



Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre:
Institut 4: Erdöl und Organische Geochemie

Extraktion von Diatomeenschalen mittels SPLITT-Fraktionierung

***Ein neues Verfahren zur Abtrennung von
Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten***

Andreas Rings

Extraktion von Diatomeenschalen mittels SPLITT-Fraktionierung

***Ein neues Verfahren zur Abtrennung von
Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten***

Andreas Rings

Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 3968
ISSN 0944-2952
Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre
Institut 4: Erdöl und Organische Geochemie Jül-3968
D 517 (Diss., Potsdam, Univ., 2002)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
D-52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
☎ 02461/61-5220 · Telefax: 02461/61-6103 · e-mail: zb-publikation@fz-juelich.de

Extraction of diatom frustules with SPLITT-fractionation.

A new method for separating diatom frustules from lake sediments.

ABSTRACT

Diatom frustules are an interesting tool for climatic and ecological research and they have for some time been employed in isotope research work as a paleothermometer. Diatom frustules are said to be very stable over a long period of time, and thus the stable oxygen isotopes within the frustule's SiO_2 can under certain conditions represent a good proxy for climatic or ecological reconstructions (Juillet, 1980; Juillet & Labeyrie, 1987; Shemesh *et al.*, 1992). Especially in those cases where carbonates are not available for climate research, diatoms seem to be a very promising alternative. This is for example the situation in the high resolution sedimentary sequences of Westeifel Maar lakes. The sedimentary sequences consist of turbidites, siderite-laminites and annually laminated diatomaceous gyttja but mostly lack any carbonates (Negendank & Brauer & Zolitschka, 1990). The problem, however, is to get highly purified diatom material for reliable oxygen isotope investigations. This implies that minerogenic impurities have to be separated since they can easily alter the isotope signal of a diatom layer and, thus, lead to wrong results. Additionally it is in many cases desirable to distinguish between diatom fractions of different sizes, i.e. to distinguish between different diatom species. It therefore was the aim of this work to develop a new method for separating quantitatively diatom frustules from lake sediments for investigations of the stable oxygen isotope composition in diatom SiO_2 . This method uses a new technique for separating particles depending on their sinking velocity in a liquid, streaming through a narrow channel. The technique to be used splits particles hydrodynamically into different size classes, a procedure which is called SPLITT-fractionation (split-flow lateral-transport thin separation cells) and was first presented by Giddings (1985).

As with field-flow fractionation (FFF) techniques, thin flow channels in conjunction with a field (gravitation) applied perpendicular to the flow are used for SPLITT-fractionation. A sample suspension containing the particles to be separated is continuously introduced through one inlet into the cell while sediment-free liquid is introduced into the cell through a second inlet. Within the cell the two flows merge smoothly, the suspension overlying the sediment-free carrier flow, resulting in a laminar flow in which the separation of particles takes place. Within the laminar current grains migrate according to their density, shape and

size towards either of two outlets. As a result the sample will be divided into two fractions around a cut-off diameter, which is controlled by the ratio of the two outlet flow rates.

As diatoms behave hydrodynamically different compared with mineral grains, the described method provides a tool to separate them by SPLITT-fractionation. The advantages of SPLITT-fractionation over other separating methods for diatoms are reproducibility, high throughput by continuous flow, minimum losses, fast procedure and minimum contamination of the sample. The SPLITT cell used in this study has a length of 20 cm, a breadth of 4 cm, and a height of 371 μm . The sample concentration used was below 1 weight percent to minimise particle-particle interaction which spoils resolution. Sediment samples of different origin, age, compaction and diatom amount were tested. In a first step a method was established to suspend the material in water with H_2O_2 (30%). In this process also most of the organic matter was removed, to prevent agglomeration in the sample suspension. Afterwards the samples were sieved into fractions of $> 80\mu\text{m}$, $20 - 80\mu\text{m}$ and $< 20\mu\text{m}$. The fractions $< 80\mu\text{m}$ were used for SPLITT-fractionation. The fraction $20 - 80\mu\text{m}$ was fractionated in one step. Because of the small amount of grains with hydrodynamical properties similar to diatom skeletons, it was relatively easy to get a clean diatom fraction. The fraction $< 20\mu\text{m}$ was treated several times to enrich a sample fraction with diatoms. Because of the high amount of mineral grains (especially grains with equal sinking velocities) it wasn't possible to get an entirely clean sample of diatom frustules. To avoid problems related therewith an additional step was introduced by dividing the corresponding samples with 5 and 10 μm sieves. The resulting fractions do no more contain minerals with hydrodynamical properties of diatoms and therefore a separation of diatom frustules is again possible.

In addition a method was developed for analysing grain distribution and amount of diatom frustules using image processing methods. For each SPLITT-fractionation subsamples from the two outlets were collected and photographed under the microscope. The pictures were then evaluated using image processing software. The photographs represented the particle size distribution of the fractions, the amount of frustules and gave a cut-off diameter at different in- and outlet flowrates.

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT	3
INHALTSVERZEICHNIS	5
1 EINLEITUNG	9
1.1 ZIELSETZUNG	10
1.2 AUFBAU DER DIATOMEENSCHALE	11
1.3 MÖGLICHKEITEN DER DIATOMEENEXTRAKTION ANHAND VERSCHIEDENER EIGENSCHAFTEN	13
1.3.1 Trennung nach Größe der Partikel	13
1.3.2 Trennung nach Dichte der Partikel	13
1.3.3 Trennung nach Partikelform	14
1.3.4 Trennung nach hydrodynamischen Eigenschaften	15
1.3.5 Trennung nach elektrochemischen Eigenschaften	15
1.3.6 Trennung nach magnetischen Eigenschaften	16
2 AUSGEWÄHLTES VERFAHREN ZUR TRENNUNG VON DIATOMEENSCHALEN	19
2.1 HERKUNFT DES PROBENMATERIALS	20
2.1.1 Material aus Sedimentfallen im Holzmaar (Eifel)	20
2.1.2 Rezent es Sediment aus dem Holzmaar (Eifel)	20
2.1.3 Rezent es Sediment aus dem Bachsee (Schweiz)	21
2.1.4 Kernmaterial aus dem Huguang Maar (China)	21
2.2 VORBEREITUNG DES SEDIMENTS ZUR DIATOMEENEXTRAKTION	21
2.2.1 Aufschluss des Sediments	21
2.2.1.1 Ergebnisse mit unterschiedlichen Probenmaterialien	25
2.2.2 Siebung	25
2.3 EXTRAKTION VON DIATOMEENSCHALEN	26
2.3.1 Theoretischer Ansatz	26
2.3.2 Sedimentieren im Becherglas	28
2.3.3 SPLITT-Fraktionierung	30
2.3.3.1 Partikelgröße	37
2.3.3.2 Diffusion	37
2.3.3.3 Turbulenzen	38
2.3.3.4 Partikeldurchsatz	39
2.3.4 Modifizierte SPLITT-Fraktionierung	40

2.4	ENTWICKLUNG EINES VERFAHRENS ZUR CHARAKTERISIERUNG DER SPLITT-FRAKTIONEN - BILDVERARBEITUNG	40
2.4.1	Mikroskopie.....	41
2.4.2	Bildverarbeitung	42
2.5	KORNGRÖßENMESSUNG MIT EINEM ELEKTRONISCHEN PARTIKELZÄHLER.....	43
2.6	RANDBEDINGUNGEN FÜR ISOTOPENMESSUNGEN AN DIATOMEENSCHALEN	44
3	ERGEBNISSE	47
3.1	ERGEBNISSE DER PARTIKELMESSUNGEN MITTELS BILDAUSWERTUNG.....	48
3.1.1	Simulation einer SPLITT-Fraktionierung	48
3.1.2	Häufigkeiten der Pixelmuster in der Bildauswertung	49
3.1.3	Abschätzung der Messfehler bei der Bildanalyse.....	50
3.1.4	Vergleich Bildanalyse / „Coulter Counter“.....	52
3.2	ERGEBNISSE DER SPLITT-FRAKTIONIERUNGEN	53
3.2.1	Änderung der Eingangsfleißraten	55
3.2.2	Änderung der Ausgangsfleißraten.....	57
3.2.3	SPLITT-Fraktionierung ohne Trägerstrom (FFDSF = full-feed depletion SPLITT fractionation) ...	59
3.2.4	Quantitative SPLITT-Fraktionierung in mehreren Stufen	61
3.2.4.1	Ermittlung des Trenndurchmessers mit einem Optimierungsverfahren	67
3.2.5	SPLITT-Fraktionierung von Sedimentproben aus dem Holzmaar (Eifel).....	70
3.2.5.1	SPLITT-Fraktionierung einer Siebfraction 10 – 20 µm (Holzmaar).....	70
3.2.5.2	SPLITT-Fraktionierung einer Siebfraction 20 – 80 µm (Holzmaar).....	71
3.2.5.3	SPLITT-Fraktionierung eines Sedimentfallen-Materials (Holzmaar)	73
3.2.6	SPLITT-Fraktionierung einer Sedimentprobe aus dem Huguang Maar (Südchina)	77
3.2.7	SPLITT-Fraktionierung einer Sedimentprobe aus dem Bachsee (Schweiz, Grindelwald).....	79
4	DISKUSSION	83
4.1	ANWENDBARKEIT DER BILDANALYSE FÜR SPLITT-FRAKTIONEN AUS LIMNISCHEN SEDIMENTE	83
4.1.1	Mikroskopie – Probenvorbereitung	83
4.1.1.1	Probenlagerung	83
4.1.1.2	Präparation.....	84
4.1.1.3	Wahl der Okulare / Vergrößerung.....	84
4.1.1.4	Belichtungszeit.....	85
4.1.2	Bildverarbeitung	85
4.1.2.1	Erfassung kleiner Partikel	85
4.1.2.2	Erfassung großer Partikel (> 15 µm)	86
4.1.2.3	Erfassung von Diatomeenschalen	86
4.1.2.4	Berechnung der Partikelmassen aus der Längenmessung	87
4.2	ARBEITSAUFWAND BEI DER BILDANALYSE	88
4.3	SCHLUSSFOLGERUNGEN ZUR BILDANALYSE FÜR DIE AUSWERTUNG VON SPLITT-FRAKTIONEN	89
4.4	DIATOMEENEXTRAKTION.....	90
4.4.1	Vorbehandlung des Sediments	90
4.4.2	Anpassung der SPLITT-Fraktionierung an die vorgegebene Trennaufgabe	91

4.4.3	<i>SPLITT-Fraktionierung in mehreren Stufen (Siebfraktion < 20 µm)</i>	92
4.4.4	<i>SPLITT-Fraktionierung großer Korngrößen (Siebfraktion 20-80µm)</i>	93
4.4.5	<i>Überlegungen zur Kontamination von Diatomeenproben</i>	94
4.5	ARBEITSAUFWAND BEI DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG ZUR TRENNUNG VON DIATOMEEN	97
4.6	ANWENDBARKEIT DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG FÜR DIE DIATOMEENEXTRAKTION.....	98
5	ZUSAMMENFASSUNG	99
	LITERATURVERZEICHNIS	101
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	107
	TABELLENVERZEICHNIS	111
	ANHANG	113
	ANHANG A	114
A.1	BILDVERARBEITUNG	114
A.1.1	<i>Verbesserung der Bildqualität</i>	114
A.1.2	<i>Informationsverstärkung</i>	116
A.1.3	<i>Extraktion der Objekte</i>	118
A.1.4	<i>Vermessung der Objekte</i>	118
	ANHANG B.....	120
B.1	<i>SIMULATION EINER SPLITT-FRAKTIONIERUNG</i>	120
B.2	<i>HÄUFIGKEITEN DER PIXELMUSTER IN DER BILDAUSWERTUNG</i>	121
B.3	<i>ABSCHÄTZUNG DER FEHLER BEI DER BILDANALYSE</i>	123
B.4	<i>VERGLEICH BILDANALYSE / „COULTER COUNTER“</i>	129
	ANHANG C	131
C.1	<i>FEHLERABSCHÄTZUNG FÜR DIE BERECHNUNG DER PARTIKELMASSEN AUS DER LÄNGENMESSUNG</i>	131
	ANHANG D	133
D.1	MIKROSKOPBILDER DER TRENNERGEBNISSE.....	134
D.2	MIKROSKOPBILDER DER NASS- UND TROCKENPRÄPARATE	141
D.2.1	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.1 – Änderung der Eingangsfließraten</i>	141
D.2.2	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.4 – SPLITT-Fraktionierung in mehreren Trennstufen</i>	142
D.2.3	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.5.1 – SPLITT-Fraktionierung Siebfraktion 10 – 20µm (Holzmaar)</i>	144
D.2.4	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.5.2 – SPLITT-Fraktionierung Siebfraktion 20 – 80µm (Holzmaar)</i>	145
D.2.5	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.5.3 – SPLITT-Fraktionierung Sedimentfallen-Material (Holzmaar)</i>	145
D.2.6	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.6 – SPLITT-Fraktionierung Huguang Maar-Sediment (China)</i>	148
D.2.7	<i>Bilder zu Kapitel 3.2.7 – SPLITT-Fraktionierung Bachsee-Sediment (Schweiz)</i>	149

1 Einleitung

Die immer stärker werdenden Auswirkungen anthropogener Aktivitäten auf die natürlichen Kreisläufe unserer Erde werden nach heutiger Sicht die zukünftige klimatische Entwicklung verändern. Richtung und Ausmaß von Veränderungen sind aber noch keineswegs klar vorhersehbar. In diesem Rahmen ist die Erforschung der jüngsten erdgeschichtlichen klimatischen Entwicklung von großer Bedeutung. Denn ihre Verifizierung bietet einen guten Ansatz zum Verständnis anthropogen bedingter klimatischer Veränderungen, sowie deren möglicher Ursachen – ein Verständnis, das im übrigen zur Verbesserung von Klimamodellen unerlässlich ist (*Eddy & Oeschger, 1993; Overpeck, 1995; Chanin, 1996*).

