

# Reinigung von Kieselalgen mit Hypochlorit

## von felix

v1.02 [Last change 20130615]

Nachdem einige Forenmitglieder hier Positives über ein relativ einfaches Verfahren, Kieselalgen mit "Haushaltsreinigern" zu säubern, berichtet haben, bin ich neugierig geworden. Die Reiniger, die genannt wurden, reichten von "Rohrreinigern" zu "Bleichmitteln", alle in Drogeriemärkten erhältlich.

**Rohrreiniger** basieren auf *Natriumhydroxid* (NaOH, Natronlauge, Ätznatron) als wichtigstem wirksamen Bestandteil. Diese Reiniger sind ungeeignet, da sie die Schalen sehr schnell und praktisch unkontrollierbar verätzen können.

**Bleichmittel** enthalten neben diversen, meist nicht näher beschriebenen Tensiden, *Natriumhypochlorit* (NaClO) in Konzentrationen von 2,4 bis 5%. Manche als "Bleichreiniger" beschriebene Produkte enthalten sowohl NaOH als auch NaClO. In Frage kommen nur solche Reiniger, die, neben Tensiden, *ausschließlich* NaClO enthält. Als "Eau de Javelle" wird z.B. ein Bleichmittel mit 2,4% NaClO verkauft.

Ich war zunächst skeptisch, was die genannten Haushaltsreiniger angeht, da einerseits Natriumhydroxid definitiv kein geeignetes Mittel ist und bei meinen früheren Tests mit Natriumhypochlorit, die Reinigungswirkung nicht ausreichend war.

In der Zeitschrift *Diatom Research* erscheint demnächst folgender Artikel:

- Friedrichs, L., A simple cleaning and fluorescent staining protocol for recent and fossil diatom frustules, *Diatom Research* (2013), 1-11.

In dem Artikel wird von erfolgreicher Reinigung mit NaClO berichtet. Der Autor berichtet von einem Verfahren, in dem das Material in 10-20 Minuten in 1+10 Verdünnung von 5% NaClO gereinigt wird. Darauf habe ich zunächst mit Unglauben reagiert. Und, tatsächlich, wenn man weiterliest, wird deutlich, daß es sich um Proben handelt, bei denen die einzige nennenswerte organische Beimengung der Zellinhalt der Kieselalgen ist (Reinkulturen) oder der Zellinhalt selbst schon weitgehend zerstört ist (fossiles Material). Das ist natürlich keine repräsentative Auswahl von Proben. Die Frage, was man mit "normalen" Proben macht, bleibt in dem Aufsatz also unbeantwortet. Immerhin enthält der Aufsatz eine quantitative Auswertung der Proben, wonach bei Reinigung in NaClO das Artenspektrum praktisch vollständig erhalten bleibt – und das weitgehend auch bei Ausdehnung der Reinigungszeit. Auch – und entgegen landläufiger Meinung – war die Anzahl der aus dem Gürtel gelösten Schalen nicht deutlich geringer als bei Verfahren mit heißer Säure. Ermutigend.

Friedrichs verweist auf einen älteren Aufsatz:

- Carr, J. M.; Hergenrader, G. L. & Troelstrup, Nels H., J., A Simple, Inexpensive Method for Cleaning Diatoms, *Transactions of the American Microscopical Society* 105, (1986), 152-157.  
Abstract: Diatom frustules are rapidly and inexpensively cleared of protoplasts using commercially available bleach (5.25% sodium hypochlorite). A comparison of

periphyton subsamples cleaned by the bleach method described, and the standard nitric acid/potassium dichromate method, showed little difference in the extent to which frustules are disjoined (hypotheca from epitheca). A community analysis of subsamples showed no differences in taxa or disappearance of small forms when comparing the two methods. No sample heating, subsequent treatment, or fume hoods are required for this procedure.

Die Autoren dieses Aufsatzes haben die Methode an "richtigen" Proben ausprobiert, mit NaClO-Konzentrationen von bis zu 2% und Zeiten bis zu 4 h. Daraufhin habe ich mich entschlossen, das folgende Verfahren einmal auszuprobieren.

## Das Verfahren

Die Probe stammt aus einem Teich im Saar-Hunsrück. Steine vom Ufer wurden abgebürstet. (Nach den Regenfällen der vergangenen Wochen, war das Material leider voller Ton und feinem Sediment, was sehr schwierig abzutrennen ist.)

Die Probe wurde zunächst durch ein Teesieb gestrichen, um gröbere Beimengungen abzutrennen.

Sodann wurde die Probe 24h kalt in Salzsäure (ca 10%) vorgereinigt und danach ausgewaschen. Zwar war das Material nicht kalkhaltig, aber eine Vorbehandlung in Salzsäure erleichtert immer die anschließende Reinigung.

In diesem Zustand war die Probe frei von groben organischen Beimengungen. Auch Gallertschläuche waren durch die Vorbehandlung schon gelöst.

