüttelt	90	9,9	0,41	-	0,41
1g frischer Lauch erwärmt	90	9,1	0,62	0,31	0,93
1g frische Zwiebel geschüttelt	96	3,9	0,23	-	0,23
1g frische Zwiebel erwärmt	94	5,5	0,35	0,12	0,47

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

¹ Summe aus Mono- und Dithioarsenat

So wurde in den dargestellten Fällen etwa die doppelte Menge an Thioarsenat in den erwärmten Proben im Vergleich zu den Proben bei Raumtemperatur gebildet. Zusätzlich bildete sich bei den erwärmten Proben neben Monothioarsenat auch Dithioarsenat. Somit hat das Erwärmen sowohl quantitativ als auch qualitativ einen positiven Einfluss auf die Bildung von Thioarsenaten.

Obwohl im Vorfeld auf Knoblauch die höchsten Erwartungen ruhten, fällt auf, dass sowohl Knoblauchsafte, Knoblauchpulver als auch frischer Knoblauch keine quantitativ und qualitativ auffälligen Thioarsenatmengen ausbildeten. Folglich kann angenommen werden, dass sie abiotisch kaum Arsenit zu Thioarsenaten reagieren lassen. Bei allen Substanzen erwiesen sich die frischen Produkte als wirkungsvoller Arsenit in Thioarsenate umzuwandeln.

4.3.2.2 Quantitativer Einfluss der frischen Substanzen

Wenn man weiter den quantitativen Einfluss der jeweiligen Substanz auf die Reaktion betrachtet, also die zugegebene Substanzmenge, lässt sich sagen, dass die Menge an Substanz keinen erwähnenswerten Einfluss auf die Bildung an Thioarsenaten hat. „5 g Knoblauch geschüttelt“ ließ lediglich 0,02% mehr und „1 g Lauch geschüttelt“ 0,12% mehr Monothioarsenat entstehen, obwohl die fünffache Substanzmenge zugegeben wurde (vgl. Tabelle 19). Hierbei ist anzumerken, dass aufgrund des geringen Volumens an Arsenitlösung von 5mL im Vergleich mit dem Volumen natürlicher Substanzen, das gewählte Mischungsverhältnis von 1:5 bei den natürlichen Substanzen nicht ideal ist.

Tabelle 19: Vergleich der Arsenspeziesverteilung von „1g“ und „5g“

Natürliche Präparate [*]	As(III)	As(V)	Mono
in %			
1g frischer Knoblauch geschüttelt	85	14	0,24
5g frischer Knoblauch geschüttelt	90	9,7	0,26
1g frischer Lauch geschüttelt	90	9,9	0,41
5g frischer Lauch geschüttelt	53	47	0,29

^{*}+ 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

4.3.2.3 Unbehandelte Proben mit längerer Reaktionszeit

Parallel zu den geschüttelten und erwärmten Sets wurde zusätzlich ein Set von unbehandelten Präparaten mithergestellt, das eine längere Reaktionszeit bzw. Standzeit hatte. Denn diese Proben wurden erst nach 8 Tagen analysiert. Tabelle 20 vergleicht diese Messergebnisse mit ebenfalls 8 Tage alten erwärmten Proben des ersten Durchlaufes. Auffallend ist, dass bei allen unbehandelten Präparaten sowohl Mono- als auch Dithioarsenate nachgewiesen werden konnten. Außerdem lagen die Werte der unbehandelten Proben um einiges höher, so wies „1g frische Zwiebel unbehandelt“ 4 Prozent mehr Thioarsenate als die erwärmte Variante auf. Ähnliches Verhalten zeigten der unbehandelte Bärlauchsaft. Beim Lauch dagegen konnten bei dem erwärmten Präparat höhere Thioarsenatwerte gemessen werden.

Tabelle 20: Vergleich der Arsenspeziesverteilung von erwärmten und unbehandelten Proben, die jeweils eine Reaktionszeit von 8 Tage hatten.

Natürliche Präparate *	As		Thioarsenate		
	As(III)	As(V)	Mono	Di	SUM ¹
in %					
1g frische Zwiebel erwärmt	94	5,5	0,35	0,12	0,47
1 g frischer Zwiebel unbehandelt	88	7,1	1,7	2,8	4,5
1g Bärlauchsaft erwärmt	93	7,2	-	-	-
1g Bärlauchsaft unbehandelt	95	4,1	0,7	0,64	1,3
1g Lauch erwärmt	93	5,6	0,36	0,7	1,1
1g frischer Lauch unbehandelt	85	15	0,22	0,24	0,46

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

¹ Summe aus Mono- und Dithioarsenat

Diesen Ergebnissen zufolge lässt nicht wie erwartet das Erwärmen sondern eine Nichtbehandlung der Präparate mehr Thioarsenate entstehen. Die Ursache könnte darin liegen, dass die Präparate während des Erwärmens in Kontakt mit Sauerstoff standen und dadurch ein Teil der Thioarsenate zu Arsenit und Arsenat umgewandelt werden konnte. Auch ein Einfluss durch das Erwärmen des Präparates ist denkbar, durch das sich Substanzen verflüchtigen können. Die unbehandelten Präparate dagegen wurden nach dem Mischen sofort luftdicht verschlossen und lediglich der im Luftpolster enthaltene Sauerstoff konnte sich an der Reaktion beteiligen. Somit ist

eine Beeinflussung der Reaktion durch den Luftsauerstoff sehr wahrscheinlich, indem die Thioarsenate in Arsenit und Arsenat umgewandelt werden.

Der pH-Wert, der in Tabelle 20 dargestellten Präparate liegt zwischen pH 3,8 und pH 6 (vgl. Anhang 22). Dieser schon im leicht sauren Bereich befindliche pH ist für die Speziesverteilung der Thioarsenate nicht ideal, denn bei einem pH unter 4 wandeln sich sowohl Tri- als auch Dithioarsenat in Arsenit um und könnten somit auch nicht detektiert werden [4].

4.3.2.4 Entwicklung der Speziesverteilung über die Zeit

In Tabelle 21 und Abbildung 8 sind die zeitlichen Veränderungen der Präparate nach 8 bzw. nach 13 Tagen dargestellt. Ein deutlicher Unterschied in der Entstehung an Thioarsenaten, ob die Präparate 8 oder 13 Tage stehen gelassen wurden, ist allerdings nicht festzustellen. Insgesamt haben sich keine großen Veränderungen ergeben, lediglich bei „5g Lauch geschüttelt“ haben sich nach 8 Tagen 4,6% mehr Thioarsenate gebildet und bei beiden Zwiebelpräparaten wurden sogar weniger Thioarsenate gemessen.

Tabelle 21: Veränderungen der Arsenspeziesverteilung nach 8 und 13 Tagen
Reaktionszeit

Natürliche Präparate *	Thioarsenate					
	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	SUM ¹
in %						
1g frischer Lauch erwärmt 01.07	90	9,1	0,62	0,31	-	0,93
1g frischer Lauch erwärmt 09.07	93	5,6	0,36	0,70	-	1,1
5g frischer Lauch geschüttelt 01.07	53	47	0,29	-	-	0,29
5g Lauch geschüttelt 09.07	77	19	1,2	3,6	-	4,8
1g frische Zwiebel erwärmt 01.07	94	5,5	0,35	-	-	0,47
1g Zwiebel erwärmt 14.07	66	34	0,22	-	0,02	0,24
1g frische Zwiebel geschüttelt 01.07	96	3,9	0,23	-	-	0,23
1g Zwiebel geschüttelt 14.07	92	7,7	0,10	0,03	0,05	0,18

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

¹ Summe aus Mono-, Di- und Trithioarsenat

Somit zeigen diese Präparate keinen eindeutigen Trend nach längeren Reaktionszeiten. Denn es ist keine einheitliche positive oder negative Entwicklung aller Präparate über die Zeit erkenntlich.

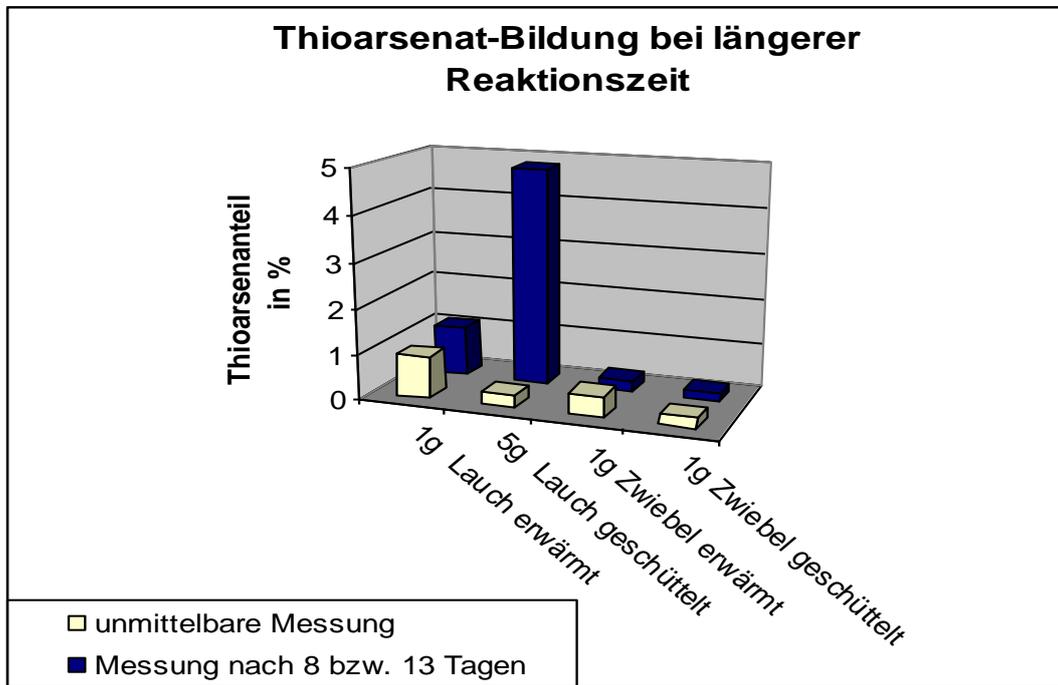


Abbildung 8: zeitliche Veränderungen bezüglich der Thioarsenatentwicklung nach 8 Tagen; Die Balken entsprechen jeweils der Summe aus Mono-, Di-, und Trithioarsenat der jeweiligen S-Verbindungen.

4.3.2.5 Unterschiedlich lange Erwärmungszeiten

Um festzustellen, ob die Erwärmungszeit einen Einfluss auf die Bildung von Thioarsenaten hat, wurden von frischem Lauch, Zwiebel, Knoblauch und Lauchzwiebel je ein Set 1,5h und eines 3h erwärmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 22 dargestellt. Es ist kein genereller Trend erkennbar, dass durch längeres Erwärmen mehr Thioarsenate entstehen. Bei dem Zwiebelpräparat stieg zwar die Konzentration der Thioarsenate um 8 Prozent, aber bei den anderen Präparaten zeigten sich nur minimale Abweichungen, sowohl in Richtung Zunahme als auch Abnahme.