Es besteht heute kein Zweifel, dass für die Überprüfung von Klimamodellen anhand vergangener Klimaepochen eine große Zahl gut gesicherter Paläodaten erforderlich ist. Die Erhebung verlässlicher Paläodaten setzt natürlich den Zugang zu entsprechenden Zeitarchiven voraus, die sich bis auf den heutigen Tag möglichst ohne wesentliche Veränderungen erhalten haben. Zahlreiche derartige Archive sind in den letzten Jahren gewonnen worden, im terrestrischen Bereich z.B. aus den Sedimenten von Maaren des Westeifeler Vulkanfelds (*Negendank & Brauer & Zolitschka, 1990*).

Zur Gewinnung meteorologischer Daten aus Proxydaten von Klimaarchiven, haben sich die stabilen Isotope gewisser leichter Elemente als sehr fruchtbar erwiesen. Dabei handelt es sich in erster Linie um die Elemente Kohlenstoff und Sauerstoff.

Bei der Bildung biogener Karbonate oder Silikate etwa von lakustrinen Muscheln oder Algen, sind Unterschiede in den Isotopenverhältnissen des Sauerstoffs zu beobachten, sofern deren Bildung bei unterschiedlicher Temperaturen erfolgt. $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Verhältnisse eröffnen daher die Möglichkeit, Temperatur- bzw. Umweltsignale der Zeitperiode zu ermitteln, in welcher die entsprechenden Algen oder Muscheln in ihrer aquatischen Umwelt lebten (*Labeyrie, 1974; Juillet-Leclerc & Labeyrie, 1987; von Grafenstein et al., 1996*). Obwohl Gerüstsubstanzen verschiedener Diatomeenspezies oder Schalen von Muscheln nicht notwendigerweise gleiche Isotopenwerte liefern, lassen sich Zusammenhänge mit Umweltveränderungen ermitteln, sofern ausschließlich Gerüstsubstanzen oder Schalen von möglichst jeweils gleichen Spezies zur Analyse genutzt werden.

Bei den gegenwärtig hauptsächlich von uns isotopenmäßig zu bearbeitenden Sedimenten der wasserführenden Maare des Westeifeler Vulkanfeldes muss auf Diatomeen als Untersuchungsobjekte zurückgegriffen werden, da Karbonate in Weichwasserseen, wie z.B. dem Holzmaar, nicht zur Verfügung stehen.

Die Gesamtabfolge der Eifelmaarsedimente besteht im wesentlichen aus Turbiditen, Siderit-Laminiten und jahreszeitlich geschichteten Diatomeengyttjen (Zolitschka, 1990). Aus diesen Sedimenten muss für isopenanalytische Studien das zu analysierende Gerüstmaterial von Diatomeen so herauspräpariert werden, dass möglichst keine Beimengungen anderer Sauerstoff enthaltender Substanzen vorhanden sind. Darüber hinaus ist es vielfach wünschenswert, einzelne Diatomeenspezies getrennt zu erhalten, zumindest nach bestimmten Größenklassen zu fraktionieren, was bis zu einem gewissen Grade einer Separierung von Diatomeenarten gleichkommt. Wegen der im Vergleich zu Diatomeen mit Sicherheit isotopisch anders markierten minerogenen Komponenten in einem Sediment galt es, ein Verfahren zur vollständigen Trennung von Diatomeen aus Sedimenten zu etablieren.

1.1 Zielsetzung

Es ging also darum, eine Technik aufzubauen, mit der eine quantitative Extraktion von Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten ermöglicht wird. Von großem Interesse ist hierbei, eine hohe geochronologische Auflösung zu erreichen. Erst dadurch wird es möglich, die Isotopenwerte in einen größeren Zusammenhang besser einzuordnen, sei es für klimatologische oder für ökologische Fragestellungen, bzw. für Zeitreihenanalysen. Damit steht pro Analysegang nur wenig sedimentäres Material zu Verfügung. Daher ist eine quantitative Extraktion der Schalen notwendig, um genügend Material für eine Doppelmessung der Sauerstoffisotope zu erhalten. Auch ist die Repräsentanz des Isotopenwertes dann fraglich, wenn nicht ein Aliquot einer Gesamtprobe gemessen werden kann. Die Größenfraktionen einer Schalenprobe können u.U. unterschiedliche Isotopensignaturen aufweisen. Der Rahmen der möglichen in Frage kommenden Methoden wird des weiteren durch Anforderungen an die Reinheit der Probe und eine Minimierung von Kosten und Zeitaufwand begrenzt. Daher wurde eine Technik unter folgenden Gesichtspunkten aufgebaut und getestet:

- Bei der Extraktion von Diatomeenschalen sollten möglichst alle minerogenen Komponenten abgetrennt werden.
- Soweit möglich, sollten Diatomeen nach verschiedenen Größenklassen extrahiert werden.
- In diatomeenarmen Sedimenten sollte durch Aufkonzentrierung von größeren Sedimentmengen genügend Diatomeenmaterial für isotopische Messungen nutzbar sein.
- Die Gewinnung von Diatomeenschalen aus Sedimenten sollte möglichst einfach und schnell erfolgen
- Das Verfahren sollte einen möglichst geringen Kostenaufwand erfordern.

1.2 Aufbau der Diatomeenschale

Die Schalen von Diatomeen (Kieselalgen) werden aus amorpher, polymerisierter Kieselsäure aufgebaut (von den Hoek *et al.*, 1993; Round *et al.* 1990). Aufgrund von Unterschieden im Schalenbau werden zwei Ordnungen in der Klasse der Diatomeen (*Bacillariophyceae*) unterschieden, die *Pennales* und die *Centrales*. Beiden gemeinsam ist der schachtelartige Aufbau ihrer Schalen (Abb. 1).

Die komplette Schale wird auch als Frustulum (lat. „Bröckchen“) bezeichnet. Sie besteht aus der Hypotheka (der Schachtel) und der Epitheka (dem Deckel). Die größere Epitheka überlappt die Hypotheka. Hypo- und Epitheka werden von Valva (der Schale) und Cingulum (dem Gürtel) gebildet, die als Hypo-, Epivalva und Hypo-, Epicingulum bezeichnet werden. Das Cingulum ist wiederum aus weiteren Elementen, den Copulae (den Bändern) aufgebaut. Die Diatomeenschalen können aus bis zu 50 Komponenten aufgebaut sein (Round *et al.*, 1990).

Die Bauteile der Schalen werden durch eine sekundäre organische Wand zusammengehalten, die aus Polysaccharidsulfaten besteht. Der primäre organische Überzug der Schalenteile besteht im wesentlichen aus Resten des Cytoplasmas (von den Hoek *et al.*, 1993). Da die Schalenteile starre Gebilde sind, welche die lebende Zelle umschließen, kann ein Zellwachstum nur in eine Richtung erfolgen, nämlich indem Hypo- und Epitheka sich voneinander entfernen (Abb. 2). In diesem Fall werden weitere Gürtелеlemente an das Hypocingulum angebaut. Das Epicingulum kann nicht erweitert werden, da es vom Hypocingulum unterlagert und so vor der Zelle abgeschildert wird. Nach einer Zellteilung wird aus der Hypotheka eine Epitheka, die die neugebildete Hypotheka überlappt. Durch diesen Prozess nimmt die Zellgröße der „Hypotheken-Generation“ mit jeder Zellteilung sukzessiv ab, während die „Epitheken-Generation“ ihre Größe beibehält. Eine Diatomee kann also Schalen ganz unterschiedlichen Alters und Größe besitzen.

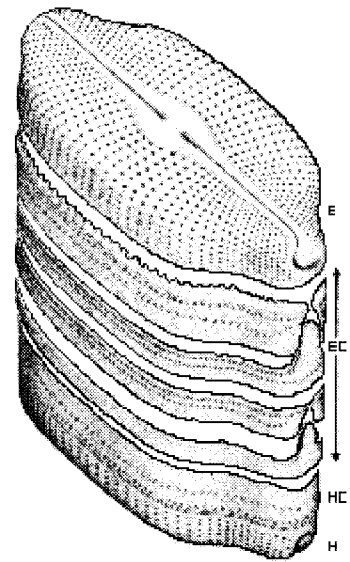


Abb. 1
Frustulum einer naviculoiden Diatomee (Explosionszeichnung). (E) Epivalva, (EC) Epicingulum mit 4 Copulae, (HC) Hypocingulum, (H) Hypoalve. (aus Round *et al.* 1990)

Die Schalen der Pennales sind meist langgestreckt und bilateralsymmetrisch aufgebaut. Sie weisen oft eine Spalte auf der Valva auf, die als Raphe bezeichnet wird. Die Raphe dient zur Fortbewegung oder Befestigung der pennaten Diatomeen. Centrale Diatomeen sind im Prinzip radiär-symmetrisch gebaut, im Idealfall vergleichbar einer Petrischale. Bei vielen Centrales bestehen die Valven aus radiär verlaufenden Reihen hexagonaler Kammern. Vor allem die Valven sind mit einer Vielzahl unterschiedlicher Strukturen geschmückt.

Der Aufbau eines Schalenteils geht in flachen Vesikeln vor sich (silica deposition vesicles, SDV). Die benötigte Kieselsäure (Si(OH)_4) wird durch einen aktiven, durch Trägerstoffe vermittelten Prozess durch das Plasmalemma aufgenommen – gegen einen 30 bis 250fachen Konzentrationsgradienten (Round et al., 1990; Paasche, 1980; Sullivan & Volcani, 1981). Sie bildet einen Vorrat löslicher Silikate oder Organosiliciumverbindungen (Sullivan, 1986; Blank et al., 1986). Für den Vorgang der Polymerisation zu hydrierter, amorpher Kieselsäure [$\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$] innerhalb eines Vesikels werden unterschiedliche Modelle angeführt (Round et al., 1990). Volcani (1981) nennt drei Ursachen für die Polymerisation: (1) Änderung im pH-Wert oder der Si(OH)_4 -Konzentration, (2) Bindung an spezifische Bereiche

des Silicalemmas (der Vesikelmembran), (3) Kondensation an Hydroxylgruppen. Hecky et al. (1973) entwickelten ein Modell, das die Kondensation durch die Hydroxylgruppen der Aminosäuren Serin und Threonin einbezieht. Pickett-Heaps, Tippit & Andreozzi (1979) gehen von feinen Polysaccharidsträngen aus, die in das Lumen der Vesikel abgesondert werden und als Schablone dienen.

Wenn Silikate über einen längeren Zeitraum in der Diatomeenzelle bevorratet werden können, hat dies vermutlich auch Einfluss auf die isotopische Zusammensetzung des Schalenmaterials. Wie lange die Bevorratungszeit sein kann, ist noch nicht geklärt, Sullivan & Volcani (1981) legen einen Zusammenhang mit dem Zellzyklus der Diatomeen nahe. Ebenso lässt sich vermuten, dass die einzelnen, unterschiedlich alten Schalenkomponenten, verschiedene Isotopensignaturen besitzen.

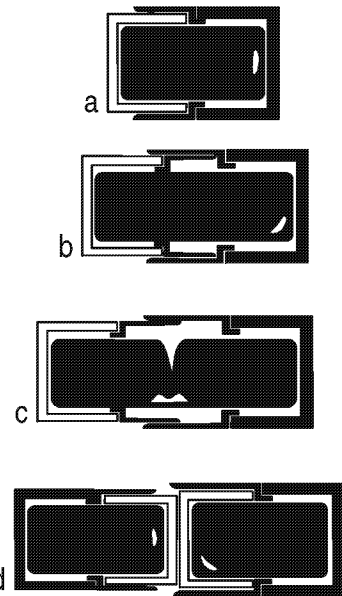


Abb. 2
Wachstum einer Diatomeenzelle während des Zellzyklus.

