

PRIPRAVA PLEURAXU PRO TVORBU TRVALYCH ROZSIVKOVÝCH PREPARÁTŮ PREPARATION OF PLEURAX FOR MAKING PERMANENT DIATOM SUDES

Karel Vojir, Univerzita Karlova, Pedagogická fakulta, Katedra
biologie a environmentálních studií
vojir.karel@gmail.com

<http://bichez.pedf.cuni.cz/en/archiv/article/2>

Abstrakt

Frustuly, typické schránky rozsivek, se vyznačují znainou variabilitu forem a Struktur. Kvůli malým rozměrům nemohou být jejich charakteristické detaily pozorovány pod světelným mikroskopem bez média s vysokým lomem světla. V tomto příspěvku je popsána příprava pleuraxu. Tuto látku je možné díky vysokému indexu lomu světla využít jako uzavírací médium při tvorbě rozsivkových mikroskopických preparátů.

Abstract

Frustules - typische Schalen von Kieselalgen - treten in beträchtlicher Variabilität von Formen und Strukturen auf. Aufgrund kleiner Abmessungen können ihre charakteristischen Details unter einem optischen Mikroskop ohne ein hochbrechendes Medium nicht beobachtet werden. In dieser Arbeit wird die Herstellung von Pleurax beschrieben. Aufgrund seines hohen Brechungsindex kann diese Substanz als Eindeckmedium für die Herstellung von Diatomeen-Objektträgern verwendet werden.

Klíčová slova

Rozsivky, pleurax, uzavírací médium s vysokým indexem lomu světla, trvalé mikroskopické preparáty

Keywords

Diatoms, pleurax, high-refractive mounting medium, permanent microscope slides

Vorwort

Kieselalgen (Diatomeen, Bacillariophyceae) sind einzellige Organismen, die in die Gruppe Chromomista unterteilt sind. Diese sehr große Gruppe besteht aus 285 Gattungen mit 10 bis 12 Tausend Arten (Round, Crawford & Mann, 1990). Ihr charakteristisches Merkmal sind Silikatboxen (Frustules) mit einer bestimmten Struktur. Die Boxen bestehen aus zwei Teilen - einem Epithec und einem Mens! Hypothek. Die oberen und unteren Oberflächen wurden als Täler (Epivalve und Hypovalva) bezeichnet, die Seitenflächen wurden als Pleura (Epipleura und Hypoplevura) bezeichnet (Braune, Leman & Taubert, 2002).

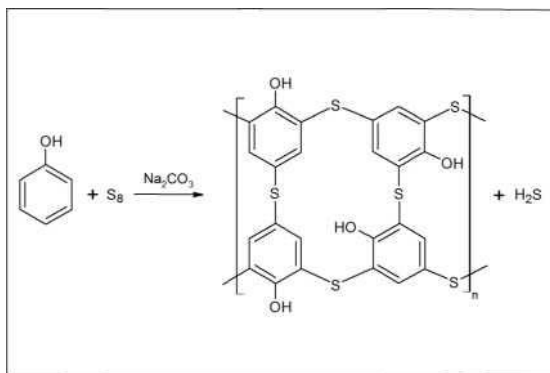
Die Strukturen auf den Kieselalgenstümpfen sind sehr fein, was bei Betrachtung mit Lichtmikroskopie erhebliche Probleme verursacht. Aufgrund der geringen Größe ist es notwendig, zur Herstellung des Präparats eine Substanz mit einem hohen Brechungsindex zu verwenden, die einen ausreichenden Kontrast zur Masse der Kisten gewährleistet (B. Krissa & K. Präsil Eds., 1989). Solche Medien sind jedoch schlecht zugänglich und relativ teuer. Eine mögliche Lösung besteht darin, ein eigenes Medium wie Pleurax herzustellen. In diesem Artikel soll die Herstellung von Pleurax vorgestellt werden - einem Polymer mit einem Brechungsindex von 1,73. Das beschriebene Verfahren basiert auf den Anweisungen von Rosenfeldt (undatiert). Das nachstehende Verfahren wird auf der Grundlage praktischer Erfahrungen mit der Herstellung des Polymers und im Hinblick auf die Erhöhung der Sicherheit der Synthese überarbeitet und angepasst. Unter Berücksichtigung der Spezifität der Herstellung des Mediums in der biologischen Forschung versucht der Artikel, es so detailliert wie möglich darzustellen, damit es für diejenigen zugänglich ist, die an der Untersuchung von Kieselalgen interessiert sind, ohne viel Erfahrung mit der Synthese der organischen Chemie.