Tabelle 22: Gegenüberstellung der Arsenspeziesverteilung der 1,5 und der 3 h erwärmten Präparate

Natürliche Präparate*	As(III)	As(V)	Thioarsenate			SUM ¹
			Mono	Di	Tri	
in %						
1g Lauch erwärmt 1.5 h	94	4,5	0,84	0,77	-	1,6
1g Lauch erwärmt 3 h	96	3,0	0,74	0,69	-	1,4
1g Zwiebel erwärmt 1.5 h	96	3,5	0,50	0,09	0,23	0,82
1g Zwiebel erwärmt 3 h	89	2,3	0,42	1,4	7,0	8,8
1g Knoblauch erwärmt 1.5 h	94	5,8	0,22	-	-	0,25
1g Knoblauch erwärmt 3 h	96	3,8	0,21	-	-	0,24
1g Lauchzwiebel erwärmt 1.5 h	95	3,7	0,65	0,23	-	0,88
1g Lauchzwiebel erwärmt 3 h	96	2,7	0,79	-	-	0,79

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer ¹ Summe aus Mono-, Di- und Trithioarsenat

Dennoch tritt bei dieser Untersuchung interessanterweise erneut (vgl. 4.2.2) das Zwiebelpräparat in Erscheinung. Denn in der Arsenspeziesverteilung nehmen die Thioarsenate mit 8,8 Prozent einen größeren Stellenwert ein, im Vergleich zu den vorherigen Messungen. Davon liegen die meisten als Trithioarsenat vor. Basierend auf den positiven Ergebnissen der Zwiebelpräparate wurde die Probe auch nochmals nach 2 und nach weiteren 7 Tagen analysiert, dargestellt in Abbildung 9. Allerdings nahm die Konzentration an Thioarsenaten enorm ab, schon nach 2 Tagen hatten sie nur noch einen Anteil von 1,6 Prozent und nach 9 Tagen lag er nur noch bei 0,61 Prozent. Dies lag vor allem an dem Zerfall des Trihioarsenates, welches wahrscheinlich zu Arsenit reduziert wurde. Auch der Abfall des pH-Wertes von pH 6,9 auf pH 3,7 nach 9 Tagen weist darauf hin, bei dem das Trithioarsenat nicht mehr in seiner ursprünglichen Form vorliegen kann und schon zu Arsenit umgewandelt wurde.

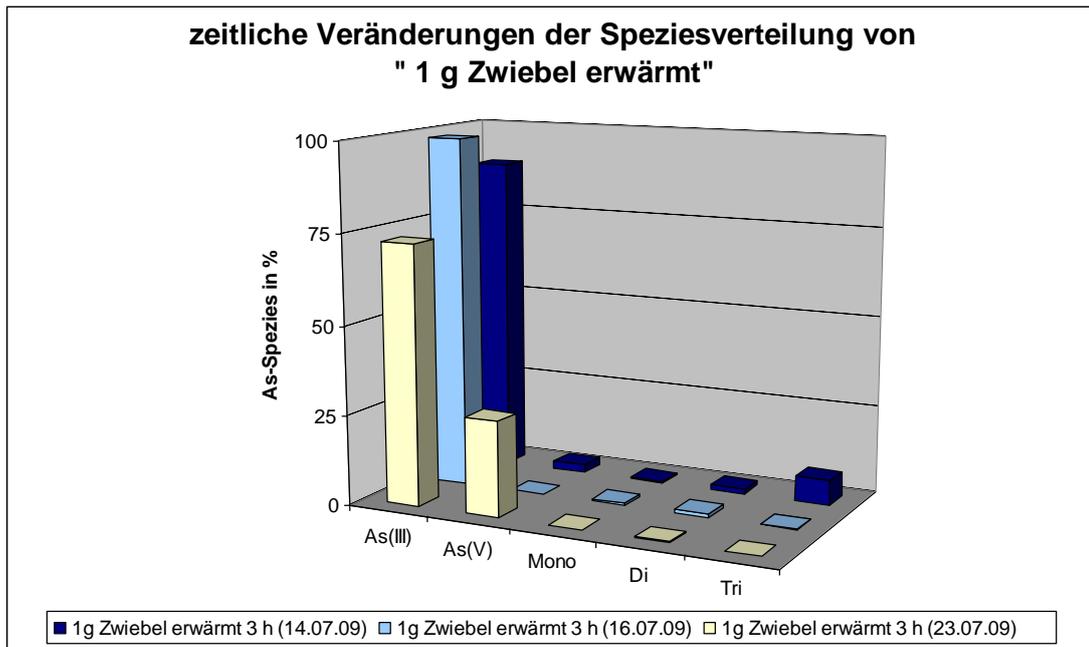


Abbildung 9: zeitliche Veränderungen der Arsenspeziesverteilung von „1g Zwiebel erwärmt“ nach 2 und nach 7 Tagen

Aus dieser Entwicklung kann gefolgert werden, dass die Thioarsenate bei längeren Standzeiten ein äußerst labiles Verhalten zeigen und unter diesen Bedingungen nicht mal über einen Zeitraum von 2 Tagen stabil sind. Zudem zeigt sich, dass bei allen natürlichen Substanzen der pH-Wert mit der Standzeiten kontinuierlich abfällt. Diese Veränderung liegt an den natürlichen Substanzen, denn bei den synthetischen Lösungen zeigte sich keine derartige Entwicklung.

4.3.2.6 Unterschiedliche Bearbeitungsform

Bei einem Set wurde die Substanz erst in der Arsenitlösung zerkleinert und gemörsert. Wird die Zellstruktur dann aufgebrochen, können die aus dem Allicin entstehenden schwefelhaltigen Verbindungen sofort mit Arsenit reagieren. So könnten auch nur sehr kurzzeitig stabile Verbindungen auf die Reaktion Einfluss nehmen. Auch das Allicin selbst ist unter oxidativen Bedingungen äußerst labil und flüchtig und könnten durch die gewählte Behandlung der „in-situ“ Zerkleinerung besser mit Arsenit reagieren. In der Praxis ergaben sich jedoch keine höheren Werte für Thioarsenate unter dieser Behandlung, die Werte in Tabelle 23 liegen sogar teilweise unter den Werten der Präparate, bei denen die Substanzen erst nach dem Zerkleinern der Lösung zugegeben wurde. Folglich kann durch diese Behandlung kein Einfluss auf die nur kurzzeitig stabilen Verbindungen, die an der Umsetzung zu Thioarsenat beteiligt sind, genommen werden.

Tabelle 23: Ergebnis der Arsenspeziesverteilung bei einer Zerkleinerung der Substanz erst in der Lösung.

Natürliche Präparate *	As(III)	As(V)	Monothioarsenat
	in %		
1g Lauch in Lösung gemörsert	88,33	11,36	0,25
1g Lauchzwiebel in Lösung gemörsert	97,53	2,14	0,29
1g Knoblauch in Lösung gemörsert	87,33	12,34	0,31

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

4.3.2.7 Alliinzugabe

Tabelle 24 zeigt die Versuche, die mit Alliin durchgeführt wurden. Alliin liegt in Knoblauch mit einer Konzentration bis zu 1,8 Prozent vor, allerdings können die Werte sehr schwanken [22]. Die Mischung von Alliin mit der Arsenitlösung bildete erwartungsgemäß keine Thioarsenate aus. Das bestätigt die Theorie, dass die reaktiven schwefelhaltigen Substanzen erst aus dem Allicin entstehen und reines Alliin ohne das Enzym Allinase unreaktiv ist. Weiter wurde versucht, durch mechanisches Behandeln der natürlichen Allinasequelle Knoblauch, Allinase freizusetzen, um das Alliin enzymatisch in Allicin umzuwandeln. Die Motivation dieser Variante war es, mehr reaktives Allicin zu erhalten, durch welches die reaktiven schwefelhaltigen Verbindungen entstehen.

Tabelle 24: Veränderungen in der Arsenspeziesverteilung durch die Zugabe von Alliin und deren zeitliche Veränderung nach 2 bzw. 7 Tagen

Lösungen* und Präparate *	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	SUM ¹
in %						
Alliin 100 µM	99	0,6	-	-	-	-
Alliin 100 µM + 20 g Knoblauch gemixt	70	30	0,11	-	-	0,11
nach 2 Tagen						
Alliin 100 µM + 20 g Knoblauch gemixt	45	55	0,2	-	-	0,2
nach 9 Tagen						
Alliin 100 µM + 20 g Knoblauch gemixt	17	82	0,43	0,25	-	0,68
Unmittelbar nach der Herstellung						
20g Lauch gemixt (hoher pH)	54	38	6,8	0,75	0,15	7,7
Alliin 100µM + 20g Lauch gemixt (hoher pH)	70	23	6,2	-	-	6,2
nach 7 Tagen						
Alliin 100µM + 20g Lauch gemixt (hoher pH)	87	13	0,5	-	-	0,5

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer ¹ Summe aus Mono-, Di- und Trithioarsenat

Das aus 20g Knoblauch, 100 µM Alliin und 10 µM Arsenit bestehende Präparat bildete aber kaum Thioarsenate aus. Auch nach 2 und 9 Tagen hat kaum eine Entwicklung stattgefunden. Auffällig bei diesem Präparat war, dass sich nach dem ungefähr 15minütigen Mixen ein schwarzer Niederschlag bildete. Eine Bildung von Arsensulfiden erscheint aber unwahrscheinlich, da ein neutraler pH-Wert und ein Redoxpotential von -105mV gemessen wurde, die Bildung von Arsensulfiden aber stark reduzierende Bedingungen benötigt. Es wird vermutet, dass sich der Niederschlag aufgrund einer Metallablösung an dem verwendeten Mixer ergeben hatte. Interessanterweise bildete sich aber bei diesem Knoblauchpräparat eine enorme Menge an Arsenat (vgl. 4.5).

Die gleiche Reaktion wurde auch mit Lauch als Allinasequelle durchgeführt, dabei entstanden 6,2 Prozent Thioarsenate, wobei diese Reaktion allerdings auch bei einem höheren pH-Wert im Gegensatz zu Knoblauch durchgeführt wurde. Um einen Beweis für die höhere Allicinausbeute und somit höhere Reaktivität zu erhalten, wurde das gleiche Experiment nur ohne die Allinzugabe durchgeführt. Betrachtet man Abbildung 10, sind ohne Allin sogar etwas mehr Thioarsenate entstanden.

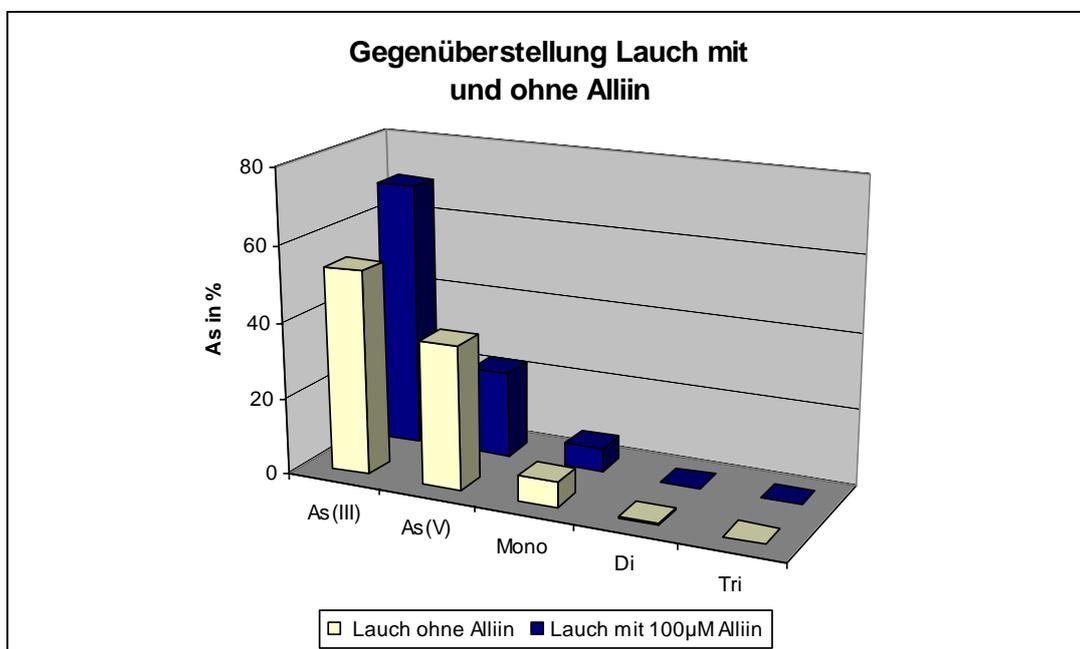


Abbildung 10: Gegenüberstellung der Arsenspeziesverteilung von „20 g Lauch gemixt (hoher pH)“ mit und ohne Alliin

Somit ist es unwahrscheinlich, dass mit der durchgeführten Methode deutlich mehr Allicin gebildet werden kann. Ein Grund dafür kann sein, dass zwar genug Allinase entstanden ist, aber die Konzentration an Alliin zu gering war. Wie in einem Verfahren zu Herstellung von Allicin [22] beschrieben, ist das Umwandlungsverhältnis von Alliin zu Allicin etwa 3 zu 1, allerdings unter idealen Bedingungen. Bei diesem Verfahren wurde aber eine deutlich höhere Alliinkonzentration verwendet. Außerdem wurde auch ein organisches Lösungsmittel verwendet, mit dem das unpolare Allicin aus der Lösung genommen werden kann, damit freigesetzte Allinase nicht durch überflüssiges Allicin inaktiviert wird. Grund hierfür ist die so genannte „Selbstmord“-Natur des Enzyms Allinase, die Allinase wird durch ihr eigenes Reaktionsprodukt das Allicin irreversibel inaktiviert.