- a) Neue Zelle mit kompletter Epitheka und Hypovalva (in diesem Stadium sind bei vielen Diatomeen schon Komponenten des Hypocingulum vorhanden).
- b) Uniaxiales Wachstum mit weiteren Hypocinguli.
- c) Vollendung der Thecae: Mitose + Cytokinese
- d) Tochterzellen beginnen sich zu trennen: Neue Hypovalvae. Eine Tochterzelle ist kleiner.

(aus Round et al. 1990)

1.3 Möglichkeiten der Diatomeenextraktion anhand verschiedener Eigenschaften

Für die Extraktion von Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten für isotopische Untersuchungen wurden verschiedene Verfahren in Betracht gezogen. Die in der Literatur beschriebenen Methoden des Absetzenlassens einer Suspension im Becherglas wird in einem eigenem Kapitel (2.3.2) diskutiert. Die Vorbedingungen für die Extraktion sind:

- Keine isotopische Veränderung des Schalenmaterials durch Anlösung / Sauerstoff-Austauschreaktionen, bzw. durch anhaftende mineralische Stoffe (Tonminerale), während der Aufbereitung.
- Vollständige Extraktion der Diatomeenschalen, da die Materialmenge bei zeitlich hochauflösenden Untersuchungen sehr gering ist.
- Geringer Zeit- / Ressourcenbedarf.

Um Diatomeenschalen vom restlichen Sediment abtrennen zu können, dürfen die Schalen nicht an andere Partikel des Sediments anheften, wie es im getrockneten oder verfestigten Sediment der Fall ist. Das Sediment wurde aus diesem Grund vollständig suspendiert und eine Methode zur Extraktion gewählt, die in Suspension abläuft.

1.3.1 Trennung nach Größe der Partikel

Eine Trennung nach Größe ist für Diatomeenschalen meist nicht geeignet, da abhängig von der Korngrößenverteilung im Sediment jeweils den Schalen vergleichbar große Mineralkörner vorkommen.

1.3.2 Trennung nach Dichte der Partikel

Mit Hilfe einer geeigneten Schwereflüssigkeit können unterschiedlich dichte Partikel voneinander getrennt werden. Diatomeenschalen besitzen eine im Vergleich zu den meisten Mineralen geringe Dichte, d.h. sie könnten aus diesem Grunde von Mineralkörnern getrennt

werden. Als Schwereflüssigkeit wird heute meist eine Lösung von Natriumpolywolframat ($3 \text{ Na}_2\text{WO}_4 \cdot 9 \text{ WO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) eingesetzt.

Es wurde eine Polywolframat-Lösung mit differentiell zunehmender Dichte angesetzt. Nach Zugabe einer Siebfraction $< 20 \text{ }\mu\text{m}$ begannen die kleinsten Partikel (z.B. Tone) wegen des Salzgehaltes der Lösung zu flocken. Die Viskosität η der Polywolframat-Lösung wird zwar bis zu einer Dichte zwischen $2,0 - 2,5 \text{ g/cm}^3$ als relativ niedrig ($\eta < 8 \cdot 10^3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$) beschrieben – zum Vergleich besitzt Wasser (20°C) ein η von $1 \cdot 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$, Heizöl M (20°C) ein η von $7 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ (Fischer & Dorn, 1982) - es ließ sich aber trotz Zentrifugierens keine zufriedenstellende Trennung der Partikel erreichen. Eine Trennung von Diatomeenschalen allein auf der Basis unterschiedlicher Dichten ist für die gegebene Fragestellung ebenfalls nicht geeignet.

1.3.3 Trennung nach Partikelform

Eine recht neue Methode zur Auftrennung und Analyse von Partikelgemischen in Suspension ist die Feld-Fluss-Fraktionierung (Field-Flow-Fractionation (FFF), Giddings & Caldwell, 1989; Giddings, 1993; Janca, 1993). Bei der Feld-Fluss-Fraktionierung wird die Suspension einem flachen Kanal aufgegeben, durch den kontinuierlich ein Medium fließt. Die Partikel werden durch eine äußere Kraft selektiv an eine der Kanalwände (z.B. Gravitationskraft, Zentrifugalkraft) gedrückt. Die Zentrifugalkraft kann z.B. in einem als Zentrifuge konstruierten, ringförmig angeordneten FFF-Kanal erzeugt werden. Im Falle von sehr kleinen Partikeln (z.B. Proteine) entscheidet deren Größe, inwieweit das Partikel im Kanal aufragt. Da die Feld-Fluss-Fraktionierung in laminarer Strömung erfolgen muss, nimmt die Strömungsgeschwindigkeit des Mediums von den Wänden zur Mitte hin zu. Infolge dessen bewegen sich im Kanal größere Partikel schneller als kleinere. Es lässt sich so eine Trennung erreichen. Große Partikel unterliegen hydrodynamischen Auftriebskräften, die wiederum von Form und Größe der Partikel abhängig sind. Entsprechend anders trennt sich ein solches Partikelgemisch auf. Theoretisch ließen sich kleine Diatomeenschalen auf diese Weise vom Mineralbestandteil der Suspension abtrennen. Die Feld-Fluss-Fraktionierung ist jedoch ein analytisches Verfahren bei dem die pro Trennungsgang aufgegebene Probenmenge für isotopische Untersuchungen zu klein ist. Daher kann dieses Verfahren nicht zur Diatomeenextraktion verwendet werden.

1.3.4 Trennung nach hydrodynamischen Eigenschaften

Das hydrodynamische Verhalten von Partikeln in einer Suspension ist von mehreren Partikeleigenschaften abhängig. Dazu zählen vor allem Größe, Form und Dichte. Ein Trennverfahren, das auf der Nutzung der hydrodynamischen Eigenschaften der Partikel basiert, ist die SPLITT-Fraktionierung (split-flow lateral-transport thin separation cells) (Giddings, 1985). Dieses Verfahren wurde für die Extraktion der Diatomeenschalen gewählt, weil es einen weiten Bereich von Partikelgrößen selektiv zu trennen vermag. Ausführlich wird dazu in einem eigenen Kapitel (2.3.2) berichtet. Im einfachsten Fall wird die unterschiedliche Sinkgeschwindigkeit von Partikeln in einer Suspension genutzt, vergleichbar mit dem Absetzenlassen im Becherglas.

1.3.5 Trennung nach elektrochemischen Eigenschaften

Die Wandergeschwindigkeit von suspendierten Partikeln in einem statischen elektrischen Feld ist abhängig von den elektrochemischen Oberflächeneigenschaften der Partikel. Eine dies charakterisierende Größe ist das Zetapotential. An einer Festkörperoberfläche, die sich im chemischen Gleichgewicht mit einer Elektrolytlösung befindet, bildet sich eine sogenannte elektrochemische Doppelschicht aus, die eine andere Ladungsverteilung aufweist, als ihre Umgebung (Wagner *et al.*, 1989; Tsuda, 1997; Nitzsche & Simon, 1997; Jacobasch, 1996). Es baut sich ein elektrisches Potential auf. Das von Gouy (1910, 1917), Chapman (1913) und Stern (1924) beschriebene Modell unterteilt die elektrochemische Doppelschicht in eine immobile und eine mobile Schicht. Das Potential an der Scherfläche zwischen immobiler und mobiler Schicht wird als Zetapotential ζ bezeichnet. Der Zusammenhang zwischen Wandergeschwindigkeit, elektrischer Feldstärke und Zetapotential wird mit der allgemeinen Henry-Gleichung beschrieben (Henry, 1931):

$$(1) \quad \mu_e = \frac{v}{E} = \frac{3}{2} \cdot \frac{\epsilon_0 \epsilon_r}{\eta} \cdot \zeta \cdot f[\kappa, r]$$

μ_e = elektrophoretische Mobilität [m^2/Vs]

η = dynamische Viskosität des Mediums [$\text{Pa}\cdot\text{s}$]

v = Wandergeschwindigkeit der Partikel [m/s]

ζ = Zetapotential [V]

E = elektrische Feldstärke [V/m]

κ = Debye-Hückel-Parameter (effektive Dicke der elektrochemischen Doppelschicht)

ϵ_0 = Influenzkonstante [As/Vm]

ϵ_r = Dielektrizitätskonstante

r = Partikelradius

Die Methode reagiert empfindlich auf Veränderungen im pH-Wert und Salzgehalt (Elektrolytgehalt), bzw. auf Veränderungen der Oberflächeneigenschaften der Partikel, z.B. durch anhaftende Stoffe. Da Diatomeenschalen in unterschiedlichsten Formen vorkommen und Größen besitzen, die deutlich über der kolloider Partikel liegen, ist ein einheitliches Zeta-potential nicht zu erwarten. *Hegewald* (1972) zeigte dies an verschiedenen Arten von lebenden, bzw. fixierten Zellen und Diatomeenschalen. Damit lassen sich Diatomeenschalen vermutlich nicht ohne weiteres über die elektrophoretische Mobilität aus Sedimenten extrahieren. Diese Trennmöglichkeit wurde deshalb auch nicht weiter verfolgt.

1.3.6 Trennung nach magnetischen Eigenschaften

Bei nicht ferromagnetischen Materialien wird, entsprechend der Permeabilitätskonstante μ_r , bzw. der magnetischen Suszeptibilität ($\chi = \mu_r - 1$) zwischen Para- und Diamagnetika unterschieden. In einem inhomogenen magnetischen Feld wird auf paramagnetische Stoffe eine Kraft in Richtung höherer magnetischer Kraftflussdichte ausgeübt, auf diamagnetische Stoffe in Richtung geringerer magnetischer Kraftflussdichte.

Ein Verfahren, das sich dieser Eigenschaft bedient, wurde von *Andres* (1975) und *Janér & Jungner* (1982) beschrieben. Die einfache Apparatur besteht aus einem Elektromagneten dessen Kern V-förmig getrennt wurde (Abb. 3). In diese Lücke wird der Probebehälter gebracht. Das zu trennende Material ist in einer konzentrierten Mn^{2+} -Lösung ($\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$ oder MnCl_2) suspendiert.

Entsprechend der Formel

$$(2) \quad F_m = (\chi_m - \chi_p) \cdot H \cdot \text{grad}(H)$$

F_m = magnetische Kraft [N]

χ_m = magnetische Suszeptibilität des Mediums

χ_p = magnetische Suszeptibilität des Partikels

H = magnetische Feldstärke [A/m]

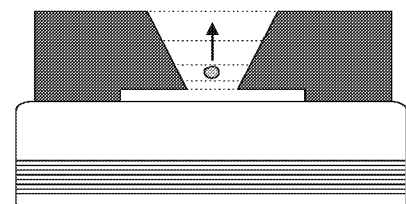


Abb. 3

Partikeltrennung im Magnetfeld. Diamagnetische Partikel erfahren eine Kraft in Richtung abnehmender Magnetfeldstärke, bis diese im Gleichgewicht mit der Gravitationskraft ist.

wirken nun Kräfte auf die Partikel, deren Größe und Richtung von den magnetischen Partikeleigenschaften abhängig sind. Die in der magnetischen Lösung suspendierten Partikel regeln sich gemäß dem Gleichgewicht zwischen magnetischer Kraft und Gravitationskraft ein (verändert nach *Janér & Jungner* (1982)):

$$(3) \quad F_g = V_p (\rho_p - \rho_m) \cdot g \quad \text{und} \quad F_m = F_g$$

F_g = Gravitationskraft [N]

V_p = Volumen des Partikels [m^3]

ρ_p = Dichte des Partikels [kg/m^3]

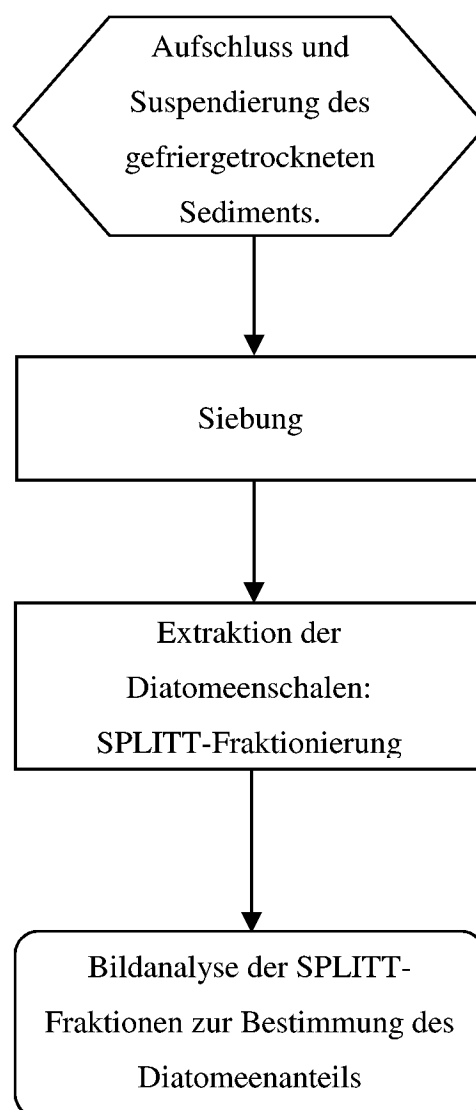
ρ_m = Dichte des Mediums [kg/m^3]

g = Gravitationskonstante [m/s^2]

Jungner nutzt diese Methode, um (diamagnetische) Quarzkörner der Siebfraktion $> 200 \mu\text{m}$ für Thermolumineszenz-Untersuchungen zu extrahieren (*Jungner, pers. Mitt.*). Diatomeenschalen sollten ebenfalls diamagnetische Eigenschaften aufweisen, da es sich um Skelette aus amorphem SiO_2 handelt. Die Permeabilitätskonstante ist jedoch von kristallinem Quarz verschieden. Theoretisch ließen sich die Schalen daher magnetisch von Mineralen trennen. Praktisch aber ist die Viskosität der benötigten paramagnetischen Mn^{2+} -Lösung so hoch, dass kleine Partikel sich fast nicht mehr bewegen. Bei geringerer Konzentration der Lösung lässt sich die benötigte magnetische Feldstärke nur unter hohem apparativem Aufwand erreichen. Eine magnetische Trennung ist daher als einfache Methode nicht einsetzbar.