### Verfahren mit NaClO

- Etwa 1ml Probenmaterial in ein Zentrifugenglas auf 3ml mit AqDest aufgefüllen.
- Darauf 3ml Eau de Javelle (NaClO 2,4%) geben. (Also Probe in ca. 1,2% NaClO.)
- Während einer Stunde wird die Probe etwa alle 10m gut bewegt.
- In einer Zentrifuge auswaschen.
- Dekantieren ...

## Der Test

Zum Vergleich wurde ein Teil derselben Probe mit einem Säureverfahren behandelt. Ich wähle für Frischproben zwischen drei Verfahren:

1. Schwefelsäure heiß mit Salpeter;
2. Schwefelsäure kalt mit Bichromat;
3. Peroxid mit KaPermanganat oder Bichromat.

Die ersten zwei Verfahren sind etwa gleichwertig. Das dritte Verfahren muß oft mehrmals angewandt werden, um zu einem befriedigenden Resultat zu gelangen. Anschließend werden die Proben immer in einer alkalischen Peroxid-Lösung nachbehandelt.

In diesem Fall habe ich mich für 2 entschieden. Im Detail:

## Verfahren mit Schwefelsäure und Bichromat und

- Etwas ein halber Teelöffel Material (nach Salzsäure-Vorbehandlung) in ein Becherglas.
- Darauf konzentrierte Schwefelsäure (etwa 8ml).
- Dazu die halbe Materialmenge KaBichromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) krist.
- Gut umschwenken, 24h stehen lassen, immer wieder bewegen.
- Auswaschen in Leitungswasser per Sedimentation.

### Peroxid-Nachbehandlung:

- Ausgewaschenes Material in ein Becherglas (150ml).
- Etwas Peroxid dazu, 10 Tropfen Soda (10%) und auf 40ml auffüllen; 30m erhitzen (80 Grad).
- Eine Messerspitze NaPyrophosphat dazu und weitere 30m heiß stehen lassen. Immer wieder bewegen.
- Auswaschen.
- Dekantieren ...

## Das Ergebnis

Nach der NaClO-Reinigung waren die Schalen sauber und lagen frei. Reste von organischen Beimengungen waren noch vorhanden, störten aber nicht. Die Untersuchung im REM zeigte, daß die Schalen nicht verätzt waren.

Die Reinigung in Säure beseitigte zuverlässig alles organische Material. Dadurch machte die Probe insgesamt einen saubereren Eindruck. Sicher hätte auch die Probe nach der NaClO-Reinigung von einer Peroxid-Nachbehandlung noch profitiert. Mich interessierte aber zunächst einmal der reine NaClO-Effekt. Die LM-Bilder machen übrigens deutlich, daß die Abtrennung von feinem Sediment das Hauptproblem bei diesem Material ist. Das Dekantieren wurde bei der Säure-Probe etwas weiter getrieben als bei der NaClO-Probe, weshalb letztere stärker "versandet" ist. Das hat aber nichts mit der Reinigung von *organischem* Material zu tun.

## Zusammenfassung

Der Erfolg der Verfahrens mit NaClO scheint wesentlich davon abhängig zu sein, daß das Material möglichst wenige organische Beimengungen enthält. Je besser diese Bedingung erfüllt ist, desto näher reicht es im Resultat an Säure-Verfahren heran. Darin gleich es übrigens dem oben unter 3 genanntem Verfahren mit Peroxid+Oxidans. Im einzelnen hat das Verfahren mit NaClO diese Vorteile:

- Die Chemie ist frei erhältlich und billig.
- Das Verfahren ist "kalt", d.h. es entstehen keine giftigen Dämpfe.
- Eine Nachbehandlung mit Peroxid+Alkali (wie oben beschrieben) erübrigt sich oft, da NaClO selbst schon stark alkalisch ist.

Dagegen hat das Säure-Verfahren diese Vorteile:

- Organische Bestandteile werden sicher zerstört, auch bei stärker verunreinigten Proben.
- Größere Menge können gereinigt werden (aber auch hier gilt: je weniger, desto besser).
- Das Verfahren ist weniger riskant bei schwach verkieselten Formen (viele marine Algen).

Es darf nicht vergessen werden, daß NaClO ein starkes Alkali ist, das im Prinzip Kieselsäure zersetzt. Für kritische Arbeiten ist daher ein Säureverfahren (oder allein Peroxid) immer vorzuziehen. Mit dieser Warnung versehen, steht das Verfahren mit NaClO nicht schlecht da. Insbesondere für fossile Proben scheint es mir einen Versuch wert zu sein, da für den Aufschluß ein Alkali meist eh vorteilhaft ist.

Dank an die Forumsmitglieder, die mich erneut auf das Verfahren aufmerksam gemacht haben.