4.3.2.8 Erhöhung des pH-Wertes

Aufgrund des Effektes, dass die Stabilität der Thioarsenate mit dem pH-Wert deutlich abnimmt, wurden die Präparate auch bei einem höheren pH-Wert hergestellt und analysiert. Wie in Tabelle 25 ersichtlich, zeigte Knoblauch auch bei einem hohen pH sowohl in der unbehandelten als auch in der erwärmten Variante keine auffälligen Konzentrationen an gebildeten Thioarsenaten, die Zwiebelpräparate mit 3.5 – 9 Prozent und der Lauch bilden mit 47-52 Prozent bildeten dagegen deutlich mehr Thioarsenate.

Tabelle 25: : Arsenspeziesverteilung bei höheren pH-Wert

Natürliche Präparate* vom 16.07.09	Thioarsenate					SUM ¹
	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	
in %						
1g Lauch unbehandelt	45	3,3	39	7,8	4,5	52
1g Zwiebel unbehandelt	95	1,5	3,3	0,11	0,09	3,5
1g Knoblauch unbehandelt	87	12	0,52	-	0,01	0,54
1g Lauch 3 h erwärmt	42	11	46	0,60	0,09	47
1g Zwiebel 3 h erwärmt	89	2,2	8,6	0,11	0,01	8,8
1g Knoblauch 3 h erwärmt	88	12	0,30	-	0,01	0,31

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

¹ Summe aus Mono-, Di- und Trithioarsenat

Abbildung 11 veranschaulicht die Speziesverteilung des unbehandelten Lauchpräparates, bei dem direkt nach der Herstellung ein pH von 9,19 gemessen wurde. Dieser Verteilung entsprechend haben die Monothioarsenate mit 39 Prozent den größten Anteil an den insgesamt 52 Prozent Thioarsenat, es ist auch bezüglich des pH-Wertes die stabilste Spezies der Thioarsenate. Folglich sollten, abgesehen von Tetrathioarsenat, bei dem gemessenen pH von 9,19 die Spezies auch in ihrer ursprünglichen Form vorliegen, d.h. bei diesem pH-Wert sollten sich noch keine Thioarsenate untereinander umwandeln [4].

Interessanterweise lagen bei dem 3h erwärmten Zwiebelpräparat (vgl. Tabelle 22) 7 Prozent Trithioarsenat vor und auch bei der Sulfidlösung (vgl. Tabelle 14) entstanden 32 Prozent Trithioarsenat, obwohl bei beiden Präparaten der Anteil an Mono- und Dithioarsenat deutlich niedriger war, und Sulfid mit pH 7,4 und das Zwiebelpräparat mit pH 6,8 deutlich niedrigere pH-Werte aufwiesen.

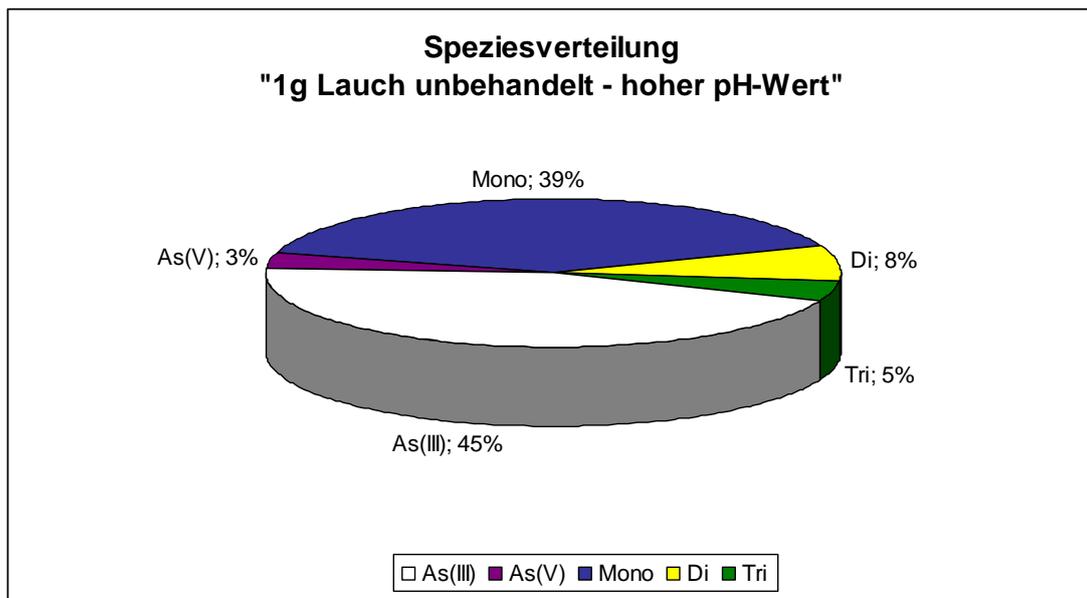


Abbildung 11: Arsenspeziesverteilung von „Lauch unbehandelt“ bei einem pH von 9,19

Auch die bei höheren pH zubereiteten Präparate wurden 7 Tage stehen gelassen und dann nochmals analysiert. Abbildung 12 zeigt die Veränderungen in der Speziesverteilung der unbehandelten und erwärmten Lauchprobe, und der erwärmten Zwiebelprobe. Bei allen 3 Proben ist die deutliche Zunahme der Arsenitkonzentration und eine leichte Erhöhung der Arsenatwerte ersichtlich, während bei den Thioarsenaten dagegen, vor allem beim Monothioarsenat, eine

deutliche Abnahme erkennbar ist. Somit wird auch bei einem höheren pH deutlich, dass nach längerer Standzeit die Thioarsenate zu Arsenit und Arsenat umgewandelt werden. Dieses Verhalten wurde zusätzlich durch den Sauerstoffeintrag bzw. Luftsinschluss im Probengefäß begünstigt.

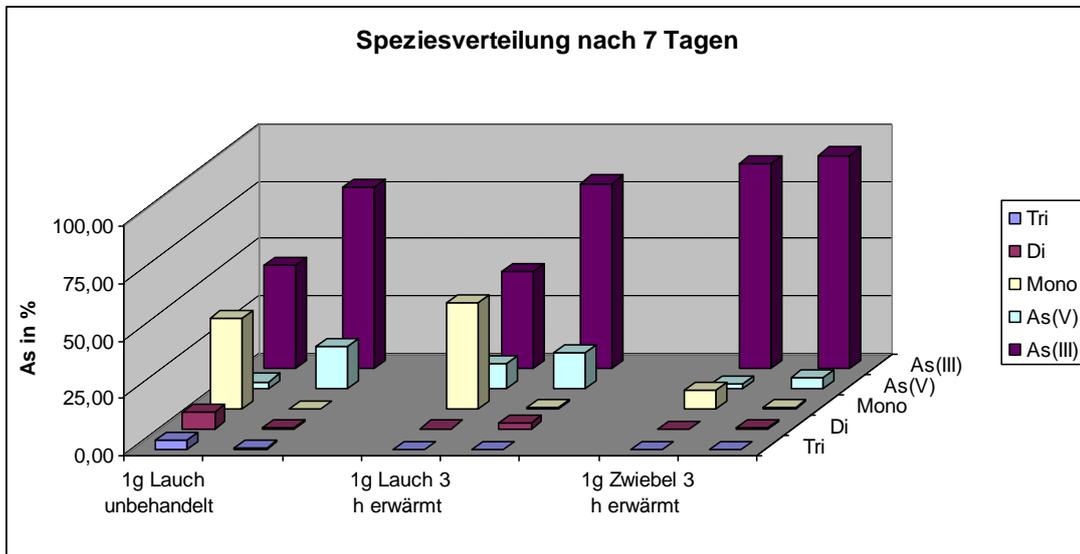


Abbildung 12: dargestellt ist die Arsenspeziesverteilung; die linke Reihe des jeweiligen Präparats ohne längere Standzeit und die rechte Reihe nach 7 Tagen Standzeit

Zieht man zusätzlich zu diesen Überlegungen den pH-Wert hinzu, lassen sich diese Vorgänge bestätigen. Denn wie Tabelle 26 und Abbildung 13 zeigen, ist sowohl pH-Wert als auch Redoxpotential bei allen Präparaten deutlich gesunken.

Tabelle 26: pH-Wert und Redoxpotentialveränderung nach 7-tägiger Standzeit

natürliche Präparate*	pH-Wert	RP in mV
1g Lauch unbehandelt (hoher pH) 16.07.	9,19	-178
1g Lauch unbehandelt (hoher pH) 23.07.	5,27	-180
Differenz	$\Delta 3,92$	$\Delta 2$
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH) 16.07.	6,8	-30
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH) 23.07.	3,82	-47
Differenz	$\Delta 2,98$	$\Delta 17$
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH) 16.07.	6,8	-9
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH) 23.07.	4,95	-136
Differenz	$\Delta 1,85$	$\Delta 127,3$

* + 10 μ M As(III) in 10 mM P-Puffer

Bei den teils sehr niedrigen pH-Werten von pH 3,82 oder pH 4,95 können die gebildeten Thioarsenate gar nicht mehr in ihrer ursprünglichen Speziesverteilung vorliegen, da sie schon zu einem großen Anteil zu Arsenit reagiert hatten. Es zeigt sich, dass bei längeren Standzeiten auch Präparate mit einem ursprünglich hohen pH-Wert eine abnehmende Tendenz bezüglich der Thioarsenate aufweisen. Hierfür spielen die deutlich gesunkenen pH-Werte die entscheidende Rolle.

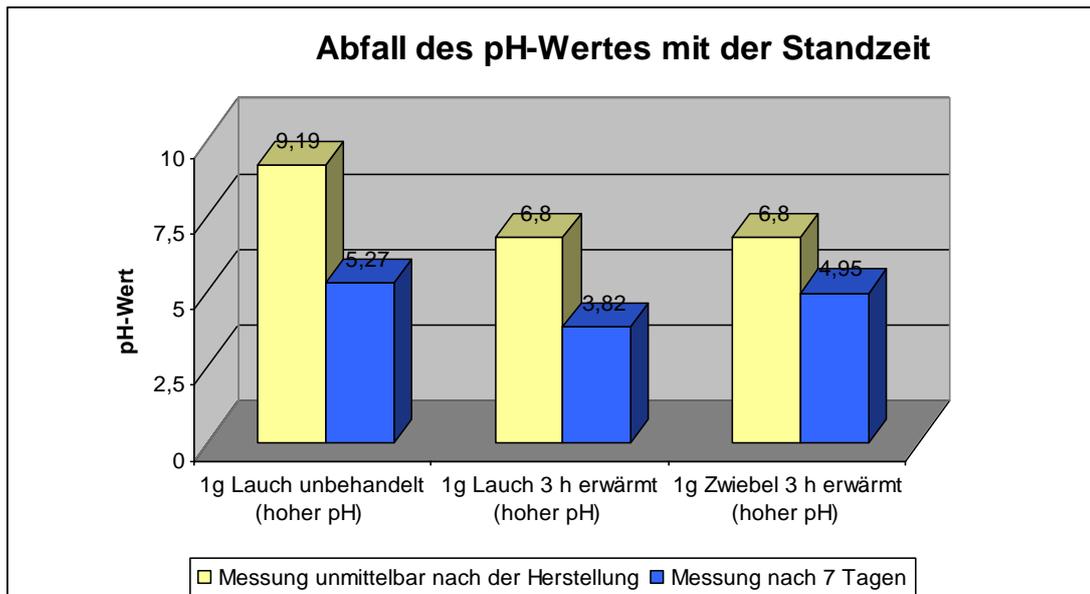


Abbildung 13: Vergleich der pH-Wert Messung unmittelbar nach der Herstellung und nach 7 Tagen Standzeit