2 Ausgewähltes Verfahren zur Trennung von Diatomeenschalen

In den folgenden Kapiteln werden die einzelnen Schritte des gewählten Extraktionsverfahrens für Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten beschrieben. Um einen Überblick über den Gesamtablauf des Verfahrens zu geben, sei vorab ein Schema der einzelnen Verfahrensschritte dargestellt.



2.1 *Herkunft des Probenmaterials*

Das Extraktionsverfahren wurde mit limnischen Sedimenten unterschiedlicher Herkunft getestet. Die Auswahl des Materials folgte dem Gedanken ein möglichst großes Spektrum von Material aus unterschiedlichen Regionen, unterschiedlichen Alters und unterschiedlichen Verfestigungsgrads zu testen.

2.1.1 Material aus Sedimentfallen im Holzmaar (Eifel)

Das Material stammte aus Sedimentfallen die in 7 m Wassertiefe, über dem Seetiefsten angebracht waren. Die Fallen bestanden aus 2 parallelen Röhren von 1 m Länge und 10 cm Durchmesser. Der Sedimentations-Zeitraum betrug 2 Wochen. Zur Bearbeitung kamen zwei Proben, die im Sommer genommen wurden (7.9.1999 und 21.9.1999). Die Proben wurden am Probenahmetag eingefroren und anschließend gefriergetrocknet.

Hydrographische Kenndaten des Holzmaars (*Scharf*, 1987):

Lage	50°7' N, 6°53' E
max. Tiefe	19 m
Seefläche	0,058 km ²
Einzugsgebiet	2,25 km ²
Höhe ü. NN	425 m

2.1.2 Rezent es Sediment aus dem Holzmaar (Eifel)

Das Sediment wurde mit Hilfe eines Kastengreifers den obersten 15 - 20 cm des Seebodens entnommen. Die Beprobungsstelle lag im Seetiefsten (19 m). Zur Aufbewahrung wurde das Sediment in eine 2 l-Flasche aus Polyethen (PE) gefüllt und im Kühlschrank bei ca. 4°C gelagert. Von der Gesamtprobe wurden Teilproben entnommen, eingefroren und gefriergetrocknet.

2.1.3 Rezent es Sediment aus dem Bachsee (Schweiz)

Die Sedimentprobe aus dem Bachsee wurden von Sonja Hausmann (Universität Bern) zur Verfügung gestellt. Das Material stammte aus dem obersten Zentimeter (0 – 1 cm) eines Sedimentkerns und war vollständig suspendiert. Die Suspension wurde sofort für die SPLITT-Fraktionierung verwendet.

Hydrographische Kenndaten des Bachsees:

Lage	ca. 50 km NE‘ Bern
max. Tiefe	16 m
Seefläche	0,07 km ²
Einzugsgebiet	1,87 km ²
Höhe ü. NN	2265 m

2.1.4 Kernmaterial aus dem Huguang Maar (China)

Das getrocknete Sedimentmaterial aus dem Huguang Maar, stammt aus einer Kerntiefe von 2916 cm und wurde auf ein Alter von etwa 40 000 Jahren datiert. Das Huguang Maar liegt im südlichsten China (21°9‘ N, 110°17‘ E), ca. 200 km westlich von Macao. Die maximale Wassertiefe beträgt heutzutage etwa 20 m.

2.2 *Vorbereitung des Sediments zur Diatomeenextraktion*

2.2.1 Aufschluss des Sediments

Die Abtrennung von Diatomeenschalen aus dem Sediment erfolgt in einer wässrigen Suspension. An Sedimentproben aus dem Holzmaar und dem Huguang Maar wurden unterschiedliche Verfahren zur Suspendierung getestet:

Mechanische Verfahren

- Ultraschallbad: die Behandlung mit Ultraschall unterschiedlicher Intensität und Dauer brachte keine gute Suspendierung und zerstörte einen Großteil der Diatomeenschalen.

- Schüttler: Ohne Hilfsstoffe wie z.B. Natriumdiphosphat (Natriumpyrophosphat, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) oder Natrium-cyclo-hexaphosphat (Natrium-hexametaphosphat, $\text{Na}_6\text{P}_6\text{O}_{18}$) lässt sich das Sediment nicht durch Schütteln suspendieren. Kondensierte Phosphate werden in saurer Lösung und bei hohen Temperaturen (nahe 100°C) verhältnismäßig schnell hydrolytisch abgebaut. Natriumtriphosphat z.B. hat in wässriger Lösung bei pH 3 und 100°C eine Halbwertszeit von Minuten (Ullmann's, 1995). Solange nicht klar ist, ob Phosphate an den Schalen verbleiben und möglicherweise bei den Untersuchungen von Sauerstoffisotopen stören, sollten diese Substanzen vermieden werden.

Chemische Verfahren

- HClO_4 (70%ig) + HNO_3 (65%ig): Das Material wird gut suspendiert. Entwicklung von Stickoxiden.
- H_2O_2 (Hydrogenperoxid): Durch die Entwicklung von O_2 -Bläschen ($2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \uparrow$) an den Oberflächen der Sedimentkörner wird das Sedimentmaterial meist gut suspendiert.

Neben der Suspendierung des Materials ist es wünschenswert gleichzeitig auch das organische Material abzubauen. Im Laufe der Trennversuche stellte sich schnell heraus, dass größere Reste organischen Materials die Trennung stören: sie neigen dazu Partikel einzufangen und zu agglomerieren, und bilden die Grundlage für Bakterien- und Pilzwachstum in der Suspension. Die Reste können z.B. aus kompletten Zellgerüsten von Blaualgen bestehen, wenn das aufgeschlossene Material aus Sedimentfallen stammt, oder auch mikroskopisch nicht erkennbar sein, wenn bereits ein mikrobieller Abbau stattgefunden hatte. Neben H_2O_2 wurden auch HClO_4 und HNO_3 konz. als Oxidationsmittel in wässriger Lösung getestet. Der Vorteil des vollständigeren Abbaus organischer Substanz rechtfertigt nicht den Einsatz dieser problematisch zu handhabenden Stoffe. Allein der Aufwand des Auswaschens der hohen Salzkonzentration lässt ihren Einsatz fragwürdig erscheinen. Daneben ergibt sich das Problem, dass vollständig ihrer organischen Filamente beraubte Diatomeenschalen in ihre Kompartimente zerfallen (Round et al., 1990). Der Einfluss sauerstoffhaltiger Reagenzien auf die isotopische Zusammensetzung der Diatomeenschalen ist darüber hinaus weitgehend unbekannt.

H_2O_2 reagiert je nach den Reaktionsbedingungen unter Radikalbildung oder durch Additions-, Substitutions-, Oxidations- oder Reduktionsreaktionen (Kirk-Othmer, 1994; Ullmann's, 1995).

Radikalbildung:	$\text{HOOH} \rightarrow \text{H}\cdot + \cdot\text{OOH}$ oder $\text{HOOH} \rightarrow 2 \cdot\text{OH}$
Addition:	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Y} \rightarrow \text{Y}\cdot\text{H}_2\text{O}_2$
Substitution:	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{RX} \rightarrow \text{ROOH} + \text{HX}$ $\text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{RX} \rightarrow \text{ROOR} + 2 \text{HX}$
Oxidation:	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{W} \rightarrow \text{WO} + \text{H}_2\text{O}$
Reduktion:	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Z} \rightarrow \text{ZH}_2 + \text{O}_2$

Um den Einsatz des H_2O_2 zu optimieren, wurden verschiedene Versuchsreihen gefahren, wobei folgende Parameter variiert wurden: Menge des H_2O_2 , Katalysatoren, UV-Bestrahlung, Ultraschall, Erhitzen. Von einer 30%igen H_2O_2 -Lösung wurden 20 ml für 1 g gefriergetrocknetes Sediment benötigt. Weniger Flüssigkeit erzeugt eine breiige Masse – es wird schlecht suspendiert. Die benötigte Menge H_2O_2 ist in diesem Fall eher an den Tonanteil im Sediment gebunden, als an den Anteil organischen Materials. Die Zugabe von Katalysatoren erscheint überflüssig, da im Sediment selbst genügend katalytische Stoffe (z.B. Fe, Mn) und Reaktionsoberfläche zur Verfügung stehen. Durch katalytische Zersetzung geht ein Teil des H_2O_2 für den Abbau organischen Materials verloren (*Holleman-Wiberg*, 1995). Dieser Anteil lässt sich durch Einstellung des pH-Werts der Lösung zwischen pH 1 – 4 vermindern (*Kirk-Othmer*, 1994). Eine UV-Bestrahlung mit den Wellenlängen 254 nm und 366 nm zur Erzeugung von mehr freien $\text{HO}\cdot$ -Radikalen erbrachte keinen effektiveren Abbau von organischem Material. Der photokatalytische Abbau von organischer Substanz durch H_2O_2 ist ein mehrfach beschriebenes Verfahren (*Frimmel et al.*, 1992; *Giglio et al.*, 1995; *Kawaguchi & Inagaki*, 1994; *Tuhkanen & Beltrán* 1995) in der Abwasserreinigungs- und Umwelttechnik. Die Tatsache, dass bei diesem Versuch unter UV-Bestrahlung nicht mehr organische Substanz abgebaut wird (Tab. 1), ist vermutlich auf die zu geringe Leistung des UV-Strahlers¹ zurückzuführen, aber auch auf die hohe Absorption der UV-Strahlung an den Sedimentpartikeln.

¹ Handlampe NU-15KL, 2x15 W, Konrad Benda UV-Lampen: Lampenleistung bei 254 nm: 950 $\mu\text{W} / \text{cm}^2$, bei 366 nm: 1200 $\mu\text{W} / \text{cm}^2$ in 15 cm Abstand

Tab. 1

Versuchsschema zur Überprüfung des Abbaus organischer Substanz unter UV-Bestrahlung und H₂O₂.
C-Gehalt im Ausgangsmaterial: 4,59 Gew.%

Wasserbadtemperatur: 25°C; Einwaage: 1 g; H₂O₂ (30%ig): 20 ml; + konz. HCl: < 100 µl;

Ultraschall ein = X, aus = O;

UV-Bestrahlung (Abstand ca. 11cm) = farblich unterlegt sind Einsatz und Dauer der Bestrahlung;

Ultraschall 1% Leistung (Effektive Leistung = 2,25 W bei 35 kHz)

Fall	UV [min]	Verstrichene Zeit [min]										Restgehalt C [Gew.%]
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	105	
A	0	O	O	O	X	O	X	O	X	O	ausheizen	0,52
B	10	O	O	O	X	O	X	O	X	O	ausheizen	0,55
C	20	O	O	O	X	O	X	O	X	O	ausheizen	0,54
D	40	O	O	O	X	O	X	O	X	O	ausheizen	0,55
E	80	O	O	O	X	O	X	O	X	O	ausheizen	0,59

Kurzzeitiger Einsatz von Ultraschall² geringer Leistung unterstützt das Suspendieren des Sediments. Es wurden weniger als 100 µl HCl konz. hinzugefügt³, um evtl. vorhandene geringe Mengen Karbonats zu entfernen. Erhitzen während der Reaktion des H₂O₂ brachte das Gemisch zum Übersäumen. Nur zum Ausheizen des Rest-H₂O₂ wurde letztlich bis zum Sieden erhitzt.