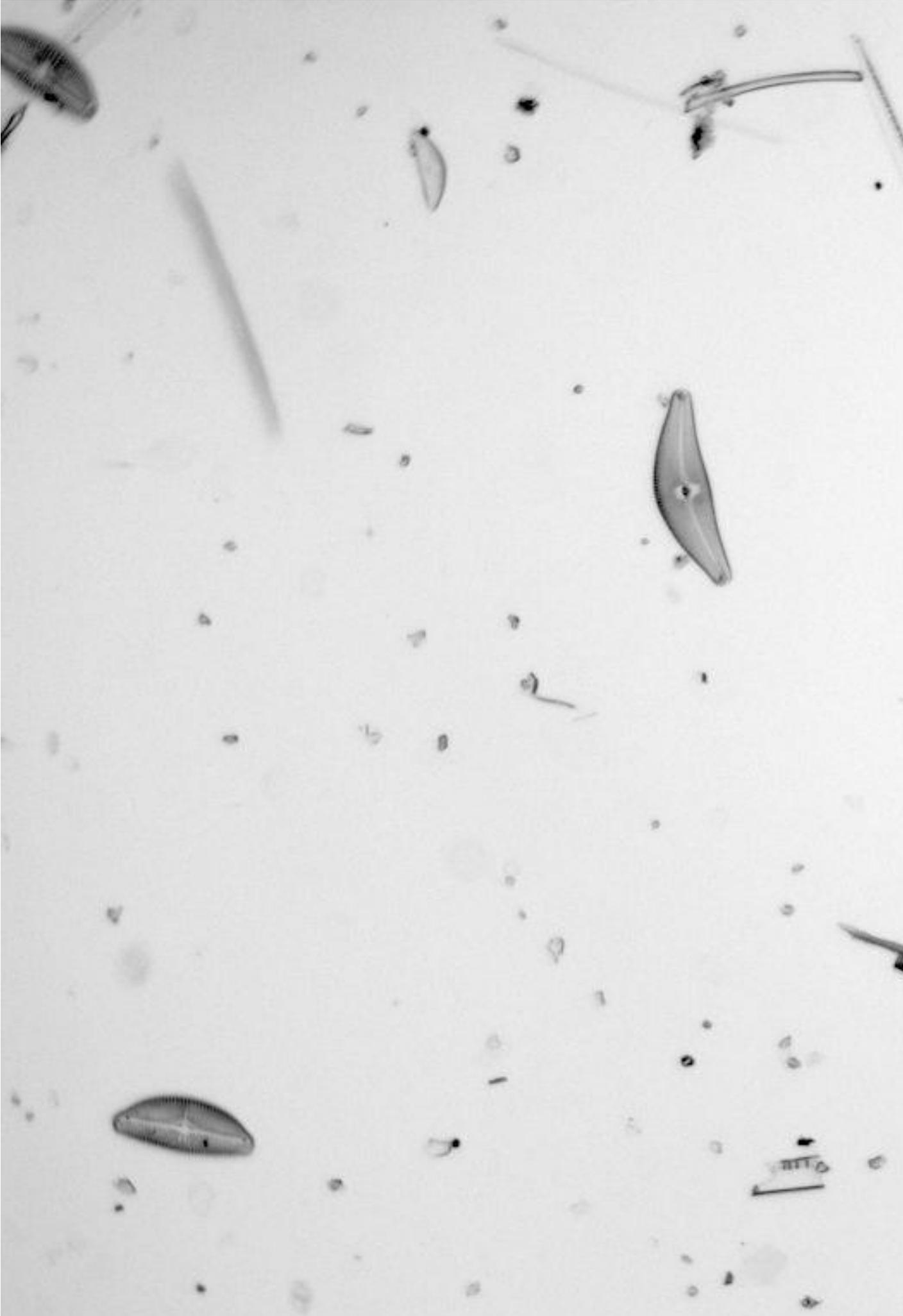
Juni 2013

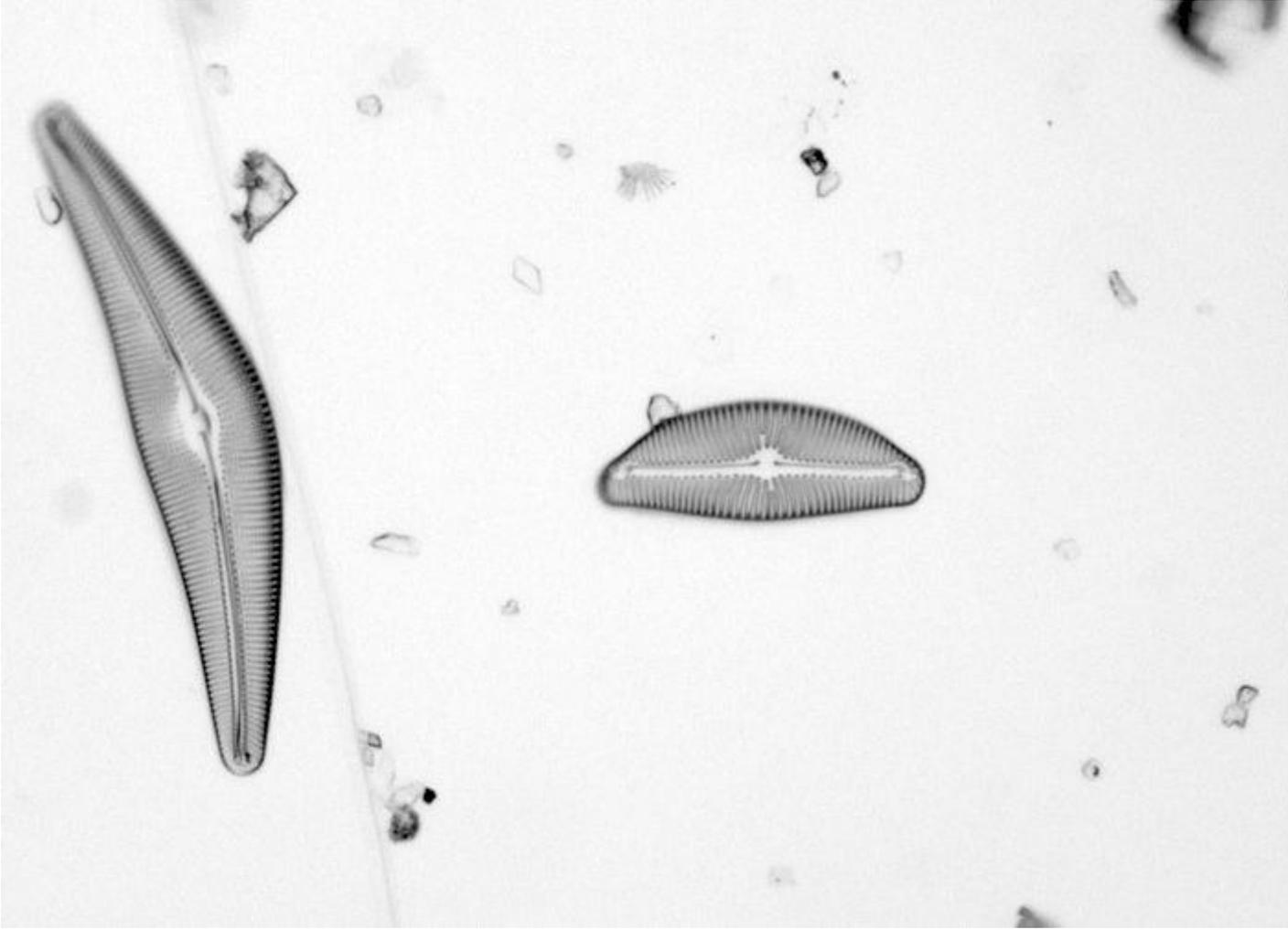
## **Bilder**

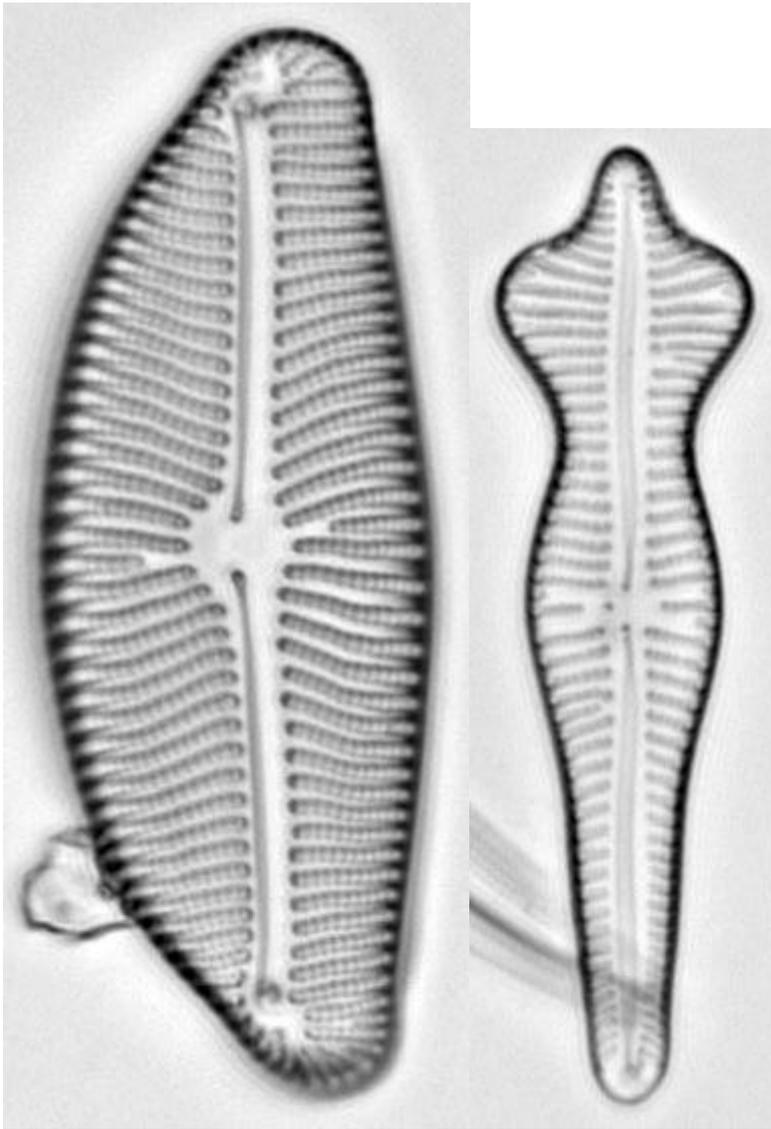
### **Lichtmikroskop**

Aufnahmen mit Objektiven 10/0,3, 20/0,5 und 63/0,95. Die Vergrößerungssprünge dürften jeweils klar sein. Kamera ImagingSource DMK 41AU02, Filter 540nm. Bildbearbeitung: Nur Tonwertspreizung, keine Nachschärfung. Übersichtsaufnahmen (10, 20) mit stärker zugezogener Blende, um etwaigen Schmutz mit abzubilden.