4.4 Vergleich der natürlichen Substanzen

Wie schon im Laufe des Ergebnis- und Auswertungsteil angedeutet, ergibt sich eine sehr überraschende Folgerung, wenn man die unterschiedlichen Substanzen in Bezug auf ihre Fähigkeit Arsenit zu Thioarsenat zu oxidieren, betrachtet. Man hätte erwartet, dass die verschiedenen getesteten Knoblauchextrakte (Pulver, Saft und frischer Knoblauch) auch in den abiotischen Experimenten die größte Reaktivität zeigen und sich nur untereinander kleinere Unterschiede zeigen. Aber keine Knoblauchverbindung ließ quantitativ bedeutende Mengen an Thioarsenaten entstehen. Auch durch den frischen Knoblauch, von dem im Vorfeld die höchsten Werte erwartet wurden, blieben die Konzentrationen der entstandenen Thioarsenate unter 1 Prozent. Ähnliches Verhalten war bei Bärlauchsafte und der Lauchzwiebel beobachtbar. Überraschenderweise zeigten sich dagegen die Lauchpräparate am reaktivsten. „1g Lauch unbehandelt (hoher pH)“ und „1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH)“ wiesen mit Thioarsenatanteilen von 52 und 47 Prozent die höchsten gemessenen Werte aller getesteten Präparate auf. Und auch die Zwiebelpräparate zeigten sich als relativ reaktiv und oxidierten bis zu 9 Prozent Arsenit zu Thioarsenaten. Grund für dieses unerwartete Verhalten könnte möglicherweise an der Beschaffenheit der Substanzen liegen. Auffallend bei der Zubereitung der frischen Extrakte war, dass sich Knoblauch nur sehr schwer mit dem Mörser zu einem Extrakt verarbeiten ließ und auch kaum Flüssigkeit nach dem Zerkleinern der Substanzen ausbildete. Bei dem frischen Lauch und der Zwiebel ging das Zerkleinern dagegen um einiges einfacher und es konnte sich mehr flüssiges Extrakt bilden. Wahrscheinlich ist der quantitative Anteil des entstandenen flüssigen Extraktes, in dem sich wasserlösliche, schwefelhaltige Stoffe lösen können, für die Reaktion von Bedeutung. Weiter kann gesagt werden, dass neben dem Knoblauch auch andere Lauchgewächse wie die Zwiebel oder der Lauch ebenfalls bedeutende Quellen für Sulfide sind und eine stärkere Reaktion in Bezug auf die Bildung von Thioarsenaten zeigen. Auch Schwankungen innerhalb einer Art in Abhängigkeit von der Sorte, Ursprung etc. können eine bedeutende Rolle für den Sulfidgehalt in den Pflanzen spielen und somit Einfluss auf die Reaktion nehmen.

4.5 Arsenatgehalt

Betrachtet man den Arsenatgehalt, so ist bei allen synthetischen Lösungen kaum eine Entwicklung bezüglich der Arsenatbildung festzustellen. Jedoch nahm immerhin bei der Sulfidlösung das Arsenat einen Anteil von 11% ein und es wurden insgesamt 63% Arsenit zu Arsenat oder Thioarsenaten oxidiert (vgl. Anhang 8).

Bei den natürlichen Substanzen lässt sich kein genereller Trend ausmachen, ob Erwärmen, Schütteln oder Bearbeiten in der Arsenitlösung einen Einfluss auf die Bildung hat. Aber es zeigt sich deutlich, dass die zugegebene Menge an natürlichen Substanzen die Bildung von Arsenat erhöht (vgl. Tabelle 26). Dargestellt sind die im Verhältnis 1:1 und 1:10 hergestellten Präparate und bei allen drei Varianten ließ die zehnfache Substanzmenge deutlich mehr Arsenat entstehen.

Tabelle 27: Arsenspeziesverteilung der Bärlauchpräparate

Bärlauchpräparate* vom 01.07.09	Thioarsenate			
	As(III)	As(V)	Mono	Di
in %				
1g Bärlauchsaft geschüttelt	94,21	5,79	-	-
10g Bärlauchsaft geschüttelt	76,44	23,56	-	-
1g Bärlauchsaft erwärmt	92,82	7,18	-	-
10g Bärlauchsaft erwärmt	78,51	21,49	-	-
1g Bärlauchsaft unbehandelt	94,52	4,14	0,70	0,64
10 g Bärlauchsaft unbehandelt	77,19	22,74	-	-

* + 10µM As(III) in 10 mM P-Puffer

Dieser Trend ist auch bei den Lauchpräparaten ersichtlich, die sich mit gebildeten Arsenatkonzentrationen über 50% auch hier als sehr reaktiv erwiesen. Eine höhere Arsenatkonzentration aufgrund von höheren pH-Werten, analog der Thioarsenatbildung, konnte allerdings nicht beobachtet werden. Neben dem Lauch zeigte sich auch der Knoblauch als äußerst reaktiv und das Knoblauchpräparat „20g Knoblauch gemixt (hoher pH) + Alliin 100µM“ mit einem Arsenatanteil von 82% wies den höchsten Wert (Anhang 18 und 20) aller Präparate auf. Dabei bildete sich diese Konzentrationen erst nach 9 Tagen Standzeit, die Entwicklung der Arsenatbildung ist anschaulich in Abbildung 14 dargestellt. Es lässt sich eine kontinuierliche Abnahme des Arsenitgehaltes bei gleichzeitiger Zunahme der Arsenatkonzentration beobachten, während die Thioarsenate keine Rolle spielen. Ob bei der Bildung dieser hohen Arsenatkonzentration das Mixen, die Alliinzugabe, der

höhere pH-Wert oder alles Zusammen für die Bildung des Arsenates eine Rolle spielte, kann nicht gesagt werden.

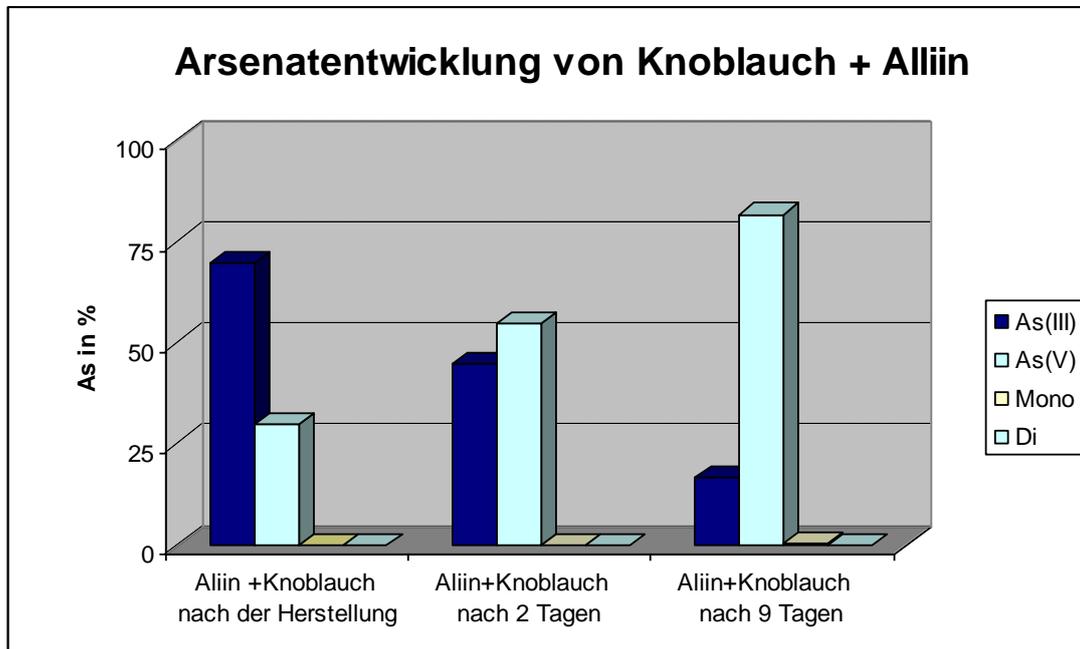


Abbildung 14: zeitliche Entwicklung der Arsenspeziesverteilung des „Alliin 100 μ M + 20g Knoblauch gemixt (hoher pH)“ Präparates nach 2 und nach 9 Tagen.

Folglich kann die Ausgangshypothese von Chowdhury [3] bestätigt werden, dass abiotisch Knoblauch große Mengen an Arsenit zu Arsenat umzuwandeln vermag. Eine 100-prozentige Umwandlung konnte aber nicht festgestellt werden.

4.6 Wesentliche Ergebnisse

Im Folgenden sind die wesentlichen Ergebnisse der Untersuchungen dargestellt.

1. Von allen getesteten synthetischen Lösungen bildet nur das Sulfid quantitativ nennenswerte Mengen an Thioarsenaten. Dabei nimmt der Anteil an Thioarsenaten bei längeren Standzeiten zu und es können über 50 Prozent Thioarsenate gebildet werden.
2. Setzt man die in Abwesenheit von Luftsauerstoff hergestellten synthetischen Lösungen an die Luft, zeigt vor allem das durch Sulfid gebildete Trithioarsenat eine große Instabilität und nimmt deutlich ab. Die Thioarsenate wandeln sich somit bei Sauerstoffzutritt um, überwiegend zu Arsenit.
3. Das Herstellen von natürlichen Präparaten in Abwesenheit von Luftsauerstoff bringt keine wesentliche Erhöhung an Thioarsenaten.
4. Frische Produkte bilden mehr Thioarsenate als Säfte oder Pulver.
5. Die Herstellung von 1:1, 1:5 und 1:10 Verhältnissen Arsenitlösung zu Extraktmenge hat keinen wesentlichen Einfluss auf die Reaktion.
6. Auch treten keine deutlichen Veränderungen durch unterschiedliche Bearbeitungsformen wie das Schütteln, Erwärmen oder das Behandeln der Substanz in der Arsenitlösung auf.
7. Die Erhöhung der Allicinausbeute mit Hilfe von Alliin und einer natürlichen Allinasequelle konnte mit der angewendeten Methode die Bildung von Thioarsenaten nicht erhöhen.
8. Von allen getesteten Substanzen weist frischer Lauch die höchste Effektivität auf. Auch die frische Zwiebel ist sehr wirkungsvoll. Dagegen zeigten sich alle angewendeten Knoblauchvarianten, sowie die Lauchzwiebel als weitgehend unwirksam.
9. Im Gegensatz zur Sulfidentwicklung, die allerdings in Abwesenheit von Luftsauerstoff stattfand, ist bei den natürlichen Präparaten eine deutliche Umwandlung der Thioarsenate in Arsenit und Arsenat feststellbar, wenn man die Entwicklung über die Zeit betrachtet.

10. Längere Standzeiten bewirken ein Abnehmen des pH-Wertes. Dadurch nimmt auch die Stabilität der Thioarsenate deutlich ab. Denn dadurch wird zum einen eine Umwandlung der Thioarsenate untereinander und zum anderen eine Reduktion zu Arsenit und Arsenat bewirkt. So wird Trithioarsenat ab pH 7 und Dithioarsenat ab pH 4 direkt zu Arsenit reduziert.
11. Präparate mit einem höheren pH-Wert bildeten folglich auch deutlich mehr Thioarsenate aus. Die effektivste Probe ließ über 50 Prozent Thioarsenat entstehen.
12. Als Reaktionsmechanismus kann die Redoxreaktion, bei der das Arsenit oxidiert und Polysulfide reduziert werden, nicht bewiesen aber als sehr wahrscheinlich angesehen werden.
13. Von allen Substanzen lässt Knoblauch mit bis zu 82 Prozent am meisten Arsenat entstehen. Somit kann bestätigt werden, dass abiotisch ein Großteil des Arsenits in Arsenat umgewandelt werden kann.

5. Empfehlungen

Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen sind im Folgenden einige Empfehlungen für künftige Arbeiten dargelegt.