Aus den Vorversuchen resultierte folgendes für die weiteren Versuche im wesentlichen übernommene Ablaufschema, dass durch Fall A der Tab. 1 charakterisiert wird:

- Zugabe von 20ml H₂O₂ 30%ig pro 1 g Trockensediment,
- 30 min reagieren lassen,
- 3mal im Wechsel 10 min Ultraschall / 10 min ruhen,
- Rest-H₂O₂ vorsichtig ausheizen.

(Gesamtdauer ca. 1 ¾ Stunden)

² Sonorex Super 10p von Bandolin, HF-Frequenz 35 kHz, Spitzenleistung 2x450 W / Periode, Effektive Leistung 225 W

³ bei 0,1 ml HCl konz. / 20 ml Lsg.: $10^{-4} \text{ l} \cdot 10 \text{ mol [HCl]} / 1 = 10^{-3} \text{ mol [HCl]} \Rightarrow \text{pH} = 3$

2.2.1.1 Ergebnisse mit unterschiedlichen Probenmaterialien

Rezentes, gefriergetrocknetes Sediment einer Kastengreiferprobe der obersten 15 - 20 cm des Seebodens des Holzmaars wurde durch H_2O_2 vollständig suspendiert.

Frisches, gefriergetrocknetes Material einer Sedimentfalle im Holzmaar wurde zwar gut suspendiert, enthielt dagegen für die Abtrennung der Diatomeenschalen noch zu viele organische Reste.

Limnisches Sediment aus dem Huguang Maar, China – stärker verfestigtes Material mit einem ungefähren Alter von 40000 Jahren, Kerntiefe 2916 cm – enthielt bei gleichem Arbeitsgang noch verschieden große Restaggregate wobei Diatomeenschalen zum größten Teil schon frei in Suspension waren.

Aufgrund der hier gewonnenen Erfahrungen kann das genannte Ablaufschema als Grundschemata zum Aufschluß von limnischen Sedimenten verstanden werden. Den Ergebnissen mit verschiedenen Sedimentproben folgend, muss die Dauer der Behandlung und die H_2O_2 -Menge dem Material entsprechend angepasst werden.

2.2.2 Siebung

Nach Beendigung der Reaktion mit H_2O_2 wurde die Suspension mit H_2O deionisiert auf 1 l verdünnt und sich absetzen lassen. Der schwach saure Überstand wurde abgesaugt und der Bodensatz durch Aufschütteln erneut auf ca. 0,5 l in H_2O deionisiert suspendiert. Es folgte im Anschluß eine Nasssiebung. Als Siebgrenzen⁴ wurden 80 μm und 20 μm gewählt, für eine Mikrosiebung⁵ noch einmal 10 μm und 5 μm . Die Kriterien für die Wahl der Siebgrenzen waren zum einen die beschränkte Verwendbarkeit der SPLITT-Zelle für Korngrößen über 40 μm , zum anderen die Korngrößenverteilung im Sediment und die (Größen-)Verteilung der Diatomeenschalen. Es wurde Suspension auf jeweils ein Sieb gegeben und solange gespült, bis das Spülwasser klar war. Die hindurch gespülte Fraktion wurde auf das nächste Sieb gegeben und gleich behandelt. Die Siebfraktion < 20 μm war nach Beendigung des Siebens, bei 2 g Einwaage, auf etwa 5 l H_2O deionisiert suspendiert. Es wurde mindestens 1 Tag sich absetzen lassen.

Der Zeitbedarf für die Siebung bis 20 μm beträgt ca. ½ Stunde, für eine Mikrosiebung mehr als 2 Stunden.

⁴ Analysesiebe von Retsch, Ø 20 cm

⁵ Nylonsieb von BIOBLOCK Scientific, Ø 30 cm

2.3 Extraktion von Diatomeenschalen

2.3.1 Theoretischer Ansatz

Grundlage einer Partikeltrennung über die Fallgeschwindigkeit in einem Medium ist die von *Stokes* (1845) entwickelte Formel:

$$(4) \quad F = 6 \cdot \pi \cdot r \cdot \eta \cdot v$$

F = Reibungswiderstand [N]

r = Partikelradius [m]

η = dynamische Viskosität des Mediums [Pa s]

v = Sinkgeschwindigkeit [m/s]

Aus ihr lässt sich die Sinkgeschwindigkeit eines Partikels wie folgt ableiten:

$$(5) \quad v = \frac{F}{6 \cdot \pi \cdot r \cdot \eta}$$

Für F gilt nach Gleichung (3), die um den Auftrieb verminderte Gewichtskraft. Eingesetzt in Gleichung (5) ergibt sich:

$$(6) \quad v = \frac{1}{6 \cdot \pi \cdot r \cdot \eta} \cdot V_p \cdot (\rho_p - \rho_m) \cdot g$$

Bei Kugelform der Partikel gilt $V_p = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3$. Damit ergibt sich für Gleichung (6):

$$(7) \quad v = \frac{2}{9} \cdot g \cdot r^2 \cdot \frac{\rho_p - \rho_m}{\eta} \quad [\text{m/s}]$$

g = Gravitationskonstante [m/s²]

ρ_p = Dichte Partikel [kg/m³]

ρ_m = Dichte Medium [kg/m³]

Dabei gelten die Voraussetzungen, dass

- (a) die Partikel Kugelform haben,
- (b) die Partikel starr und glatt sind,

- (c) die Sinkgeschwindigkeit in bestimmten Grenzen bleibt:
 durch die hohe Sinkgeschwindigkeit bei Mineralen der Korngröße $> 50 \mu\text{m}$ wird die Strömung um die Partikel turbulent (nach *Oseen, aus Köster, 1964*), bei Korngrößen $< 2 \mu\text{m}$ nähert sie sich der Diffusionsgeschwindigkeit (*Batel, 1962*),
- (d) das Medium unendliche Ausdehnung haben soll, d.h. der Abstand des Partikels zu einer Wand muss wesentlich mehr, als die doppelte Prandtelsche Grenzschicht sein (Änderung des Mediumwiderstands),
- (e) kein Gleiten der Partikel auftritt (bei flachen Körpern).

Bedingung (a) ist meist nicht erfüllt, daher wird auf den Begriff des Äquivalentradius zurückgegriffen und ein Korrekturfaktor eingeführt. Die Bedingungen (b) bis (d) sind in der hier beschriebenen Methodik meist erfüllt, werden aber später noch diskutiert.

Ein Gemisch verschieden großer Partikel gleicher Dichte lässt sich entsprechend *Stokes* Formel nach Korngrößen auftrennen. Ist das auch bei einem Gemisch von Partikeln unterschiedlicher Größe und Dichte der Fall?

Die Sinkgeschwindigkeiten zweier unterschiedlich großer und dichter Partikel ergeben sich gemäß Gleichung(7):

$$(8) \quad v_1 = \frac{2}{9} \cdot g \cdot r_1^2 \cdot \frac{\rho_{p1} - \rho_m}{\eta}$$

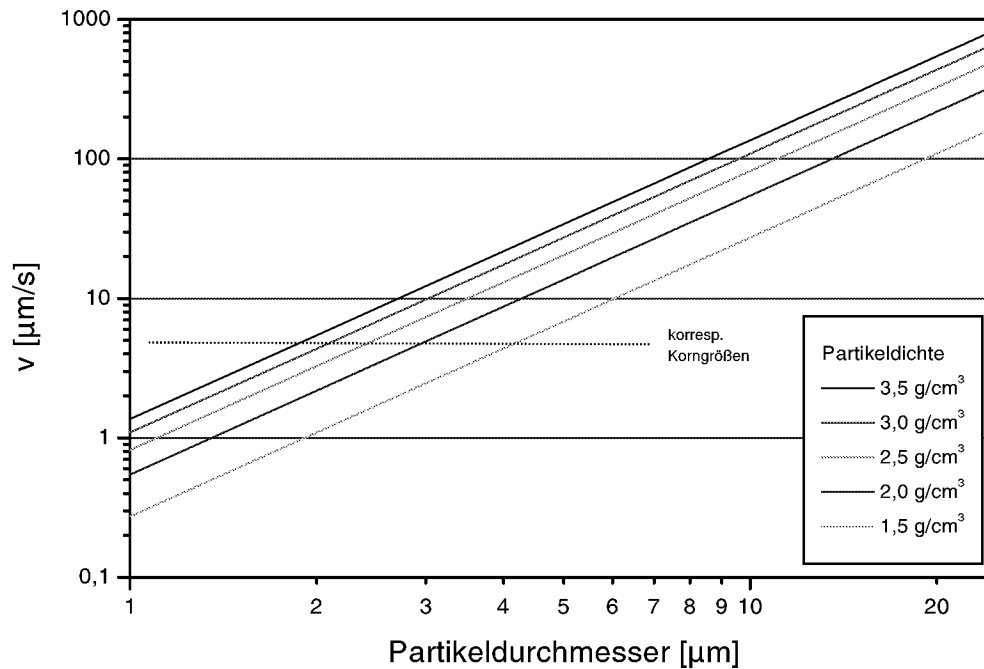
$$(9) \quad v_2 = \frac{2}{9} \cdot g \cdot r_2^2 \cdot \frac{\rho_{p2} - \rho_m}{\eta}$$

Nicht trennbar sind Partikel die gleiche Sinkgeschwindigkeit besitzen:

$$v_1 = v_2$$

$$(10) \quad r_1 = r_2 \cdot \sqrt{\frac{\rho_{p2} - \rho_m}{\rho_{p1} - \rho_m}}$$

d.h. eine Suspension kann korrespondierende Korngrößen besitzen, die in Abhängigkeit zur Dichte gleiche Sinkgeschwindigkeiten besitzen (Abb. 4) und sich damit nicht auftrennen lassen!

**Abb. 4**

Abhängigkeit der Sinkgeschwindigkeit v von der Dichte und Größe eines Partikels.

Horizontale Linie: Beispiel für korrespondierende Korngrößen. Partikel mit gleicher Sinkgeschwindigkeit, bei unterschiedlichen Durchmessern und unterschiedlicher Dichte, sind nicht trennbar.

Dichte des Mediums = $0,998 \text{ g/cm}^3$, dynamische Viskosität = $0,001 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Achsen logarithmisch.

Hier zeigt sich ein Problem für die Auftrennung natürlicher Partikelgemische (Sedimente) mittels Sedimentiermethoden. Es müssen also Methoden kombiniert werden, die unterschiedliche Parameter zur Diskriminierung der Partikel verwenden. Im Fall der hier angewendeten Methodik ist das eine vorgeschaltete Siebung. Ist der Dichteunterschied zwischen zwei Partikelklassen groß genug (bei gleicher Dichte ließen sich die Partikel mittels Sedimentieren auftrennen), können Fraktionen gesiebt werden, in denen keine korrespondierenden Korngrößen vorkommen. Das ist für die angestrebte Abtrennung der Diatomeenschalen wichtig, da das Kieselskelett eine deutlich geringere Dichte aufweist, als der Großteil der Minerale in den untersuchten limnischen Sedimenten.

2.3.2 Sedimentieren im Becherglas

Eine oft angeführte Sedimentiermethode zur Anreicherung, bzw. Abtrennung von Diatomeenschalen aus dem Sediment ist das Absetzenlassen des suspendierten Materials im Becherglas, o.ä. Gefäßen (Juillet-Leclerc, 1984). Diese Methode hat den Vorteil, ohne großen apparativen Aufwand auszukommen. Aber auch hier gilt: Ein beliebiges Korngrößengemisch

lässt sich nicht vollständig auftrennen, da trotz unterschiedlicher Größe das Vorhandensein gleich schnell sinkender Teilchen angenommen werden muss. Auch hier sollte durch vorheriges Sieben eine passende Fraktion erzeugt werden. Verschiedene Autoren machen unterschiedliche Angaben zur Vorgehensweise und den Absetzzeiten:

- *Juillet-Leclerc* (1984): Siebfraktion $> 5 \mu\text{m}$ oder $> 10 \mu\text{m}$. 5maliges Absetzen lassen in 5, 3, 2, 2 und 1 min in $50 - 70 \text{ cm}^3$ Suspension (ohne Angabe des Diatomeengehalts).
- *Shemesh et al.* (1988): Siebfraktion $< 38 \mu\text{m}$ (ohne Angabe der Diatomeengehalts). Mehrfach: Kochen mit Natrium-cyclo-hexaphosphat, bzw. Calgon und 1 – 2 Std. Absetzen lassen, um Tone zu entfernen. Danach 10, 20 und 30 min Absetzen lassen, um größere Minerale zu entfernen.