Pleurax ist eine Substanz, die durch Reaktion von Phenol und Schwefel in Gegenwart von wasserfreiem Natriumcarbonat hergestellt wird. Natriumcitrat kann ebenfalls verwendet werden (Krisa & Präsil Eds., 1989). Der Reaktionsmechanismus ähnelt offensichtlich der von Patel et al. (2008). Es ist eine elektrophile aromatische Substitution, die durch Deprotonierung von Phenol unter Bildung eines resonant stabilisierten Phenolataniens initiiert wird. Es reagiert mit Schwefel an den ortho- oder para-Positionen unter Bildung eines Phenolpolysulfidions. Die anschließende Reaktion mit einem anderen Phenolmolekül führt zur Bildung einer polysulfidischen Bindung. Diese Kondensationsreaktion erzeugt Schwefelwasserstoff. Aufgrund der Instabilität der S-S-Bindung zerfällt das Molekül und der Kondensationsmechanismus wird wiederholt, bis eine Monosulfidbindung gebildet wird. Weitere Reaktionen bilden ein vernetztes Polymer.

Während der Reaktion wird Schwefelwasserstoff - ein hochgiftiges Gas mit reizender und erstickender Wirkung - in großen Mengen freigesetzt. Gleichzeitig wird ein Teil des Phenols verdampft. Es ist daher notwendig, die gesamte Vorbereitung in einem gut funktionierenden Abzug durchzuführen.

Darstellung von Pleurax

40 g Schwefelpulver und 110 g Phenol werden in einen Kochkuchen mit rundem Boden (500 ml) gegeben. Unter normalen Bedingungen wird diese farblose Kristallsubstanz häufig in Enghalsflaschen geliefert. Zur leichteren Handhabung kann es in einem warmen Wasserbad ($t = 40,5^\circ \text{C}$) geschmolzen werden. Phenol ist giftig und stark schädlich. Bei der Handhabung ist besondere Vorsicht geboten und Schutzausrüstung (Handschuhe, Kleidung, Schutzbrille oder Schild) zu verwenden. Aufgrund der Einwirkung von Licht und Luft führt die Langzeitlagerung von Phenol zu seiner Oxidation, die sich in einer roten und violetten Farbe äußert. Eine leichte Verunreinigung des Phenols mit den resultierenden Gemischen verhinderte die Reaktion nicht.



Obr. 1 Reakční schéma přípravy pleuraxu, zdroj: autor

Die Bank grub sich in einem nichtmagnetischen Behälter (z. B. Aluminium) in ein Ölbad und legte es auf den mT-Chack. Die Temperatur des Ölbad wurde mit einem Thermometer gesenkt und unter Rühren auf 150 ° C erhitzt. Während des Erhitzens schmelzen die Ausgangsmaterialien und es entsteht eine homogene Mischung. Die Mischung wird auf die Spitze eines wasserfreien Natriumcarbonatspatels gegeben und die Temperatur wird auf 170 ° C erhöht, so dass der Siedepunkt des Phenols nicht erreicht wird, d. H. 181,7 ° C. Der Beginn der Reaktion kann durch die Freisetzung von Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden. Da die Reaktion relativ langsam ist, ist die Entwicklung von Schwefelwasserstoff nicht direkt ersichtlich. Dies kann jedoch mit Hilfe von Bleiacetat-Papieren nachgewiesen werden. Alternativ ist es möglich, einen Streifen Filterpapier zu verwenden, der in einer konzentrierten wässrigen Lösung von Bleiacetat getränkt ist. Nasse Papiere, die durch die Einwirkung von mit Bleisulfid geschwärztem Schwefelwasserstoff leicht am Hals befestigt wurden.

Aufgrund der Toxizität von Schwefelwasserstoff kann empfohlen werden, ein Röhrchen mit einem Röhrchen am Ende des Kochkolbens zu platzieren. Am Rohr ist ein Schlauch angebracht, der das entstehende Gas zum Saugpunkt des Fermenters leitet.

Bei der Reaktion, deren Verlauf relativ lang ist (sogar mehr als 10 Stunden), ist es notwendig, die Freisetzung von Schwefelwasserstoff kontinuierlich zu überwachen und zu steuern. Die Vervollständigung der Reaktion kann durch Auflösen einer kleinen Menge des Reaktionsgemisches in etwa 3 ml Propan-2-ol überprüft werden. Die Probe wird mit einem sauberen und trockenen Glasstab entnommen. Wenn die resultierende Lösung gelblich trüb ist (Vorhandensein einer nicht umgesetzten Aufschlämmung), muss die Mischung weiter reagieren gelassen werden. Die Vorbereitung kann gestoppt werden, indem die Heizung ausgeschaltet und am nächsten Tag fortgesetzt wird. Reaktion wieder Problem nach dem Spiel! der Mischung unter konstantem Rühren bei einer Temperatur von 170 ° C. Das Produkt ist braunes und dunkelbraunes Harz.