### **Säurebehandlung**

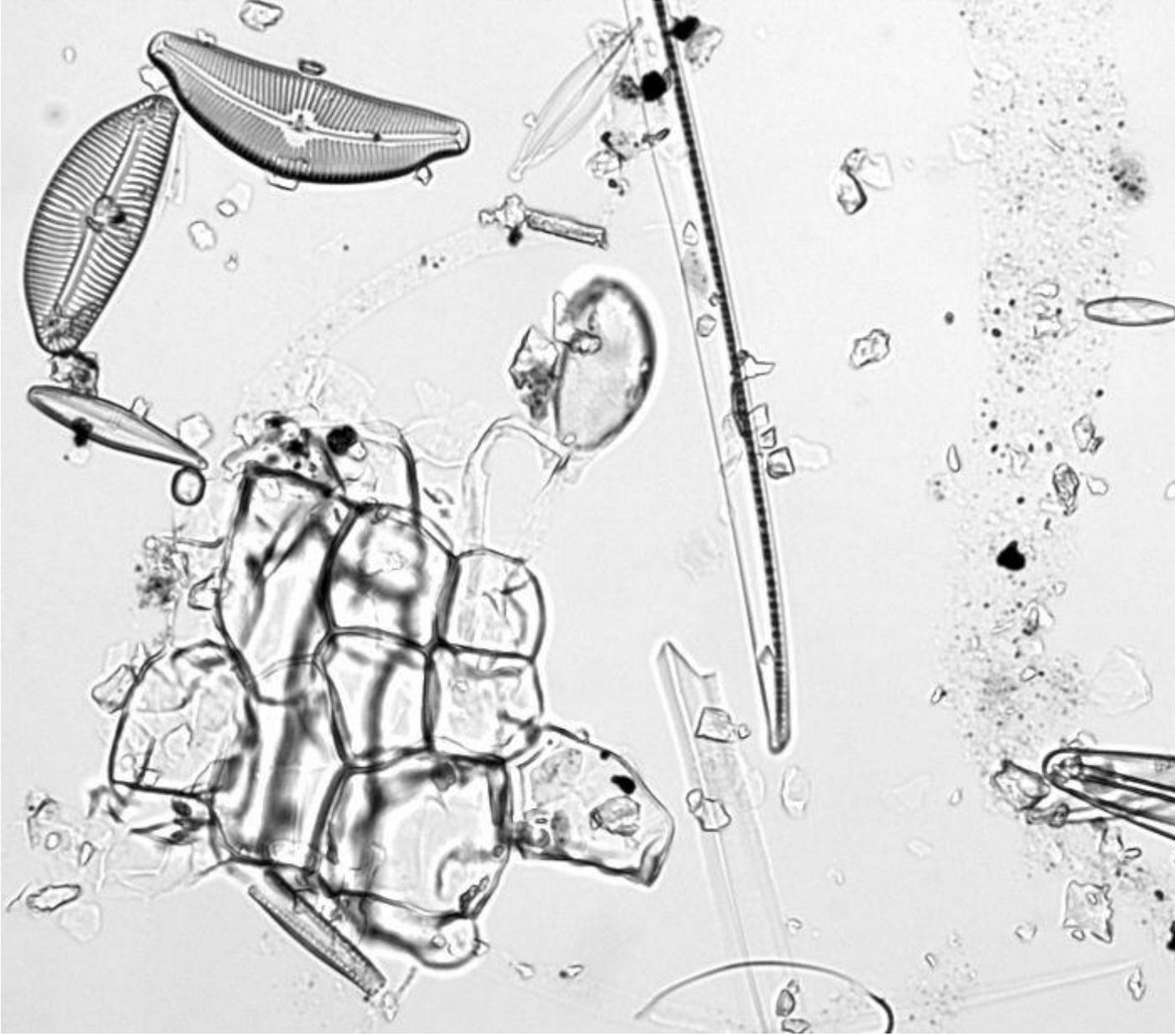


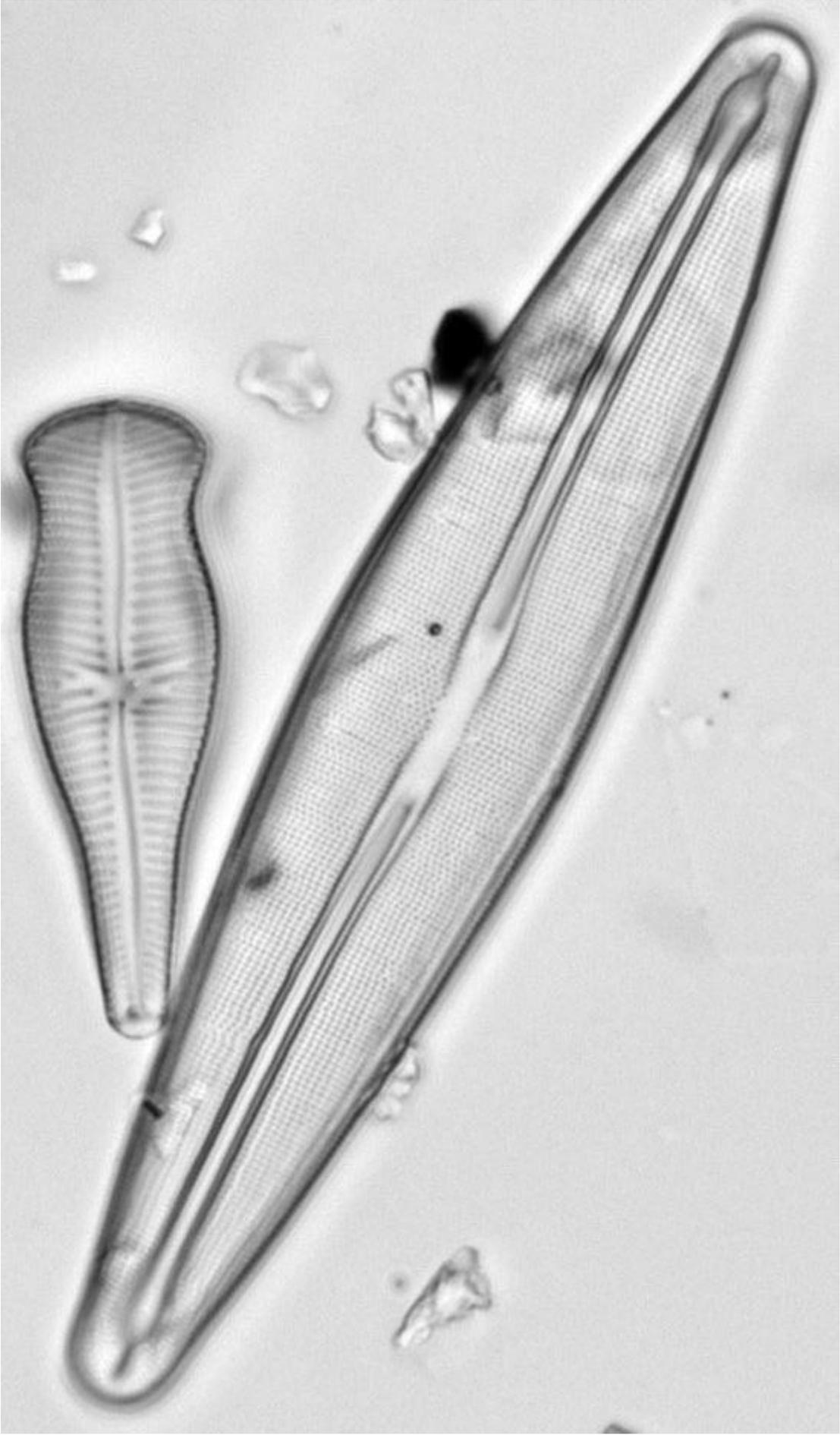


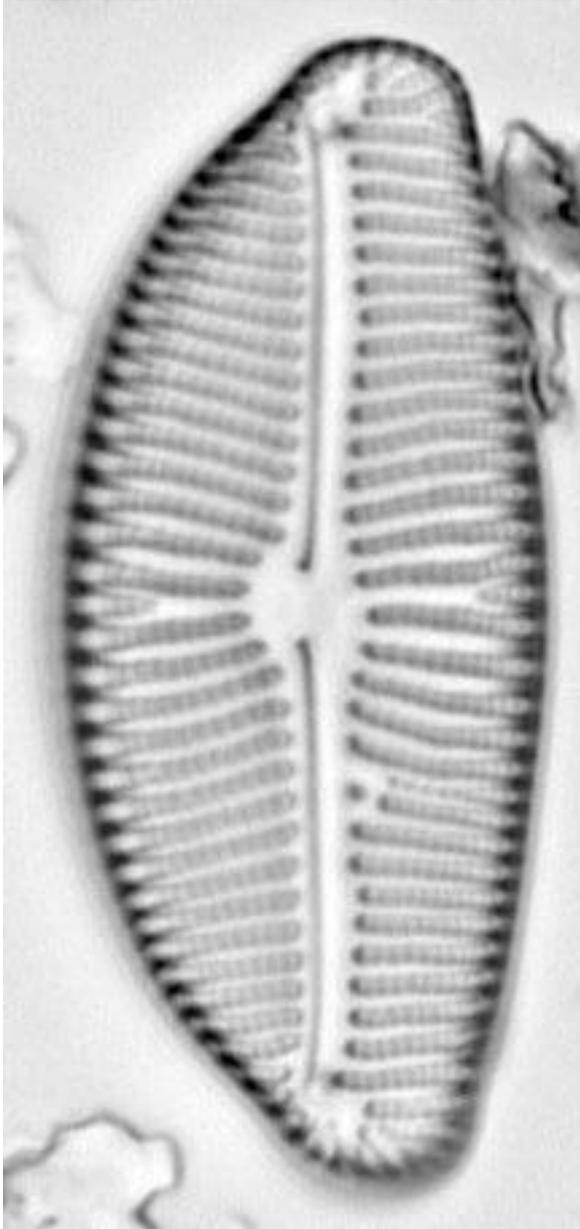