Ein entscheidender Nachteil des Sedimentierens im Becherglas ist jedoch die nur teilweise erfolgende Auftrennung des Partikelgemischs, nämlich nur im obersten Teil der Suspension (Abb. 5). Je weniger sich die Absinkgeschwindigkeiten der Partikel unterscheiden, desto enger wird die Zone sein, in der sich die aufgetrennten Partikel befinden, d.h. sich nur noch Diatomeenschalen

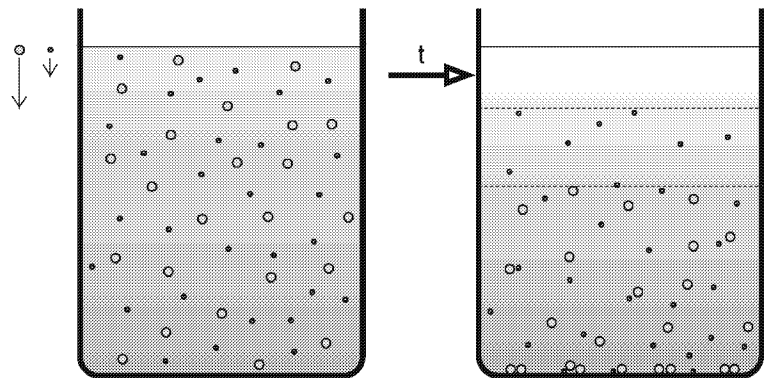


Abb. 5

Schematische Darstellung des Sedimentationsvorgangs im Becherglas, mit nur zwei Partikelgrößen und gleiche Dichte.

finden. Der nutzbare Teil wird zusätzlich durch die Tatsache eingeschränkt, dass beim Abpipettieren der Diatomeenschalen keine Sedimentsuspension angesaugt werden darf. Somit kann immer nur ein Teil der Diatomeenschalen aus der Suspension separiert werden. Für eine höhere Ausbeute sind mehrfache Wiederholungen des Vorgangs nötig, die den Zeitbedarf dieser Methode erhöhen und trotzdem keine vollständige Nutzung des Materials zulassen. Eine möglichst hohe Ausbeute aber ist bei Nutzung der hohen Auflösung laminierter Seesedimente wegen der geringen Materialmenge für eine hochauflösende Isotopenuntersuchung erforderlich.

2.3.3 SPLITT-Fraktionierung

Die SPLITT-Fraktionierung (*split-flow lateral-transport thin separation cells*) (Giddings, 1985) ist ein präparatives Verfahren zur Auftrennung von Partikelgemischen in Suspension. Es werden die hydrodynamischen Eigenschaften der Partikel in laminarer Strömung genutzt. Wie bei der Feld-Fluss-Fraktionierung (*Field-Flow-Fractionation* (FFF)) wird das Partikelgemisch durch eine senkrecht zur Strömungsrichtung einer Trägerflüssigkeit einwirkende Kraft getrennt (z.B. Gravitationskraft). Der Aufbau einer SPLITT-Zelle ist vergleichsweise einfach (Abb. 6). Die wenigen Bauteile formen einen breiten, aber sehr flachen Kanal, der an Ein- und Ausgang von einem Trenner (*splitter*) horizontal geteilt wird. Die Dimensionen des hier verwendeten Kanals⁶ sind 20 cm x 4 cm x 0,0371 cm.

Auf der Eingangsseite wird die Probensuspension kontinuierlich an Eingang a' mit der volumetrischen Fließrate $\dot{V}(a')$ aufgegeben (Abb. 7). Gleichzeitig wird das Transportmedium, meist H₂O *deion.*, kontinuierlich durch Eingang b', mit der Fließrate $\dot{V}(b')$, in die Zelle gepumpt. Zunächst sind die beiden Teilströme noch durch den Trenner voneinander getrennt, nach kurzer Wegstrecke aber vereinigen sich beide Ströme. Die Kontaktfläche wird als Eingangstrennfläche (ISP = *inlet splitter plane*) bezeichnet. Wegen der höheren Fließrate von Teilstrom b', wird die Suspension a' zur Wand hin gedrückt (Abb. 7). Damit ist das Volumen, welches die Probensuspension im Kanal einnimmt, klein im Vergleich zum Gesamtvolumen des Kanals. Unter Einwirkung der Gravitationskraft beginnen die Partikel mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten abzusinken, entsprechend ihrer hydrodynamischen Eigenschaften. Sie treten in die Transportregion ein (Abb. 7), in der die eigentliche Auftrennung erfolgt. Die Zeit, die den Partikeln zur Auftrennung zur Verfügung steht, wird durch die Fließrate der Transportregion bestimmt. Auf der Ausgangsseite wird der Gesamtstrom schließlich durch einen Ausgangstrenner in zwei Teilströme geteilt, die so reguliert sind, dass $\dot{V}(a) > \dot{V}(b)$. Die Kontaktfläche der Teilströme am Ausgang wird als Ausgangstrennfläche (OSP = *outlet splitter plane*) bezeichnet (Abb. 7). Unterhalb der Ausgangstrennfläche führen alle Strömungsflächen zu Ausgang b. Da die Eingangsfließrate $\dot{V}(a')$ kleiner als die Ausgangsfließrate $\dot{V}(a)$ ist, entsteht ein sich überkreuzender Strom, der die Höhe und die Fließrate der Transportregion kontrolliert. Partikel die bis unterhalb der Ausgangstrennfläche abgesunken sind, werden durch Ausgang b abtransportiert; Partikel die kaum abgesunken sind, werden durch Ausgang a abgeleitet. Unter der Annahme, dass alle Partikel gleiche Dichte und Kugelform aufweisen, lässt sich für bestimmte vorgegebene Fließraten eine Korngröße bestimmen, bei der 50% zum Ausgang a und 50% zum Ausgang b gelangen - der Trenndurchmesser (Trennungskorngröße) oder *cut-off* Durchmesser d_c .

⁶ SF1000HC von FFFractionation (Salt Lake City, USA)

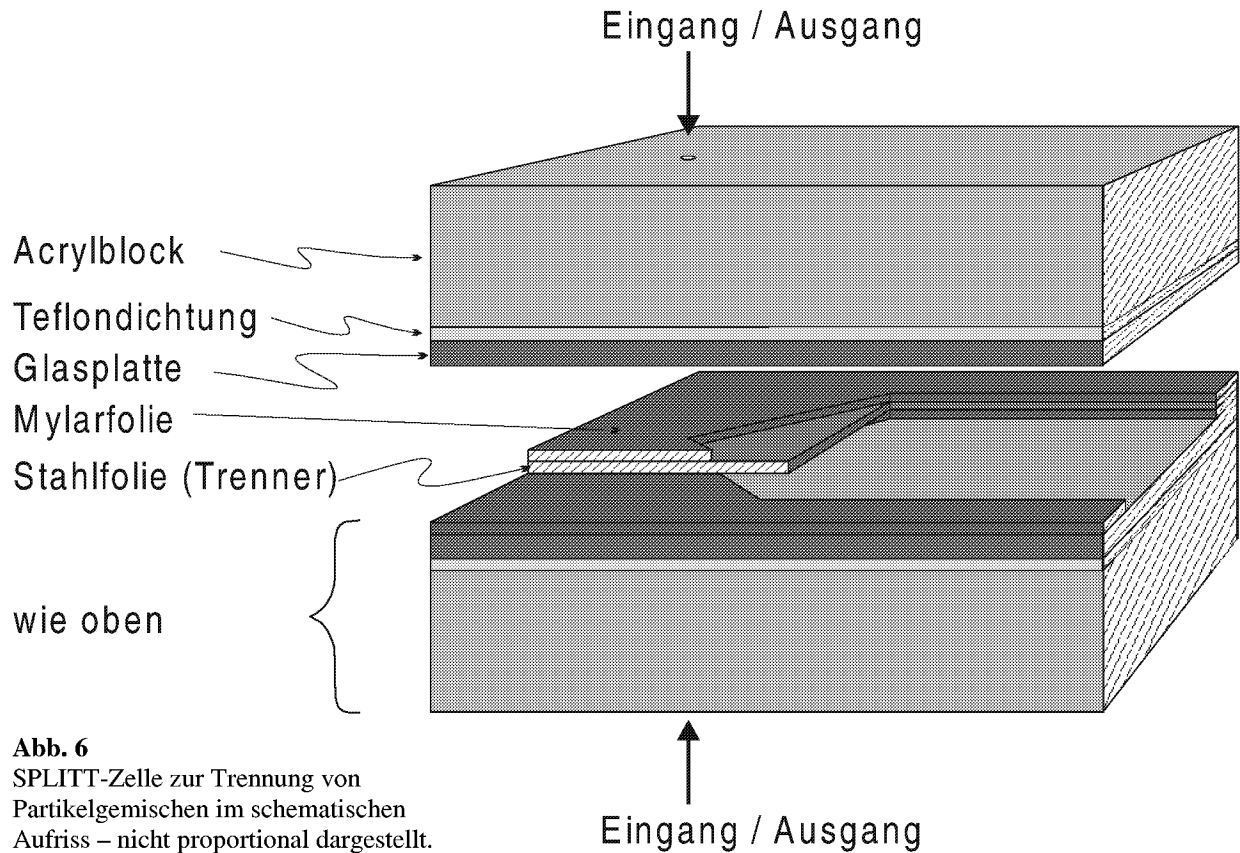


Abb. 6
SPLITT-Zelle zur Trennung von
Partikelgemischen im schematischen
Aufriss – nicht proportional dargestellt.
Da die Zelle symmetrisch aufgebaut ist, gilt
der gleiche Aufbau für Ein- und Ausgang.

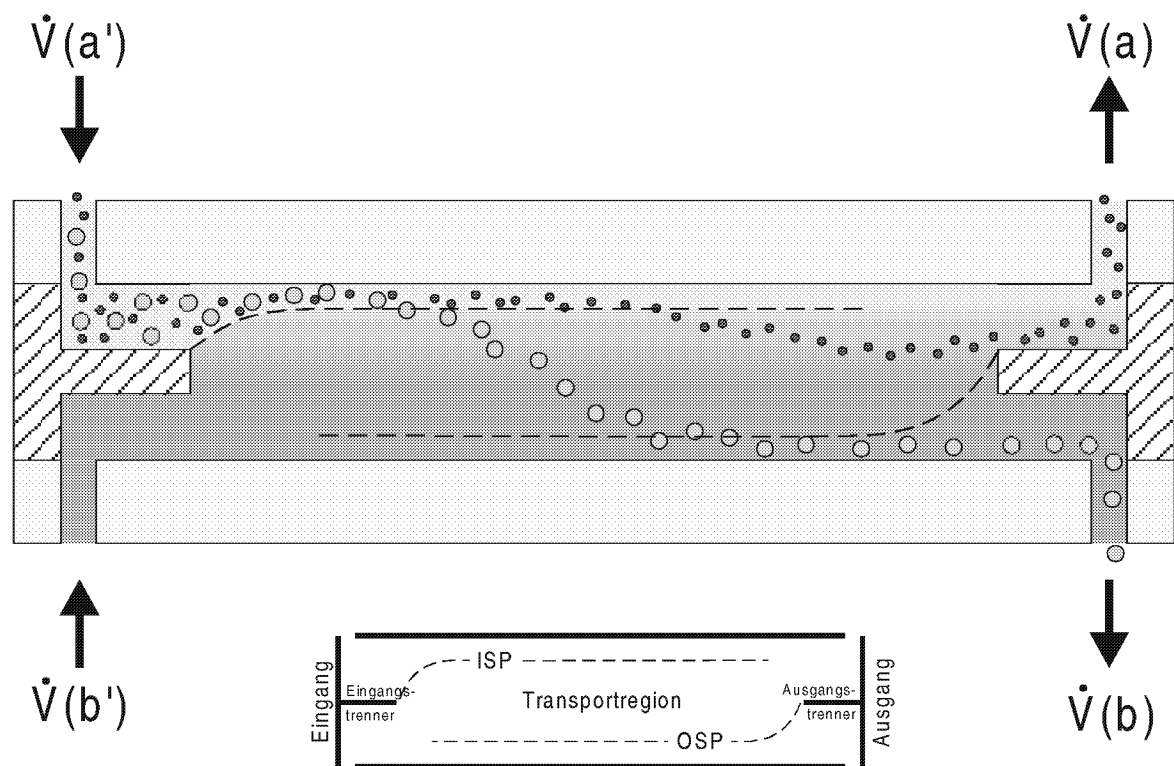
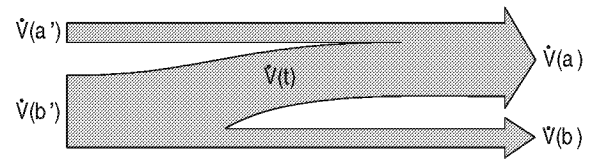