Es wären Untersuchungen bezüglich der Artunterschiede angedacht, welche Arten der Lauchgewächse welche Mengen an Allicin bzw. an reaktiven S-Verbindungen ausbilden können. So sollen die Arten *Allium macrostemon* oder *Allium ampeloprasum* höhere Mengen an Allicin beinhalten [22]. Auch wären Informationen wichtig, welche Verbindungen verstärkt bei welcher Art gebildet werden, also ob eine Art z.B. vermehrt Sulfide bildet. Außerdem sollte auch auf die Stabilität ausgehend von diesen Verbindungen eingegangen werden, also ob es sinnvoll ist in Anwesen- oder Abwesenheit von Luftsauerstoff zu arbeiten. Auch bei der Zubereitung der Extrakte von frischen Substanzen sollte zum einen auf eine einheitliche Zerkleinerung der Substanzen, eventuell mit Hilfe einer Mixvariante oder einer Knoblauchpresse, und zum anderen auf die Verwendung von möglichst frischen Produkten ohne größere Lagerungszeit, um einen möglichst hohen Anteil an flüssigem Extrakt zu erhalten, geachtet werden. Um einen besseren Kontakt zwischen Substanz und Lösung zu erhalten, wäre es auch sinnvoller ein größeres Lösungsvolumen zu verwenden. Auch um das in 4.1 aufgeführte Problem der Adsorption an die Festsubstanz zu beheben, sollten die Proben dementsprechend behandelt werden. Abhilfe könnte eine Verdünnung des Extraktes, entsprechendes Filtern oder auch eine Lagerung ohne die Festsubstanz bringen. Aber auch die Analyse der Sorptionsmasse könnte Aufschluss neue Ergebnisse liefern. Weiter sollte auf eine entsprechende Kalibrierung eingegangen werden, um die analytischen Fehler möglichst gering zu halten (vgl. 4.1).

Auch die Reaktion von reinem Allicin mit Arsenit könnte weiter Aufschluss geben, das dafür benötigte Allicin könnte durch eine optimierte Allicinherstellung mit einer höheren Allicinkonzentration und durch die Verwendung eines organischen Lösungsmittels gewonnen werden.

Weiters Interesse kann auch auf den Einfluss des pH-Wertes auf die Reaktion gelegt werden. Dies wird auch daran deutlich, dass die ergiebigste Probe die mit dem höchsten pH-Wert überhaupt war. Auch eine erneute Zubereitung von Präparaten mit einem höheren pH-Wert in Abwesenheit von Luftsauerstoff würde sicherlich neue Erkenntnisse liefern. Es sollte auch weiter die vom pH-Wert abhängige Bildung der

verschiedenen Thioarsenate untersucht werden, bei welchen Substanzen und unter welchen Bedingungen die unterschiedlichen Thioarsenate gebildet werden. Ob und ab welchem pH-Wert im alkalischen Bereich die Bildung von Thioarsenaten eingeschränkt wird, ist ebenfalls eine interessante Fragestellung. In Bezug auf die Vergleichbarkeit verschiedener Präparate kann auch versucht werden, den pH-Wert erst nach dem Mischen von Arsenit und Extrakt auf den Wert einzustellen, da die Substanzen einen sehr unterschiedlichen Einfluss auf den pH-Wert haben. Weiterhin kann überlegt werden, welche Bedingungen ein entsprechendes Präparat erfüllen müsste und welche Zusammensetzung es haben müsste, um bei der Anwendung am Menschen möglichst viel Arsenit zu oxidieren. Denn bei in-vivo-Versuchen nehmen zusätzlich Enzyme Einfluss auf das Reaktionsmuster und könnten noch zu einer größeren Umwandlung zu Arsenat oder Thioarsenat führen. Auch weitere Toxizitätsuntersuchungen zu den Thioarsenaten könnten weiterhelfen.

6 Zusammenfassung

In Studien, die seit Mitte der 90er Jahre durchgeführt werden, wurde gezeigt, dass die Zytotoxizität von Arsenit für Ratten durch die gleichzeitige Aufnahme von Knoblauch verringert wird. Diese Arbeit baut auf einer Studie auf, die in ihren Experimenten eine Oxidation des Arsenits zu Arsenat für die Reduzierung der Arsen induzierten Toxizität verantwortlich macht. Der Grund dafür wird auf biologisch aktive, lipophile, schwefelhaltige Substanzen im Knoblauch zurückgeführt, die sich aus dem Alliin bilden, wenn man die Zellstruktur zerstört. Für die Speziesanalytik wurde allerdings die Hydridgenerierung verwendet, die definitionsgemäß nur zwischen einer „As(III)“ – und einer „As(V)“-Fraktion unterscheiden kann. Die Analyse in der vorliegenden Arbeit erfolgte dagegen mit Hilfe einer etablierten chromatographischen Trennung und der gleichzeitigen Detektion von As mittels ICP-MS, mit welcher auftretende Arsen-Schwefel-Verbindungen wirklich bestimmt werden können. In dem ersten Teil der Arbeit wurde dies an Mischungen von Arsenit und synthetischen Reinsubstanzen untersucht, die sich aus Allicin bilden können. Der Schwerpunkt der Arbeit wurde auf die mögliche Bildung von Thioarsenaten gelegt, die sich aufgrund der hohen Affinität zwischen Arsen und Schwefel bilden können. Die Oxidation von Arsenit erfolgt durch die Anlagerung eines freien Schwefelatoms im Austausch gegen eine Hydroxidgruppe.

Im Hinblick auf die weltweit große gesundheitliche Relevanz von Arsen im Trinkwasser und auf eine mögliche Hilfe spielt dies eine große Rolle, denn die fünfwertigen Thioarsenate weisen eine deutlich geringere Toxizität als das dreiwertige Arsenit auf. Bei der Analyse der getesteten Reinsubstanzen zeigte die 1:10 Verdünnung der Arsenit-Sulfid-Lösung die größte Wirksamkeit, nach einer Woche wurde über 50 Prozent des Arsenits zu Thioarsenat oxidiert. In dem zweiten Teil der Arbeit wurden Extrakte aus natürlichen Knoblauchverbindungen und ähnliche Arten aus der Familie der Lauchgewächse mit Arsenit vermischt und schließlich analysiert. Außerdem wurden noch unterschiedliche Behandlungsmethoden und verschiedene Bedingungen getestet. Ausgehend von diesen Untersuchungen kann gefolgert werden, dass unterschiedliche Verdünnungsverhältnisse oder auch Bearbeitungsformen wie das Erwärmen oder Schütteln keinen wesentlichen Einfluss auf die Bildung von Thioarsenaten nehmen. Weiter stellten auch die unterschiedlichen Knoblauchverbindungen kein Mittel dar,

um die Ausbeute zu erhöhen. Ebenso ließ die Herstellung in Abwesenheit von Luftsauerstoff und eine längere Standzeit den Thioarsenatanteil nicht steigen. Aber es kann gesagt werden, dass frische Produkte sich als deutlich wirksamer erweisen als Pulver oder Saft. Entgegen den Erwartungen zeigten alle Knoblauchverbindungen die geringste Wirkung, dagegen ließ frischer Lauch mit einem Anteil über 50 Prozent quantitativ am meisten Thioarsenate entstehen. Als sehr entscheidend stellte sich auch der Einfluss des pH-Wertes heraus. Denn schon eine leichte Erhöhung ließ deutlich mehr Thioarsenate entstehen. Und auch für die Stabilität der einzelnen Thioarsenatspezies spielt der pH-Wert eine wichtige Rolle.

In der Arbeit konnte bewiesen werden, dass abiotisch bei einer Reaktion von Arsenit mit natürlichen Extrakten ein Großteil des Arsenits in ungiftigere Thioarsenate umgewandelt werden kann. Zwar geschah das nicht mit Knoblauch, wie ursprünglich angenommen, aber die ursprüngliche Theorie, dass bei abiotischen Versuchen das Arsenit ausschließlich zu Arsenat reagiert, konnte in den durchgeführten Experimenten widerlegt werden. Dennoch zeigte der Knoblauch bezüglich der Arsenatbildung die stärkste Wirkung und ließ in einem Versuch über 80 Prozent entstehen.

Weitere Experimente sollten dahingehend gerichtet sein, eine durch Arsen induzierte Toxizität effektiv behandeln oder vorbeugen zu können. Denkbar wäre es ein Art Präparat, gezielt auf die Arsen oxidierenden Substanzen und den entsprechenden Bedingungen ausgerichtet, zu entwickeln, das auch beim Menschen nachweislich Wirkung zeigt. Dafür könnten die Ergebnisse dieser Arbeit und dahingehende weitere Experimente als Basis dienen. Bis dahin kann den Menschen in den arsenbelasteten Risikogebieten weiterhin die Empfehlung gegeben werden, Knoblauch, Lauch und Zwiebeln als Prävention zu essen.

Literaturverzeichnis

- 1 presstext Nachrichtenagentur GmbH Website;
<http://presstext.at/news/080116003/knoblauch-gegen-arsenvergiftung/>
- 2 SpringerLink Website;
<http://www.springerlink.com/content/32m267x05785037h/>
- 3 Chowdhury R., Dutta A., Chaudhuri S. R. et al. In vitro and in vivo reduction of sodium arsenite induced toxicity by aqueous garlic extract. *Food and Chemical Toxicology* 46, 740-751 (2007)
- 4 Planer-Friedrich B., Wallschläger D. A critical investigation of hydride generation-based arsenic speciation in sulfidic waters. *Environ. Sci. Technol.* 43(13), 5007-13 (2009)
- 5 Stauder S. Schwefelhaltige Arsenspezies in Grundwässern. Dr.-Ing. Dissertation, TU Dresden (2007)
- 6 Colin Baird Environmental Chemistry, W.H. Freeman and Company New York 9, 380-383 (1995)
- 7 Richard Kaukemüller Website; http://ricci-bremen.de/ko_knoblauch.html
- 8 Olov Sterner Chemistry, Health and Environment, Wiley-Vch 12, 292-294 (1999)
- 9 Mattusch J., Wennrich, R. *Microchim Acta* 151, 137-139 (2005)
- 10 O'Day, P.A. Chemistry and Mineralogy of Arsenic, *Elements* 2, 77-82 (2006)
- 11 Forth W., Henschler D., Rummel W. *Pharmakologie und Toxikologie*, B.I.-Wissenschaftsverlag 553-554 (1975)
- 12 Wirth W., Gloxhuber C. *Toxikologie*, Thieme Verlag 97-102 (1981)
- 13 Eisenbrand G., Metzler M. *Toxikologie*, WILEY-VCH 6, 246-247, 252 (2002)
- 14 Rolf Hicker Website; <http://www.hicker.de/knoblauch-netze-spanien-12680-pictures.htm>
- 15 Radulescu & Uerpmann GbR Website;
<http://lexikon.huettenhilfe.de/gewuerze/knoblauch.html>
- 16 Konvicka O. *Knoblauch*, Konvicka- Olomouc Buchholz (2001)
- 17 Fach- und Informationsmedien GmbH Website; www.knobi.com/knoblauch-geschichte.html
- 18 Evannet K. *Genuss ohne Reue*, Oesch Verlag 9-18 (2002)
- 19 Didaktik der Chemie Website; <http://www.old.uni-bayreuth.de/departments/didaktikchemie/umat/knoblauch2/knoblauch2.htm>
- 20 Trevor Mendham Website; <http://www.garlic-central.com/contact.html>
- 21 Medicines Complete Pharmaceutical Press Website,
www.medicinescomplete.com
- 22 PatentDe Website; <http://www.patent-de.com/20071115/DE60216762T2.html>
- 23 Chemie & Pharmazie Website; <http://www-oc.chemie.uni-regensburg.de/Reiser/ChemieAlltag/Knoblauch.pdf>
- 24 Springer Link Website; www.springerlink.com/content/h8013548313m6406
- 25 Ingo Krest Website; www.krest.de/de/diplunddoc/index.htm
- 26 Watzl B. Sulfide. *Ernährungsumschau* 49, 12 (2002)
- 27 Einführung in das Arbeiten unter Inertgasatmosphäre, Institut für Materialchemie, TU Wien;
www.ichemlab.at/ichemlab/dokumente.asp?rowid=474