**HClO-Behandlung**



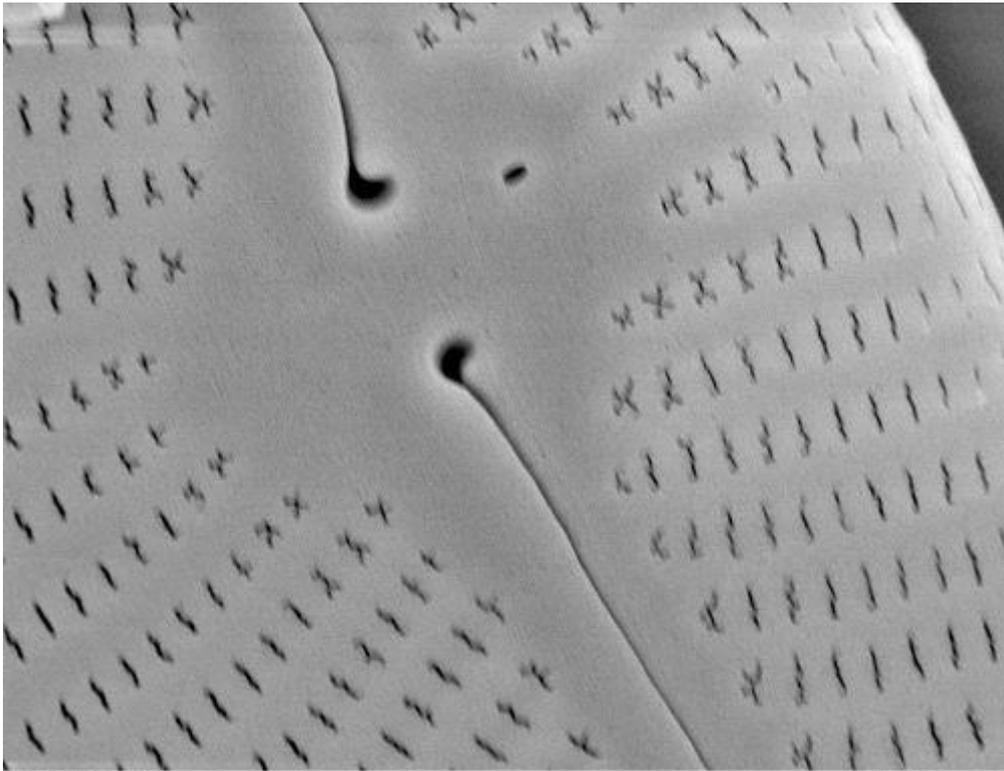






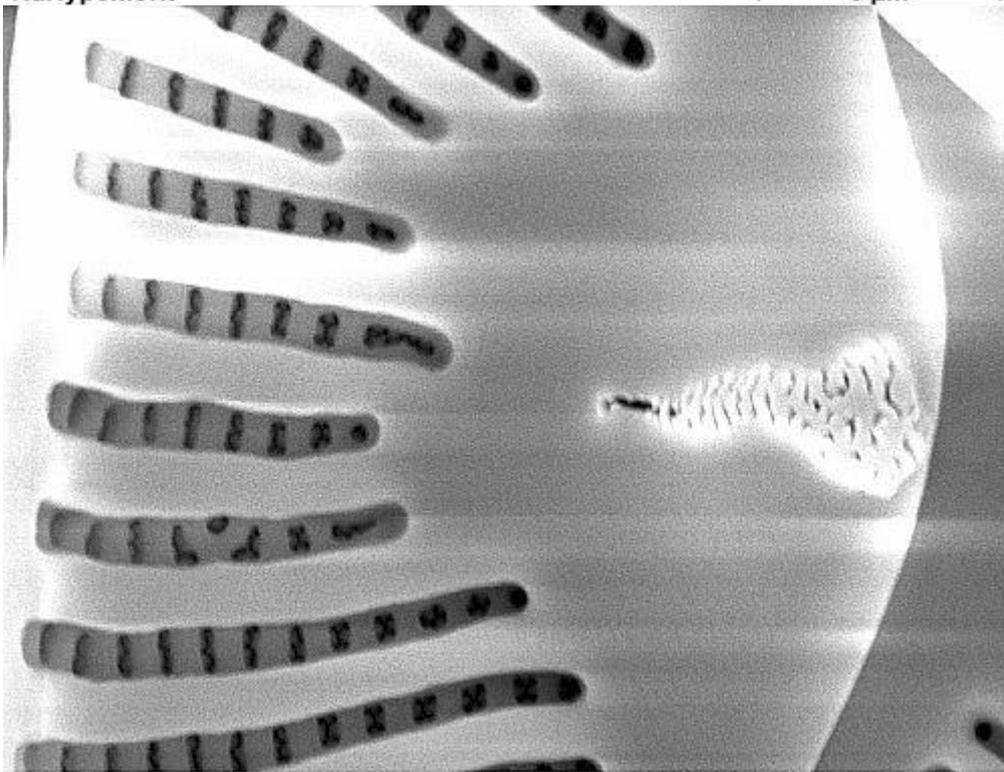