Abb. 7
SPLITT-Zelle im Schnitt – schematische Darstellung, nicht proportional.
ISP = inlet splitter plane, OSP = outlet splitter plane (nach Giddings, 1992)

Zur Berechnung des Trenndurchmessers wird zunächst die Fließrate der Transportregion $\dot{V}(t)$ betrachtet (*Springston et al.*, 1987). Existiert ein überkreuzender Strom, d.h. unter der Voraussetzung $\dot{V}(a') < \dot{V}(b')$ und $\dot{V}(a) > \dot{V}(b)$, gilt

$$(11) \quad \dot{V}(t) = \dot{V}(a) - \dot{V}(a') = \dot{V}(b') - \dot{V}(b)$$



Damit ist $\dot{V}(t)$ der Anteil von $\dot{V}(b')$, der durch die Transportregion zu $\dot{V}(a)$ hinübergeht. Außer in Nähe der Trennerkanten, kann eine laminare Strömung mit planaren Strömungsflächen und parabolischem Geschwindigkeitsprofil angenommen werden. Ein Partikel ist hier in seiner Bewegung zwei Komponenten unterworfen. Zunächst ist in Strömungsrichtung x und Zeit t die Partikelgeschwindigkeit (gleich der Strömungsgeschwindigkeit)

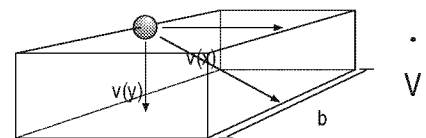
$$(12) \quad v(x) = \frac{dx}{dt}$$

Die gravitativ bedingte Sinkgeschwindigkeit des Teilchens in Richtung y ist des weiteren

$$(13) \quad v(y) = \frac{dy}{dt}$$

Die volumetrische Fließrate $\dot{V}$ in der planaren Strömungsschicht, in der sich das Partikel befindet, ist gegeben durch

$$(14) \quad d\dot{V} = b \cdot dx \cdot \frac{dy}{dt} = b \cdot dx \cdot v(y)$$



b = Breite des Kanals [m]

Integriert über die gesamte Länge des Kanal ergibt sich

$$(15) \quad \Delta\dot{V} = b L v(y)$$

L = Länge des Kanals [m]

Am Ende des Kanals wird ein Partikel auch seine vertikal größte Auslenkung erfahren haben. Die Größe dieser Auslenkung bestimmt, ob ein Partikel bei Ausgang a oder b abgezogen wird. Ein Partikel erreicht im Idealfall nur dann Ausgang b, wenn die Fließrate $\Delta\dot{V}$ größer ist, als die Fließrate der Transportregion $\dot{V}(t)$

$$(16) \quad \Delta\dot{V} > \dot{V}(t)$$

Dies ist der einfachste Fall, unter der Annahme einer monodispersen Menge von Partikeln (einheitliche Dichte und Größe), die alle sofort nach dem Trenner in die Transportregion absinken. Dabei wird auch vernachlässigt, dass der Trenner eine gewisse Dicke besitzt. Der Trenner der verwendeten SPLITT-Zelle nimmt immerhin 1/3 der Kanalhöhe ein (127 μm). Dies hat vor allem auf der Ausgangsseite Konsequenzen, da ein Partikel dort durchaus gegen die Trennerkante stoßen kann. Betrachtet man den Fall, dass diese Partikel über die Einströmregion gleichmäßig verteilt sind, werden zum einen Partikel in die Transportregion eintreten, während andere noch innerhalb der Einströmregion absinken. Es werden also u.U. nicht alle Partikel zum selben Ausgang gelangen, obwohl sie gleiche Dimension und Dichte besitzen. Um die Fraktion F_b an Partikeln zu bestimmen, die zu Ausgang b gelangen, werden folgende Extremfälle beschrieben

$$(17) \quad F_b = 0 \quad \text{für} \quad \dot{V}(t) \geq \Delta\dot{V}$$

$$(18) \quad F_b = 1 \quad \text{für} \quad \dot{V}(t) + \dot{V}(a') \leq \Delta\dot{V}$$

Für alle anderen Fälle gilt, dass in der Einströmregion Strömungsflächen existieren, unterhalb derer die Partikel zu Ausgang b gelangen, oberhalb derer zu Ausgang a (Abb. 8). Der Anteil F_b ist dann

$$(19) \quad F_b = \frac{\Delta\dot{V} - \dot{V}(t)}{\dot{V}(a')} \quad \text{für} \quad \dot{V}(t) + \dot{V}(a') \geq \Delta\dot{V} \geq \dot{V}(t)$$

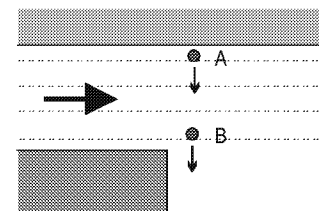


Abb. 8
Partikel B erreicht Ausgang b, Partikel A nicht.

$\dot{V}(t)$ kann gemäß Gleichung (11) ersetzt werden

$$(20) \quad F_b = \frac{\Delta \dot{V} + \dot{V}(a')}{\dot{V}(a')} - \frac{\dot{V}(a)}{\dot{V}(a')}$$

Für ein Partikelgemisch (einheitliche Dichte, unterschiedliche Größen), soll nun der Durchmesser bestimmt werden, bei dem ein Partikel Ausgang b erreicht, wenn es an der Grenze zur Transportregion startet, also unter Vernachlässigung der zuvor beschriebenen Situation.

Die Sinkgeschwindigkeit beträgt nach *Stokes* (modifiziert) (*Springston et al.*, 1987)

$$(21) \quad v(y) = \frac{1}{18} \cdot g \cdot d^2 \cdot \frac{\Delta \rho}{\eta \cdot \left(\frac{f}{f_0} \right)} = g \cdot s$$

f / f_0 = Korrekturfaktor für nichtsphärische Partikel

s = Sedimentationskoeffizient [s]

$v(y)$ sollte so groß sein, dass während des Transports zu den Ausgängen das Partikel die gesamte Transportregion durchqueren kann. Die Bedingung dafür beschreibt die Ungleichung (16). Unter Verwendung von Gleichung (15) ergibt sich

$$(22) \quad v(y) > \frac{\dot{V}(t)}{bL}$$

Die kritische Sinkgeschwindigkeit für ein Partikel, bei der sowohl Ausgang b, als auch a erreicht wird ist demnach

$$(23) \quad v_{\text{krit}}(y) = \frac{\dot{V}(t)}{bL}$$

Substituiert man $v(y)$ in Gleichung (21) durch $v_{\text{krit}}(y)$ ergibt sich der kritische Partikeldurchmesser

$$(24) \quad d_{\text{krit}} = \sqrt{\frac{18 \cdot \eta \cdot \left(\frac{f}{f_0}\right)}{b \cdot L \cdot g \cdot \Delta \rho}} \cdot \dot{V}(t)$$

Wie eingangs erwähnt, bezeichnet der Trenndurchmesser die Größe eines Partikels, bei dem jeweils 50% der Partikel Ausgang a, bzw. b verlassen. F_b nimmt den Wert 0,5 an. Damit wird Gleichung (19) zu

$$(25) \quad \frac{1}{2} = \frac{\Delta \dot{V} - \dot{V}(t)}{\dot{V}(a')}$$

und mit Gleichung (15) zu

$$(26) \quad v(y) = \frac{\dot{V}(t) + \frac{1}{2} \dot{V}(a')}{bL}$$

Der Trenndurchmesser d_c ergibt sich aus der Substitution von $v(y)$ in Gleichung (21) mit Gleichung (26)

$$(27) \quad d_c = \left(\frac{18 \cdot \eta \cdot \left(\frac{f}{f_0}\right)}{b \cdot L \cdot g \cdot \Delta \rho} \cdot \left[\dot{V}(t) + \frac{1}{2} \dot{V}(a') \right] \right)^{\frac{1}{2}}$$

Allgemein lässt sich der dem Anteil F_b entsprechende Durchmesser bestimmen über

$$(28) \quad d_{F_b} = \left(\frac{18 \cdot \eta \cdot \left(\frac{f}{f_0}\right)}{b \cdot L \cdot g \cdot \Delta \rho} \cdot \left[\dot{V}(a) - \dot{V}(a') + F_b \cdot \dot{V}(a') \right] \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{für } 0 \leq F_b \leq 1$$

Damit ergibt sich ein Partikelgrößenintervall innerhalb dessen nicht vollständig getrennt werden kann. Die Größe dieses Intervalls bestimmt das theoretische Auflösungsvermögen der SPLITT-Zelle. *Giddings (1992)* drückt dies mit folgender Gleichung aus:

$$(29) \quad \frac{d_1}{d_1 - d_0} \cong 2 \frac{\dot{V}(a)}{\dot{V}(a')}$$

d_1 = Partikeldurchmesser bei $F_b = 1$

d_0 = Partikeldurchmesser bei $F_b = 0$

Bei einheitlicher Dichte (und Form) der Partikel, ist die Intervallbreite nur von den Fließraten abhängig. Die Situation stellt sich anders dar, wenn das Partikelgemisch ein natürliches Sediment ist. In diesem Fall haben die Partikel unterschiedliche Dichten und Formen und damit verschlechtert sich auch das Auflösungsvermögen der SPLITT-Zelle. In der Frage der Extraktion von Diatomeenschalen muss dies nicht unbedingt eine Rolle spielen, solange das Partikelgrößenintervall nicht in den Bereich der Größen der Diatomeenschalen selbst fällt. Ein weiterer Unterschied zu den theoretischen Betrachtungen ergibt sich aus der Form der Diatomeen. Bisher wurde durchweg eine runde Form der Partikel angenommen. Dies kann in erster Näherung für einen Teil der mineralischen Partikel angenommen werden, aber nicht für Diatomeen. Diatomeenschalen sind meist eher flächig gebaut. Es können vielfältige symmetrische Formen vorkommen, von Kreisform, über sigmoidale, zu nadelförmigen Formen (siehe Kapitel 1.2, "Aufbau der Diatomeenschale"). Die Fähigkeit, ihre Sinkgeschwindigkeiten zu verringern, ist bei Diatomeen eine Frage der Anpassung an den Lebensraum. Planktonische Taxa bilden Schallengeometrien aus, die eine möglichst große Oberfläche gegenüber dem Volumen aufweisen, um eine größtmögliche Reibung und damit ein langsames Absinken zu erzielen. Dies wird z.B. auch durch Bildung bestimmter Kolonieformen oder langer Chitinfortsätze an den Schalen erreicht. Benthische Taxa zeigen dagegen eine größere Vielfalt an Schalenformen.

Hieraus folgt, dass Diatomeen gleitend absinken und die *Stokes'sche* Gleichung nicht ohne weiteres anwendbar ist. Es hängt viel davon ab, wie sich die Schale in der Strömung orientiert:

- mit der Breitseite entgegen der Absinkrichtung $\Rightarrow$ langsames Sinken
- mit der Schmalseite entgegen der Absinkrichtung $\Rightarrow$ schnelleres Sinken

Die Tendenz, im Vergleich zur Größe relativ langsam abzusinken, bietet wiederum einen Vorteil: die Schalen können mit SPLITT-Fraktionierung von Mineralpartikeln getrennt werden, die deutlich kleiner sind als sie selbst. Der Anteil verbleibender Mineralpartikel lässt sich wiederum absieben.

Um die Anwendbarkeit der SPLITT-Fraktionierung zur Partikeltrennung realistisch einschätzen zu können müssen diejenigen Faktoren bzw. Randbedingungen, die zu einer Einschränkung des Trennvermögens führen näher erläutert werden.

2.3.3.1 Partikelgröße

Für den Auftrennungsprozess muss ein genügend langer Absinkweg zur Verfügung stehen. Limitierend ist hier die Kanalhöhe. Im allgemeinen wird davon ausgegangen, dass für ein gutes Trennungsergebnis der Trenndurchmesser d_t 1/10 der Kanalhöhe nicht überschreiten sollte (Jiang *et al.*, 1997). Ferner besteht bei zu großen Partikeln die Gefahr von Verstopfung der Zuleitungen oder des Kanals.