-
- 28 Royal Society of Chemistry Website,
www.rsc.org/ej/JA/2001/b103577k/b103577k-f1.gif
- 29 Jülich Website; www.fz-juelich.de/zch/icg
- 30 Weber C. Hydrogeologische Verhältnisse des östlichen Trojas. Diplomarbeit, TU Freiberg (2003)
- 31 Seubert A., Wille A. Werkzeuge für die Wasseranalytik, CLB Chemie in Labor und Biotechnik 09-10 (2006)
- 32 Schmidt K.H., Gebel A. Website; <http://www.icp-ms.de/index.html>
- 33 Schindler S. Hydrogeochemische Untersuchung des Grubenwassers im Hagenbachtal bei Gernrode. Diplomarbeit, TU Freiberg (2003)
- 34 B. Planer-Friedrich, J. London, R. B. McCleskey, et al. Environmental Science and Technology 41, 5245 (2007)
- 35 Wallschläger D, Stadey CJ, Analytical Chemistry 79, 3873 (2007)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel Alliin.....	10
Abbildung 2: Entstehung von Allicin.....	11
Abbildung 3: Sulfide im Knoblauch	12
Abbildung 4: Aufbau IC-ICP-MS	22
Abbildung 5: Veränderungen der Sulfide nach 5 Tagen.	30
Abbildung 6: Veränderungen der Speziesverteilung des Sulfides nach 5 Tagen	31
Abbildung 7: Veränderungen der Speziesverteilung des Sulfides durch Sauerstoff .	32
Abbildung 8: zeitliche Veränderungen bezüglich der Thioarsenatentwicklung	39
Abbildung 9: zeitliche Veränderungen von „1g Zwiebel erwärmt“	41
Abbildung 10: „20 g Lauch gemixt (hoher pH)“ mit und ohne Alliin	43
Abbildung 11: Arsenspeziesverteilung von „Lauch unbehandelt“	45
Abbildung 12: Arsenspeziesverteilung bei hohem pH nach 7 Tagen Standzeit	46
Abbildung 13: Vergleich der pH-Werte nach 7 Tagen Standzeit	47
Abbildung 14: zeitliche Entwicklung Alliin 100µM + 20g Knoblauch	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kulturarten der Gattung Lauch (Allium)	8
Tabelle 2: Inhaltsstoffe des Knoblauchs	10
Tabelle 3: Sulfide im Knoblauch	12
Tabelle 4: Verwendete Chemikalien	16
Tabelle 5: Mischung der synth. Lösungen in Abwesenheit von Luftsauerstoff	18
Tabelle 6: Mischung der synth. Lösungen in Gegenwart von Luftsauerstoff	20
Tabelle 7: Hersteller und Konsistenz der natürlichen Substanzen.....	20
Tabelle 8: Konzentrationen der Kalibrierlösungen	24
Tabelle 9: Abweichende Gesamtarsengehalte synthetischer Lösungen.....	25
Tabelle 10: Abweichende Gesamtarsengehalte natürlicher Präparate	26
Tabelle 11: Abweichende Gesamtarsengehalte der Knoblauchsftpräparate.....	27
Tabelle 12: Ergebnisse der Arsenspeziesverteilung der Sulfidlösungen	28
Tabelle 13: Arsenspeziesveränderung der Sulfide nach 5 Tagen Standzeit	29
Tabelle 14: Messung der Arsenspezies in der Sulfidlösung nach 5 Tagen	30
Tabelle 15: Arsenspeziesverteilung der Sulfide nach 6h unter Luftsauerstoff.....	31
Tabelle 16: Vergleich natürlicher Präparate mit und ohne Luftsauerstoff.	33
Tabelle 17: erste Messung der Arsenspeziesverteilung der natürlichen Präparate	35
Tabelle 18: Vergleich der „geschüttelten“ und „erwärmten“ Proben	35
Tabelle 19: Vergleich der Arsenspeziesverteilung von „1g“ und „5g“	36
Tabelle 20: Vergleich von erwärmten und unbehandelten Proben.	37
Tabelle 21: Veränderungen nach 8 und 13 Tagen Reaktionszeit.....	38
Tabelle 22: Gegenüberstellung der 1,5 und der 3 h erwärmten Präparate	40
Tabelle 23: Ergebnis bei einer Zerkleinerung der Substanz erst in der Lösung.	42
Tabelle 24: Veränderungen durch Zugabe von Alliin.....	42
Tabelle 25: Arsenspeziesverteilung bei höheren pH-Wert.....	44
Tabelle 26: pH-Wert und Redoxpotentialveränderung nach 7-tägiger Standzeit	46
Tabelle 27: Arsenspeziesverteilung der Bärlauchpräparate	49

Anhang

Anhang 1: Herstellung der Stammlösungen der synthetischen Präparate.....	60
Anhang 2: Herstellung der Stammlösungen für die Pufferlösung	60
Anhang 3: Herstellung der Stammlösungen für die Kalibrierlösungen	61
Anhang 4: Mischungen der synthetischen Lösungen.....	61
Anhang 5: Messung der synthetische Lösungen in abs. Werten	62
Anhang 6: Messung der synthetische Lösungen in rel. Werten.....	63
Anhang 7: Messung der synthetische Lösungen am 29.06.09 in abs. Werten	63
Anhang 8: Messung der synthetische Lösungen am 29.06.09 in rel. Werten	64
Anhang 9: Veränderung synthetische Lösungen nach 5 Tagen in abs. Werten	64
Anhang 10: Veränderung synthetische Lösungen unter Sauerstoff in abs. Werten...	64
Anhang 11: Messung der natürliche Präparate am 01.07.09 in abs. Werten.....	65
Anhang 12: Messung der natürliche Präparate am 01.07.09 in rel. Werten.....	65
Anhang 13: Messung der natürliche Präparate am 09.07.09 in abs. Werten.....	66
Anhang 14: Messung der natürliche Präparate vom 09.07.09 in rel. Werten.....	66
Anhang 15: Messung der natürliche Präparate am 14.07.09 in abs. Werten.....	67
Anhang 16: Messung der natürliche Präparate am 14.07.09 in rel. Werten.....	67
Anhang 17: Messung der natürliche Präparate am 16.07.09 in abs. Werten.....	68
Anhang 18: Messung der natürliche Präparate am 16.07.09 in rel. Werten.....	69
Anhang 19: Messung der natürliche Präparate am 23.07.09 in abs. Werten.....	69
Anhang 20: Messung der natürliche Präparate am 23.07.09 in rel. Werten.....	70
Anhang 21: Messung pH-Wert und Redoxpotential der synthetischen Lösungen	70
Anhang 22: Messung pH-Wert und Redoxpotential der natürlichen Präparaten	71

Anhang 1: Herstellung der Stammlösungen der synthetischen Präparate

Lösung	Molmasse	Stamm [μM]	Vol [mL]	Reinheit	d(g/ml)	g/mL
Allylsulfid	114,21	1000	100	97	0,887	0,0129
Allyldisulfid	146,28	1000	100	80		0,0183
Dimethyl Disulfid	94,19	2000	100	99	1,062	0,0179
Dimethyl Trisulfid	126,27	2000	50	98		0,0129
Elem. Schwefel	32,06	1000	50	99,98		0,0016
Hyposulfit	174,11	1000	50	95	0,0092	0,0092
Pyrosulfit	190,1	1000	50	99	0,0096	0,0096
Schwefelblüte	32,06	1000	50	100	0,0016	0,0016
Sulfid	240,18	1000	25	99,99		0,0060
Sulfit	126,04	1000	50	97	0,0065	0,0065
Thiosulfat	158,11	1000	50	100	0,0079	0,0079

Anhang 2: Herstellung der Stammlösungen für die Pufferlösung

Lösung	Molmasse	Stammlsg [mM]	Vol [mL]	Reinheit	g/mL
Natriumdihydrogenphosphat	156,02	7,8	100	99	0,1229
Dinatriumhydrogenphosphat	142,13	12,2	100	99	0,1752

Anhang 3: Herstellung der Stammlösungen für die Kalibrierlösungen

Lösung	Molmasse	Stammlsg [mM]	Vol [mL]	Reinheit	g / mL
Ammoniumsulfat	132,14	1000	100	100	0,0132
Arsenat	312,02	1000	100	98,5	0,0317
Arsenit	129,91	1000	100	100	0,0130

Anhang 4: Mischungen der synthetischen Lösungen

Mischung	As(III) ¹ [µL]	S-Spezies ² [µL]	Puffer[mL]	MQ[mL]
As(III)-Allyldisulfid 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Allyldisulfid 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Allylsulfid 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Allylsulfid 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Dimethyl Disulfid 1:1	100	100	5	4,85
As(III)-Dimethyl Disulfid 1:10	100	1000	5	4,4
As(III)-Dimethyl Trisulfid 1:1	100	100	5	4,85
As(III)-Dimethyl Trisulfid 1:10	100	1000	5	4,4
As(III)-Elem. Schwefel 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Elem. Schwefel 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Hyposulfite 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Hyposulfite 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Pyrosulfite 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Pyrosulfite 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Schwefelblüte 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Schwefelblüte 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Sulfid 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Sulfid 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Sulfite 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Sulfite 1:10	100	1000	5	3,9
As(III)-Thiosulfat 1:1	100	100	5	4,8
As(III)-Thiosulfat 1:10	100	1000	5	3,9

¹ von der 1000 Stammlösung² von den 1000 oder 2000 µmolaren Stammlösungen

Anhang 5: Messung der synthetische Lösungen am 24.06.09 und am 29.06.09 in absoluten Werten

Lösungen vom 24.06.09	As(III)	As(V)	Thioarsenate			SUM
			Mono	Di	Tri	
in µM						
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	9,7	0,14	0,03	0,04	0,02	9,9
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	8,8	0,96	0,09	0,29	0,25	10,4
As(III) 10µM, Allylsulfid 10µM	11	0,05	-	0,01	-	11
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	16	0,03	-	0,01	-	16
As(III) 10µM, Allyldisulfid 10µM	10	0,03	-	-	-	10
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	15	0,03	-	-	-	15
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 10µM	9,5	0,03	-	-	-	9,5
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	11	0,03	-	-	-	11,
As(III) 10µM, Dimethyl Trisulfid 10µM	9,4	0,05	-	-	-	9,5
As(III) 10µM, Dimethyl Trisulfid 100µM	12	0,03	-	-	-	12
Lösungen vom 29.06.09						
As(III) 10µM, Thiosulfat 10µM	9,3	0,05	-	0,01	-	9,4
As(III) 10µM, Thiosulfat 100µM	9,5	0,04	-	-	-	9,5
As(III) 10µM, Hyposulfit 10µM	8,6	0,15	-	0,01	-	8,8
As(III) 10µM, Hyposulfit 100µM	8,8	0,48	0,01	0,01	-	9,3
As(III) 10µM, Pyrosulfit 10µM	8,2	0,25	-	-	-	8,6
As(III) 10µM, Pyrosulfit 100µM	7	0,76	-	-	-	7,8
As(III) 10µM, Sulfit 10µM	8,4	0,12	-	0,01	-	8,5
As(III) 10µM, Sulfit 100µM	7,8	0,61	-	-	-	8,4

Anhang 6: Messung der synthetische Lösungen am 24.06.09 und am 29.06.09 in relativen Werten

Lösungen vom 24.06.09	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Dit	Tri	Summe
in %						
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	98	1,5	0,31	0,36	0,22	0,89
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	85	9,3	0,84	2,8	2,4	6,1
As(III) 10µM, Allylsulfid 10µM	99	0,45	-	0,06	-	0,06
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	100	0,19	-	0,04	-	0,04
As(III) 10µM, Allyldisulfid 10µM	100	0,27	-	-	-	-
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	100	0,19	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 10µM	100	0,31	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	100	0,23	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Trisulfid 10µM	99	0,48	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Trisulfid 100µM	100	0,26	-	-	-	-
Lösungen vom 29.06.09						
As(III) 10µM, Thiosulfat 10µM	99	0,54	-	0,11	-	0,11
As(III) 10µM, Thiosulfat 100µM	100	0,42	-	-	-	-
As(III) 10µM, Hyposulfid 10µM	98	1,7	-	0,11	-	0,11
As(III) 10µM, Hyposulfid 100µM	95	5,1	0,11	0,11	-	0,22
As(III) 10µM, Pyrosulfid 10µM	97	3	-	-	-	-
As(III) 10µM, Pyrosulfid 100µM	90	9,9	-	-	-	-
As(III) 10µM, Sulfit 10µM	98	1,4	-	0,12	-	0,12
As(III) 10µM, Sulfit 100µM	93	7,2	-	-	-	-