## REM

Leider hat sich die Probe im REM stark aufgeladen. Dennoch, alles wichtige ist zu sehen.



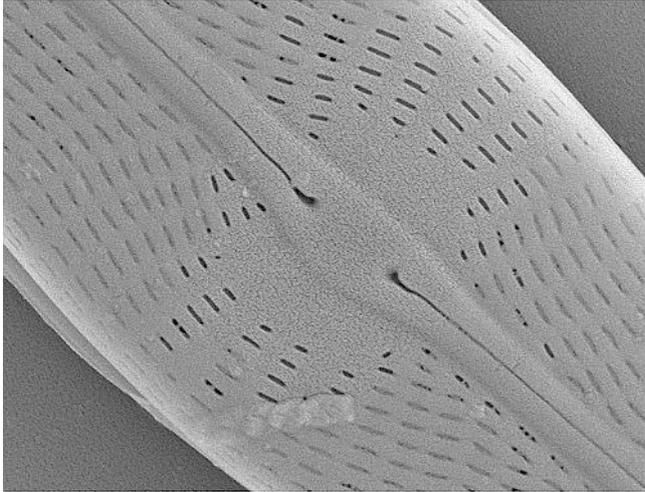
NaHypchlorit

3  $\mu\text{m}$

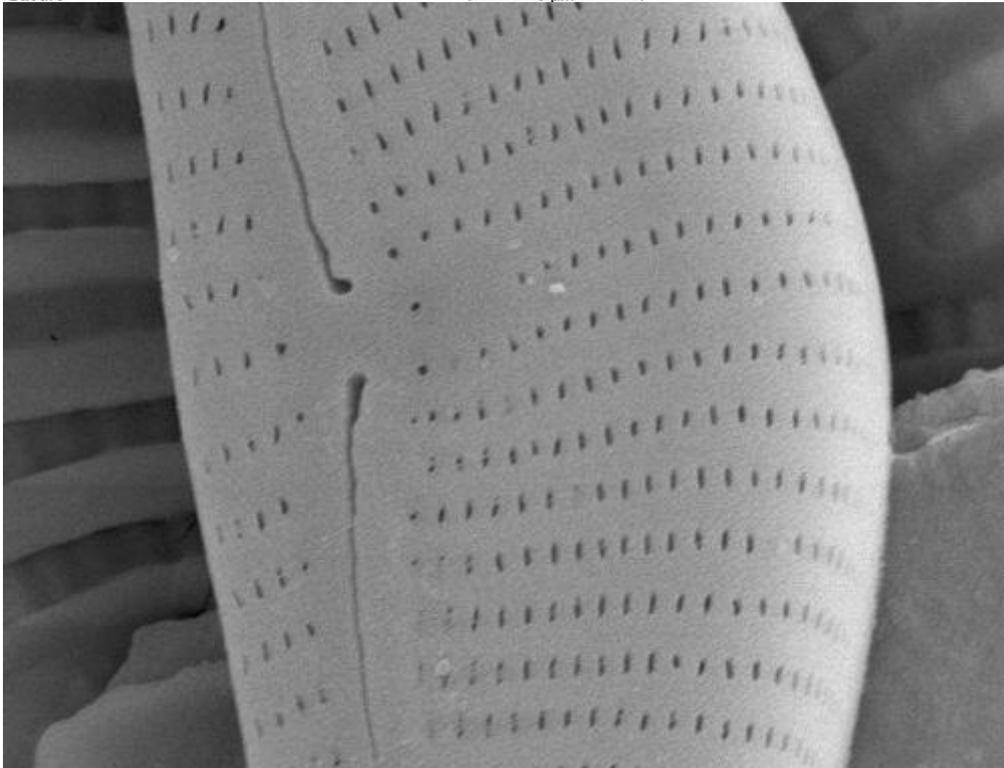


NaHypchlorit

3  $\mu\text{m}$



Saeure |----- 3 μm -----|



Saeure |----- 3 μm -----|