Eine andere mögliche Ausführungsform besteht darin, das Reaktionsgemisch unter Rückfluss in einem Heizpilz zu erhitzen. Das Reaktionsgemisch wird leicht gekocht, um das Rühren sicherzustellen. Aufgrund des relativ langen Reaktionsverlaufs verbraucht dies jedoch während dieser Anordnung einen beträchtlichen Wasserverbrauch.

Nachdem der gesamte Schwefel reagiert hat, verdampft das überschüssige Phenol. Öffnen Sie den Siedekolben mit der Reaktionsmischung auf einem Heizmantel und erhitzen Sie die Mischung leicht. Es ist wichtig, das Einatmen von Phenoldämpfen zu vermeiden. Die Mischung wird durch Auftragen einer kleinen Menge auf das Glas überprüft. Wenn das Harz nach dem Abkühlen vollständig aushärtet, wird das Erhitzen gestoppt und unter ständigem Rühren werden ungefähr 60 ml Propan-2-ol zugegeben. Die Mischung sollte gerührt werden, bis sich der Pleurax vollständig aufgelöst hat. Es löst sich relativ ungern auf, der Vorgang kann mehrere Stunden dauern. Die Auflösung kann durch leichtes Erhitzen unterstützt werden. Falls erforderlich, wird zusätzliches Propan-2-ol zugesetzt, um dem Harz die Fließfähigkeit des zugeführten Honigs zu verleihen. Wenn das Medium zu dünn ist, bedeutet dies das Vorhandensein von überschüssigem Lösungsmittel.

Verdampfen durch leichtes Erhitzen auf einer keramischen Verdampfungsschale. Das erhaltene Pleurax ist braun. Die dunklere Farbe verhindert die beobachtete Zubereitung nicht. Das vorbereitete Medium wird in eine Vorratsflasche (nicht gemahlen) gegossen. Das Harz riecht stark nach Schwefelwasserstoff. Der Geruch verschwindet jedoch beiläufig. Die gesamte Vorbereitung dauert ca. 5 Tage.

Mit Pleurax werden vorbereitete Kieselalgenboxen in permanente Zubereitungen gegossen. Sie müssen organische Stoffe entfernen, zum Beispiel durch Einatmen. Während des freien Trocknens verdunstet es aus dem Pleurax Lösungsmittel, letzte Aushärtung der vorbereiteten Zubereitungen in Folge. Dieser Vorgang kann durch Erhitzen des Objektträgers beschleunigt werden.

Fazit:

Obwohl Kieselalgen eine sehr große und natürlich häufig vorkommende Gruppe sind, werden die Herstellung permanenter mikroskopischer Präparate und ihre Beobachtung meist nur an spezialisierten Arbeitsplätzen durchgeführt. Die obigen detaillierten Anweisungen zur Herstellung des verwendbaren Mediums wurden auf der Grundlage praktischer Laborerfahrung zusammengestellt und erfassen das voll funktionsfähige Herstellungsverfahren. Es kann auch dazu dienen, Diatomeenstudien nicht spezialisierten biologischen Abteilungen und Biologielehrern und ihren Lehrern zugänglich zu machen.

Sie werden ein tieferes Verständnis für die Konstruktion von Kieselalgenboxen haben und andere Elemente der Laborarbeit werden ihnen durch die Vorbereitung permanenter Vorbereitungen vorgestellt. Die Zusammensetzung der Kieselalgengemeinschaften ist eines der wichtigen Merkmale des untersuchten Lebensraums (B. Krisa & K. Präsil Eds., 1989).

In Bezug auf die Anforderungen an Laborgeräte ist es bei Interesse an der Verwendung von Pleurax in der Lehre möglich, diese am Institut für Biologie und Umweltstudien der Fakultät für Bildungswissenschaften der Charles University bereitzustellen. Bei Interesse wenden Sie sich an den Autor des Artikels.

Literatur:

BRAUNE, W., LEMAN, A., & TAUBERT, H. (2002). Pflanzenanatomisches Praktikum II. Berlin: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.

KRISA, B., & PRÄSIL, K. (Eds.). (1989). Sbèrpreparace a konzervace rostlinného materiálu. Praha: Statní pedagogické nakladatelství.

PATEL, M. H., PATEL, V. B., & SHRIVASTAV, P. S. (2008). Genesis of thiacalixarenes: a one-pot highly efficient synthesis of TC4A. Tetrahedron Letters, 49(19), 3087-3091.

ROSENFELDT, G. (nedatováno). High-refractive mounting media (PLEURAX / NAPHRAX/ ZRAX). Citováno 29.12. 2016, http://www.mikrohamburg.de/Tips/TE_Mountingmedia.html

ROUND, F. E., CRAWFORD, R., & MANN, D. (1990). Diatoms: Biology and Morphology of the Genera. Cambridge: Cambridge University Press.