Anhang 7: Messung der synthetische Lösungen am 29.06.09 in absoluten Werten

Lösungen vom 24.06.09 nach 5 Tagen (29.06.09)	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	Summe
in µM						
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	9,4	0,37	0,11	0,12	0,12	10
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	3,7	0,96	0,7	1,5	3,2	10
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	19	0,05	0,01	0,07	0,05	19
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	18	0,07	-	-	-	18
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	14	0,14	-	-	-	14
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM	14	0,1	-	0,01	-	14
Lösungen vom 24.06.09 nach 6h unter Luftsauerstoff						
As(III) 10µM, Sulfid 100µM (6h O2)	3,2	0,94	0,77	1,8	2	8,7
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM (6h O2)	18	0,07	0,02	0,04	0,05	18
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM (6h O2)	17	0,08	-	0,01	-	17
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM (6h O2)	13	0,17	-	-	-	13
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM (6h O2)	14	0,11	0,01	-	-	14

Anhang 8: Messung der synthetische Lösungen am 29.06.09 in relativen Werten

Lösungen vom 24.06.09 nach 5 Tagen (29.06.09)	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	Summe
in %						
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	93	3,7	1,1	1,2	1,2	3,5
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	37	9,5	6,9	15	32	54
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	99	0,26	0,05	0,36	0,26	0,67
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	100	0,39	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	99	0,98	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM	99	0,69	-	0,07	-	0,07
Lösungen vom 24.06.09 nach 6h unter Luftsauerstoff						
As(III) 10µM, Sulfid 100µM (6h O2)	37	11	8,8	20	24	53
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM (6h O2)	99	0,39	0,11	0,22	0,28	0,61
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM (6h O2)	99	0,47	-	0,06	-	0,06
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM (6h O2)	99	1,3	-	-	-	-
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM (6h O2)	99	0,8	0,07	-	-	0,07

Anhang 9: Veränderung synthetische Lösungen nach 5 Tagen in absoluten Werten

synthetische Lösungen	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Dit	Tri	SUM
in µM						
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	-0,36	0,23	0,08	0,08	0,10	0,13
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	-5	-	0,61	1,3	3	-0,09
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	2,9	0,02	0,01	0,06	0,05	3,0
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	7,8	0,04	-	-	-	7,8
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	3	0,11	-	-	-	3,1
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM	2,5	0,07	-	0,01	-	2,6

Anhang 10: Veränderung synthetische Lösungen nach 6h unter Luftsauerstoff in absoluten Werten

Synthetische Lösungen vom 24.06.09	As(III)	As(V)	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	SUM
in µM						
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	-0,5	-	0,07	0,24	-1,2	-1,4
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	-1,1	0,02	0,01	-	-	-1,1
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	-1,1	0,01	-	0,01	-	-1,1
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	-0,8	0,03	-	-	-	-0,77
As(III) 10µM, Dimethyl Triisulfid 100µM	-0,8	0,01	0,01	-	-	-0,78

Anhang 11: Messung der natürliche Präparate am 01.07.09 in absoluten Werten

Präparate ¹ vom 01.07.09	Thioarsenate				
	As(III)	As(V)	Mono	Di	Summe
in µM					
1g Knoblauchsft geschüttelt	8,5	0,16	-	-	8,7
10g Knoblauchsft geschüttelt	3,8	0,13	-	-	3,9
1g Knoblauchsft erwärmt	8,3	0,14	-	-	8,4
10g Knoblauchsft erwärmt	3,7	0,11	-	-	3,8
1g Knoblauchpulver geschüttelt	8,3	0,58	-	-	8,9
1g Knoblauchpulver erwärmt	5,8	0,32	-	-	6,1
1g frischer Knoblauch geschüttelt	7,2	1,2	0,02	-	8,4
1g frischer Knoblauch erwärmt	7,6	0,94	0,02	-	8,6
5g frischer Knoblauch geschüttelt	6,8	0,74	0,02	-	7,6
1g Bärlauchsft geschüttelt	8,1	0,5	-	-	8,6
10g Bärlauchsft geschüttelt	2,8	0,86	-	-	3,7
1g Bärlauchsft erwärmt	17	1,3	-	-	18
10g Bärlauchsft erwärmt	5,2	1,4	-	-	6,6
1g frischer Lauch geschüttelt	15	1,7	0,07	-	17
5g frischer Lauch geschüttelt	5,5	4,9	0,03	-	10
1g frischer Lauch erwärmt	15	1,5	0,1	0,05	17
1g frische Zwiebel geschüttelt	17	0,68	0,04	-	18
1g frische Zwiebel erwärmt	16	0,95	0,06	0,02	17,58

Anhang 12: Messung der natürliche Präparate am 01.07.09 in relativen Werten

Präparate ¹ vom 01.07.09	Thioarsenate				
	As(III)	As(V)	Mono	Di	Summe
in %					
1g Knoblauchsft geschüttelt	98	1,9	-	-	-
10g Knoblauchsft geschüttelt	97	3,3	-	-	-
1g Knoblauchsft erwärmt	98	1,7	-	-	-
10g Knoblauchsft erwärmt	97	2,9	-	-	-
1g Knoblauchpulver geschüttelt	93	6,5	-	-	-
1g Knoblauchpulver erwärmt	95	5,3	-	-	-
1g frischer Knoblauch geschüttelt	85	14	0,24	-	0,24
1g frischer Knoblauch erwärmt	89	11	0,24	-	0,24
5g frischer Knoblauch geschüttelt	90	9,7	0,26	-	0,26
1g Bärlauchsft geschüttelt	94	5,8	-	-	-
10g Bärlauchsft geschüttelt	76	24	-	-	-
1g Bärlauchsft erwärmt	93	7,2	-	-	-
10g Bärlauchsft erwärmt	79	21	-	-	-

1g frischer Lauch geschüttelt	90	9,9	0,41	-	0,41
5g frischer Lauch geschüttelt	53	47	0,29	-	0,29
1g frischer Lauch erwärmt	90	9	0,62	0,31	0,93
1g frische Zwiebel geschüttelt	96	3,9	0,23	-	0,23
1g frische Zwiebel erwärmt	94	5,5	0,35	0,12	0,47

Anhang 13: Messung der natürliche Präparate am 09.07.09 in absoluten Werten

Präparate ¹ vom 01.07.09	As		Thioarsenate		Summe
	As(III)	As(V)	Mono	Di	
in µM					
1g Knoblauchsaff unbehandelt	3,6	0,22	0,15	-	4,0
10 g Knoblauchsaff unbehandelt	3,2	0,22	-	-	3,4
1g Bärlauchsaff unbehandelt	6,2	0,27	0,05	0,04	6,6
10 g Bärlauchsaff unbehandelt	2,4	0,70	-	-	3,1
1g Knoblauchpulver unbehandelt	7,5	0,53	0,01	-	8,0
1g frischer Knoblauch unbehandelt	6,7	1	0,01	-	7,7
1g frischer Lauch unbehandelt	8,9	1,6	0,02	0,03	11
5 g frischer Lauch unbehandelt	0,41	0,45	-	0,01	0,87
1 g frischer Zwiebel unbehandelt	4,4	0,36	0,09	0,14	5,0
1g Lauch erwärmt	5,9	0,36	0,02	0,04	6,3
5g Lauch geschüttelt	0,84	0,21	0,01	0,04	1,1

Anhang 14: Messung der natürliche Präparate vom 09.07.09 in relativen Werten

Präparate ¹ vom 09.07.09	As		Thioarsenate		Summe
	As(III)	As(V)	Mono	Di	
in %					
1g Knoblauchsaff unbehandelt	91	5,5	3,9	-	3,9
10 g Knoblauchsaff unbehandelt	93	6,5	-	-	-
1g Bärlauchsaff unbehandelt	95	4,1	0,70	0,64	1,3
10 g Bärlauchsaff unbehandelt	77	23	-	-	0,07
1g Knoblauchpulver unbehandelt	93	6,5	0,07	-	0,07
1g frischer Knoblauch unbehandelt	87	13	0,16	-	0,16
1g frischer Lauch unbehandelt	85	15	-	0,24	0,24
5 g frischer Lauch unbehandelt	47	52	0,16	0,82	0,98
1 g frischer Zwiebel unbehandelt	88	7,1	1,7	2,8	4,5
1g Lauch erwärmt	93	5,6	0,36	0,70	1,1
5g Lauch geschüttelt	77	19	1,2	3,64	4,8

Anhang 15: Messung der natürliche Präparate am 14.07.09 in absoluten Werten

Präparate ¹ vom 01.07.09			Thioarsenate			
	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	SUM
in µM						
1g Zwiebel erwärmt	10	5,3	0,03	-	-	16
1g Zwiebel geschüttelt	1,1	0,09	-	-	-	1,2
Präparate¹ vom 09.07.09						
1g Lauch erwärmt 1.5 h	8,5	0,4	0,08	0,07	-	9,1
1g Zwiebel erwärmt 1.5 h	8,2	0,3	0,04	0,01	0,02	8,6
1g Knoblauch erwärmt 1.5 h	8,8	0,54	0,02	-	-	9,4
1g Lauchzwiebel erwärmt 1.5 h	8,9	0,34	0,06	0,02	0,02	9,3
1g Lauch erwärmt 3 h	8,4	0,26	0,07	0,06	-	8,8
1g Zwiebel erwärmt 3 h	7,2	0,18	0,03	0,11	0,56	8,1
1g Knoblauch erwärmt 3 h	8,7	0,34	0,02	-	-	9,0
1g Lauchzwiebel erwärmt 3 h	7,7	0,22	0,06	0,03	-	8,0
1g Lauchzwiebel unbehandelt	5,8	0,14	0,05	0,02	-	6,0
1g Lauchzwiebel in Lösung gemörsert	7,7	0,17	0,02	-	-	7,9
1g Lauch in Lösung gemörsert	5,8	0,74	0,02	-	-	6,6
1g Knoblauch in Lösung gemörsert	5,9	0,84	0,02	-	-	6,8
1g Lauch in glovebox	5,9	0,54	0,02	-	-	6,4
1g Knoblauch in glovebox	5,8	0,52	0,02	-	-	6,4
1g Zwiebel in glovebox	0,38	0,06	0,02	0,02	-	0,5
1g Lauchzwiebel in glovebox	2,1	0,23	0,02	0,02	-	2,4
Präparate¹ vom 14.07.09						
Aliin 100 µM	7	0,04	-	-	-	7
Aliin 100 µM + 20 g Knoblauch	4,3	1,9	0,01	-	-	6,2

Anhang 16: Messung der natürliche Präparate am 14.07.09 in relativen Werten

Präparate ¹ vom 01.07.09			Thioarsenate			
	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	SUM
in %						
1g Zwiebel erwärmt	66	33,55	0,22	-	-	0,22
1g Zwiebel geschüttelt	92	7,66	-	-	-	-
Präparate¹ vom 09.07.09						
1g Lauch erwärmt 1.5 h	94	4,46	0,84	0,77	-	1,6
1g Zwiebel erwärmt 1.5 h	96	3,47	0,5	0,09	0,23	0,82
1g Knoblauch erwärmt 1.5 h	94	5,81	0,22	-	-	0,22
1g Lauchzwiebel erwärmt 1.5 h	95	3,65	0,65	0,23	0,21	1,1
1g Lauch erwärmt 3 h	96	3	0,74	0,69	-	1,4
1g Zwiebel erwärmt 3 h	89	2,26	0,42	1,4	7,0	8,8

1g Knoblauch erwärmt 3 h	96	3,76	0,21	-	-	0,21
1g Lauchzwiebel erwärmt 3 h	96	2,74	0,79	0,37	-	1,2
1g Lauchzwiebel unbehandelt	97	2,3	0,8	0,37	-	1,2
1g Lauchzwiebel in Lösung gemörsert	98	2,14	0,29	-	-	0,29
1g Lauch in Lösung gemörsert	88	11,36	0,25	-	-	0,25
1g Knoblauch in Lösung gemörsert	87	12,34	0,31	-	-	0,31
1g Lauch in glovebox	91	8,41	0,27	-	-	0,27
1g Knoblauch in glovebox	92	8,11	0,29	-	-	0,29
1g Zwiebel in glovebox	80	12,56	3,5	3,43	-	6,9
1g Lauchzwiebel in glovebox	89	9,78	0,82	0,73	-	1,6
Präparate¹ vom 14.07.09						
Aliin 100 µM	99	0,59	-	-	-	0,03
Aliin 100 µM + 20 g Knoblauch	70	30,3	0,11	-	-	0,12

Anhang 17: Messung der natürliche Präparate am 16.07.09 in absoluten Werten

Präparate ¹ vom 29.06.09	As(III))	As(V))	Thioarsenate			
			Mono	Di	Tri	SUM
in µM						
1g Knoblauchsft unbehandelt	0,35	-	0,04	0,02	-	0,41
Präparate¹ vom 01.07.09						
1g Lauch unbehandelt	10	0,91	0,16	0,08	-	12
5g Lauch geschüttelt	1,6	-	0,03	0,03	-	1,7
1g Zwiebel unbehandelt	6,9	-	0,03	0,04	-	7
Präparate¹ vom 09.07.09						
1g Lauch erwärmt 1.5 h	5,9	0,03	0,05	0,02	-	6,0
1g Zwiebel erwärmt 3 h	4,0	-	0,02	0,04	-	4,0
1g Zwiebel in Glovebox	0,65	-	0,01	0,02	-	0,69
Präparate¹ vom 14.07.09						
20g Knoblauch + ALLIIN 100µM	2,7	3,3	0,01	-	-	6,1
Präparate¹ vom 16.07.09						
1g Lauch unbehandelt (hoher pH)	2,9	0,21	2,5	0,50	0,29	6,4
1g Zwiebel unbehandelt (hoher pH)	5,1	0,08	0,18	0,01	-	5,3
1g Knoblauch unbehandelt (hoher pH)	5,8	0,82	0,03	-	-	6,6
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH)	2,5	0,65	2,7	0,04	0,01	5,9
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH)	6,0	0,15	0,58	0,01	-	6,7
1g Knoblauch 3 h erwärmt (hoher pH)	5,6	0,77	0,02	-	-	6,3
20g Lauch gemixt (hoher pH)	3,8	2,7	0,47	0,05	0,01	7,0
20g Lauch gemixt (hoher pH).	4,9	1,6	0,43	-	-	6,9

Anhang 18: Messung der natürliche Präparate am 16.07.09 in relativen Werten			Thioarsenate			
Präparate ¹ vom 29.06.09	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	SUM
in %						
1g Knoblauchsaff unbehandelt	87	-	8,7	3,9	-	13
Präparate ¹ vom 01.07.09						
1g Lauch unbehandelt	90	7,80	1,4	0,69	-	2,1
5g Lauch geschüttelt.	97	-	1,5	1,7	-	3,2
1g Zwiebel unbehandelt	99	-	0,36	0,62	-	1
Präparate ¹ vom 09.07.09						
1g Lauch erwärmt 1.5 h	98	0,50	0,79	0,34	-	1,1
1g Zwiebel erwärmt 3 h	98	-	0,58	0,91	-	1,6
1g Zwiebel in Glovebox	94	-	1,9	3,5	-	5,4
Präparate ¹ vom 14.07.09						
20g Knoblauch + ALLIIN 100µM.	45	55	0,19	-	-	0,19
Präparate ¹ vom 16.07.09						
1g Lauch unbehandelt (hoher pH)	445	3,3	39	7,8	4,5	52
1g Zwiebel unbehandelt (hoher pH).	95	1,5	3,3	0,11	-	3,4
1g Knoblauch unbehandelt (hoher pH)	87	12	0,52	-	-	0,52
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH).	42	11	46	0,60	0,09	47
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH)	89	2,2	8,6	0,11	-	8,7
1g Knoblauch 3 h erwärmt (hoher pH)	88	12	0,3	-	-	0,3
20g Knoblauch + ALLIIN 100µM.	45	55	0,19	0,01	0,01	0,21
20g Lauch gemixt (hoher pH)	54	38	6,8	-	-	6,8
20g Lauch gemixt (hoher pH) + Alliin 100 µM	70	23	6,2	0,04	0,03	6,27

Anhang 19: Messung der natürliche Präparate am 23.07.09 in absoluten Werten			Thioarsenate			
Präparate ¹ vom 09.07.09	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	SUM
in µM						
1g Zwiebel erwärmt 3 h	3,3	1,2	0,01	0,02	-	4,5
1g Zwiebel in Glovebox	1,4	0,3	-	0,01	-	1,7
Präparate ¹ vom 14.07.09						
20g Knoblauch gemixt (hoher pH) +Alliin 100µM	0,53	2,6	0,01	0,01	-	3,2
Präparate ¹ vom 16.07.09						
1g Lauch unbehandelt (hoher pH)	1,1	0,25	0,01	0,01	0,01	1,3
1g Zwiebel unbehandelt (hoher pH)	0,79	0,06	0,01	0,01	0,01	0,87
1g Knoblauch unbehandelt (hoher pH)	5,5	1,4	0,01	-	-	6,9
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH)	0,56	0,11	0,01	0,02	-	0,69
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH)	0,8	0,05	0,01	0,01	-	0,87
1g Knoblauch 3 h erwärmt (hoher pH)	3,4	1,3	0,01	0,01	-	4,7
20g Lauch gemixt (hoher pH) +Alliin 100µM	1,2	0,18	0,01	-	-	1,4

Anhang 20: Messung der natürliche Präparate am 23.07.09 in relativen Werten			Thioarsenate			
Präparate ¹ vom 09.07.09	As(III)	As(V)	Mono	Di	Tri	SUM
in %						
1g Zwiebel erwärmt 3 h	73	27	0,16	0,39	-	0,55
1g Zwiebel in Glovebox	82	18	-	0,36	-	0,36
Präparate ¹ vom 14.07.09						
20g Knoblauch gemixt (hoher pH) +Alliin 100µM	17	82	0,43	0,25	-	0,68
Präparate ¹ vom 16.07.09						
1g Lauch unbehandelt (hoher pH)	79	19	0,45	1	0,68	2,2
1g Zwiebel unbehandelt (hoher pH)	90	6,8	0,90	1,1	0,80	2,8
1g Knoblauch unbehandelt (hoher pH)	80	20	0,14	-	-	0,14
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH)	80	16	0,75	2,8	-	3,5
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH)	93	5,2	0,98	0,96	-	1,9
1g Knoblauch 3 h erwärmt (hoher pH)	72	28	0,15	0,15	-	0,30
20g Lauch gemixt (hoher pH) +Alliin 100µM	87	13	0,50	-	-	0,50

Anhang 21: Messung pH-Wert und Redoxpotential der synthetischen Lösungen

synth. Lösungen vom 24.06.09, gemessen am 13.07.09	pH	RP
As(III) 10µM, Sulfid 10µM	7,34	-118,8
As(III) 10µM, Sulfid 100µM	7,36	-143,9
As(III) 10µM, Allylsulfid 10µM	7,34	21,7
As(III) 10µM, Allylsulfid 100µM	7,44	-1,9
As(III) 10µM, Allyldisulfid 10µM	7,31	30,5
As(III) 10µM, Allyldisulfid 100µM	7,44	-0,7
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 10µM	7,3	17,2
As(III) 10µM, Dimethyl Disulfid 100µM	7,39	-48,1
As(III) 10µM, Dimethyl Trisulfid 10µM	7,3	-115,1
As(III) 10µM, Dimethyl Trisulfid 100µM	7,36	-125,5
synthetische Lösungen vom 29.06.09		
As(III) 10µM, Thiosulfat 10µM	7,25	149,3
As(III) 10µM, Thiosulfat 100µM	7,24	153,4
As(III) 10µM, Hyposulfit 10µM	7,22	134,2
As(III) 10µM, Hyposulfit 100µM	7,2	-25,6
As(III) 10µM, Pyrosulfit 10µM	7,22	46,2
As(III) 10µM, Pyrosulfit 100µM	7,2	68,5
As(III) 10µM, Sulfit 10µM	7,23	80,3
As(III) 10µM, Sulfit 100µM	7,22	93,7

Anhang 22: Messung pH-Wert und Redoxpotential der natürlichen Präparaten

natürliche Präparate vom 01.07.09, gemessen am 09.07.09		
1g Knoblauchsaft unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,25	-92
10 g Knoblauchsaft unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,97	-69
1g Bärlauchsaff unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	5,32	-83
10 g Bärlauchsaff unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,93	-107
1g Knoblauchpulver unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	5,99	-32
1g frischer Knoblauch unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	5,96	-30
1g frischer Lauch unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	3,92	-55
5 g frischer Lauch unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	4,11	-14
1 g frischer Zwiebel unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	5,1	-160
1g Lauch erwärmt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,03	-183
5g Lauch geschüttelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	5,4	-106
1g Zwiebel erwärmt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	5,81	35
1g Zwiebel geschüttelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	4,96	-142
natürliche Präparate vom 09.07.09		
1g Lauch erwärmt 1.5 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,6	-96
1g Zwiebel erwärmt 1.5 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,85	-83
1g Knoblauch erwärmt 1.5 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,07	-90
1g Lauchzwiebel erwärmt 1.5 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,75	-108
1g Lauch erwärmt 3 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,62	-104
1g Zwiebel erwärmt 3 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,88	-108
1g Knoblauch erwärmt 3 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,65	-99
1g Lauchzwiebel erwärmt 3 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,05	-66
1g Lauchzwiebel unbehandelt + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,57	-193
1g Lauchzwiebel in Lösung gemörsert + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,65	-95
1g Lauch in Lösung gemörsert + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,55	-114
1g Knoblauch in Lösung gemörsert + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	n.g.	n.g.
1g Lauch in glovebox + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,96	-76
1g Knoblauch in glovebox + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,55	-90
1g Zwiebel in glovebox + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,85	-101
1g Lauchzwiebel in glovebox + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	6,88	-112
natürliche Präparate vom 14.07.09		
Alliin 100µM+As(III)10µM	7,27	-17
20g Knoblauch gemixt+ Alliin 100µM+As(III)10µM	6,93	-105
natürliche Präparate vom 16.07.09		
1g Lauch unbehandelt (hoher pH) + 10 µM As(III)	9,19	-178
1g Zwiebel unbehandelt (hoher pH) + 10 µM As(III)	7,4	-68
1g Knoblauch unbehandelt (hoher pH) + 10 µM As(III)	7,68	-64

1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH) + 10 µM As(III)	6,8	-30
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH) + 10 µM As(III)	6,8	-9
1g Knoblauch 3 h erwärmt (hoher pH) + 10 µM As(III)	6,8	-32
20g Lauch gemixt (hoher pH) + 10 µM As(III)	7,76	-119
20g Lauch gemixt (hoher pH) + 10 µM As(III) +Alliin 100µM	7,4	10
natürliche Präparate vom 23.07.09		
1g Lauch unbehandelt (hoher pH) + 10 µM As(III)	5,27	-180
1g Zwiebel unbehandelt (hoher pH) + 10 µM As(III)	5,35	-183
1g Knoblauch unbehandelt (hoher pH) + 10 µM As(III)	6,27	-152
1g Lauch 3 h erwärmt (hoher pH) + 10 µM As(III)	3,82	-47
1g Zwiebel 3 h erwärmt (hoher pH) + 10 µM As(III)	4,95	-136
1g Knoblauch 3 h erwärmt (hoher pH) + 10 µM As(III)	6,21	-80
20g Knoblauch gemixt (hoher pH) + 10 µM As(III) +Alliin 100µM	7,57	-180
20g Lauch gemixt (hoher pH) + 10 µM As(III) +Alliin 100µM	5,31	-94
1g Zwiebel erwärmt 3 h + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	3,69	6,6
1g Zwiebel in Glovebox + 10 µM As(III) in 10 mM P-Puffer	n.g.	n.g.

¹ + 10 uM As(III) in 10 mM P-Puffer