2.3.3.2 Diffusion

Wie bereits erwähnt überwiegt unterhalb einer bestimmten Partikelgröße die Diffusion gegenüber dem Absinken. Kleinere Partikel können nicht mehr getrennt werden, wohl aber größere Partikel von den kleineren. Eine Möglichkeit die Anwendbarkeit der SPLITT-Fraktionierung für kleine Partikel zu beurteilen, ist die theoretische Anzahl N erzeugter Böden während des Transports (Giddings, 1992)

$$(30) \quad N = \frac{F \cdot w_t}{2kT}$$

$$\text{mit } F = \frac{1}{6} \cdot \pi \cdot g \cdot d^3 \cdot \Delta\rho$$

F = Kraft, die das Partikel absinken lässt (hier Gravitationskraft)

w_t = Länge des Transportwegs

kT = thermische Energie

Giddings entsprechend, sollte $N \geq 100$ sein. Beispielsweise wäre für Partikel der Dichtedifferenz 2 g/cm^3 die Untergrenze für gravitative SPLITT-Fraktionierung bei einem Durchmesser von $0,6 \text{ }\mu\text{m}$ (*Jiang et al.*, 1997). Der Einsatz einer größeren Kraft F , z.B. durch eine Zentrifuge, lässt diese untere Grenze sinken.

2.3.3.3 Turbulenzen

Turbulenzen innerhalb des Kanals führen zur Durchmischung während des Trennungsvorgangs. Damit ist eine Trennung weitgehend unmöglich. Das Entstehen von Turbulenzen ist u.a. von der Strömungsgeschwindigkeit im Kanal abhängig. Eine beschreibende Größe hierfür ist die Reynolds-Zahl Re . Für einen flachen, rechtwinkligen Kanal der Breite b , Dichte ρ und dynamischen Viskosität η der Trägerflüssigkeit ist (*Fuh et al.*, 1995)

$$(31) \quad Re = \frac{\dot{V} \cdot \rho}{b \cdot \eta}$$

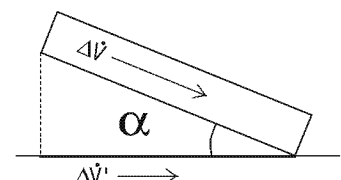
$$\dot{V} = \text{Gesamtfließrate, } \dot{V} = \dot{V}(a') + \dot{V}(b')$$

Fuh gibt im Zusammenhang mit unterschiedlichen Einstromverhältnissen ($r' = \dot{V}(b') / \dot{V}(a')$) verschiedene, errechnete Reynolds-Zahlen an. Es traten Turbulenzen in der Nähe der Einlasstrennerkante schon auf bei $r' = 4$, $Re = 42$ und $r' = 13$, $Re = 21$. Normalerweise würde man Turbulenzen ab einer Reynolds-Zahl von $Re \approx 1000$ erwarten. Die von *Fuh* beschriebenen Modellrechnungen zeigen, dass die Turbulenzen mit der Geometrie des Trenners in Zusammenhang stehen und durch Strömungsasymmetrien ($\dot{V}(b') \gg \dot{V}(a')$) beeinflusst werden. Des weiteren können Turbulenzen durch hohe Gesamtfließraten entstehen, Unebenheiten des Trenners, Unebenheiten der Trennerkante oder Ablagerungen im Kanal.

Eine Möglichkeit die Fließraten zu verringern, die für die Trennung großer Partikel benötigt werden, ist die Schrägstellung der SPLITT-Zelle (*Jiang et al.*, 1997). Unter einem Winkel ist der senkrecht zur Strömungsrichtung wirkende Kraftanteil geringer, bzw. ist die für die Sedimentation zur Verfügung stehende Fläche kleiner.

Es ergibt sich

$$(32) \quad \Delta \dot{V}' = \Delta \dot{V} \cdot \cos \alpha$$



2.3.3.4 Partikeldurchsatz

Der Partikeldurchsatz TP (*throughput*) der SPLITT-Fraktionierung ist proportional zur Probenfließrate $\dot{V}(a')$ und Partikelkonzentration ϕ (Giddings, 1992)

$$(33) \quad TP = \frac{Z}{t} = \frac{Z}{V} \cdot \frac{V}{t} = \phi \cdot \dot{V} \quad Z = \text{Anzahl der Partikel, } V = \text{Volumen}$$

und mit $\dot{V} = \dot{V}(a')$ ergibt sich

$$(34) \quad TP = \frac{1}{9} \cdot \phi \cdot b \cdot L \cdot g \frac{\Delta\rho}{\eta} \cdot \bar{d}^2 \cdot \frac{\Delta d}{d}$$

Δd = Differenz der Partikeldurchmesser bei $F_b = 1$ und $F_b = 0$

$\bar{d}$ = Mittelwert der Partikeldurchmesser bei $F_b = 1$ und $F_b = 0$

Bei konstanter Fließrate $\dot{V}(a')$ ist der Partikeldurchsatz linear proportional zur Partikelkonzentration und Kanalfäche. Die Fließrate $\dot{V}(a')$ kann bei gleich bleibendem Trenndurchmesser d_c zum einen nur unter Verschlechterung der Auflösung erhöht werden, zum anderen setzt der Beginn von Turbulenzen eine obere Grenze. Die Partikelkonzentration sollte $< 1\%$ betragen (Jiang *et al.* 1997, Gupta 1997). Bei zu hoher Partikelkonzentration beginnt die laminare Strömung instabil zu werden, da die Dichte der Probensuspension deutlich die Dichte der Trägerflüssigkeit übersteigt. Ist im Partikelgemisch der Probensuspension ein großes Korngrößenspektrum vorhanden, können kleinere Partikel durch absinkende größere Partikel mitgerissen werden. Die Partikelkonzentration sollte in diesem Fall noch niedriger gewählt werden. Maßgebend ist hier der Abstand der Teilchen untereinander, nicht der Massenanteil. Eine Erhöhung des Durchsatzes über die Kanalfäche kann durch eine veränderte Geometrie der SPLITT-Zelle erreicht werden oder durch parallele Verwendung mehrerer SPLITT-Zellen.

2.3.4 Modifizierte SPLITT-Fraktionierung

Neben der hier beschriebenen SPLITT-Fraktionierung mittels Sedimentierens, kann die SPLITT-Methodik modifiziert werden.

Giddings (1988) und *Zhang et al.* (1994) beschreiben die Nutzung hydrodynamischer Auftriebskräfte zur Partikelfraktionierung. Die Auftriebskräfte sind nur nahe der Kanalwände groß genug, Partikel weg von der Wand zu treiben. Im Gleichgewicht zwischen hydrodynamischer Auftriebskraft und Gewichtskraft bilden die Partikel in der Strömung Lagen gleicher Partikelklassen und können daher getrennt werden.

Levin et al. (1989) führt eine elektrische SPLITT-Zelle zur Trennung von Proteinen ein. Die Kanalwände werden durch Elektroden aufgebaut, die ein elektrisches Feld innerhalb des Kanals erzeugen. Hier bestimmen die elektrochemischen Eigenschaften der Partikel das Trennungsergebnis.

Magnetische Methoden werden von *Zborowski et al.* (1997) und *Fuh & Chen* (1998) beschrieben. *Zborowski* nutzt ein Quadrupol-Magnetfeld zur Trennung von Lymphocyten. *Fuh* trennt technische Partikel (Dynabeads, Polystyrene, Quarz, Glas, z.T. mit Er^{3+} , bzw. Fe^{3+} belegt) über deren magnetische Eigenschaften.

Denkbar sind auch z.B. pH-, Thermo- oder Dichtegradienten innerhalb des SPLITT-Kanals, zur Trennung von Partikeln.

Entsprechende Modifizierungen wurden in dieser Arbeit nicht verwendet, da sie den Aufwand für die Handhabung der Trennung stark vergrößert hätten.

2.4 Entwicklung eines Verfahrens zur Charakterisierung der SPLITT-Fractionen - Bildverarbeitung

Die in den Versuchsreihen zur SPLITT-Fraktionierung erzeugten Fraktionen sollten soweit analytisch erfasst werden, dass eine Aussage über die Qualität und Quantität der Diatomeenextraktion gemacht werden kann. Die meisten Partikelanalysemethoden erfassen nicht gleichzeitig Partikelgrößenverteilungen für verschiedene Klassen von Partikeln innerhalb desselben Gemischs. Eine Unterscheidung zwischen Diatomeen und Mineralen ist hier aber notwendig. Zunächst wurde versucht eine mikroskopische Zählung der Partikel durchzuführen, was jedoch ob der großen Partikelzahlen scheiterte. Als vergleichsweise

einfaches Analyseverfahren wurde die Bildanalyse von Mikroskopbildern (Anhang D) gewählt. Die Bildanalyse wird bereits für vielfältige Aufgaben eingesetzt, z.B. in der Satelliten- / Luftbildauswertung, in der Mikrobiologie, in der Metallurgie etc. (Russ, 1999). Für die gleichzeitige Korngrößenanalyse und Zählung der Diatomeenschalen im selben Präparat stand noch kein Bildanalyseverfahren zur Verfügung. Im Zuge der Analyse der SPLITT-Fractionen wurde ein entsprechendes Verfahren entwickelt, bei dem interaktiv zwischen Mineral und Diatomee unterschieden wird.

2.4.1 Mikroskopie

Die Qualität der Bildanalyse hängt u.a. von der Qualität der mikroskopischen Aufnahme ab. Die Partikel müssen gut suspendiert sein, es dürfen sich keine Aggregate bilden und die Partikeldichte darf nicht zu hoch sein. Zunächst wurde mit verdünnter Suspension mikroskopiert. Die Proben wurden mit Hilfe von Messungen der optischen Dichte der Suspensionen auf etwa gleiche Partikeldichte verdünnt.

Durch die Flüssigkeitsverdunstung entstehen unter dem Deckglas Strömungen, die Partikel mittransportieren und zu Aggregaten zusammenlagern. Durch den Zusatz von Glyzerin wurde versucht dies zu verhindern. Als Nachteil musste die Verschlechterung der Abbildungsschärfe, aufgrund veränderter Lichtbrechung der Suspension in Kauf genommen werden. Eine Verbesserung der Mikroskopbildqualität wurde durch das Anfertigen von Trockenpräparaten erreicht. Verdünnte Probensuspension wurde auf die kreisförmigen Felder ($\varnothing$ ca. 7 mm) eines speziellen Objektträgers⁷, der in der Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH), bzw. Biotechnologie Anwendung findet, getropft und trocknete ein. Aufgrund der Oberflächenspannung des Wassers bildet sich ein gewölbter Tropfen auf dem Objektträger. In der Tropfenmitte ist das trocknende Volumen größer als zum Rand hin, es bildet sich somit eine sehr ungleichförmige Partikelverteilung auf dem Präparat aus. Der Zusatz von Ethanol, bzw. Aceton zur Verringerung der Oberflächenspannung brachte keine deutliche Verbesserung. Mit Hilfe von Tensiden (Agepon[®], von Agfa) wurde eine bessere Verteilung der Probe erreicht. Die Tensidmenge muss so bemessen sein, dass sich nach dem Eintrocknen kein Tensidfilm über das Präparat legt.

⁷ Diagnostika-Objektträger mit Lochmaske aus schwarzer, hydrophober Epoxybeschichtung, von Firma Roth

Es wurden unterschiedliche Beleuchtungsarten mit folgenden Ergebnissen getestet:

- **Dunkelfeld** - ungenügende Erfassung der kleinsten Teilchen
- **Phasenkontrast** - der helle Lichtrand um die Partikel bereitet bei der Bildanalyse Schwierigkeiten. Phasenkontrast wurde bei allen Bildern verwendet, die direkt von den Suspensionen gemacht wurden.
- **Hellfeld** - für die Mikroskopie der Trockenpräparate erwies sich das Hellfeld am geeignetsten.

Des weiteren wurde eine Färbung mit einem Fluoreszenzfarbstoff⁸ (SYTOX[®] Green) getestet. Die Färbung brachte kein befriedigendes Ergebnis und es wurde auf weitere Versuche verzichtet. Dennoch ist anzunehmen, dass mit der ständigen Entwicklung von Fluoreszenzfarbstoffen und Färbetechniken hier noch Möglichkeiten für die Sedimentmikroskopie bestehen.

Das Videosystem zur Aufnahme der Mikroskopbilder bestand aus Videokamera⁹, *frame grabber* (Analog-Digital Wandler) und Videosoftware¹⁰. Videokamera und Fluoreszenzmikroskop wurden im Laufe der Arbeit ausgewechselt. Es traten daher Veränderungen in der Pixelzahl der Bilder, sowie der gemessenen Größenverteilung auf. Die Bildformate hatten daher 716 x 572 und 752 x 548 Pixel, und die Größe eines Pixels entsprach 0,761 μm , bzw. 0,8219 μm . Die Aufnahmen wurden als 24 Bit RGB-Bitmap (Rot, Grün, Blau) gespeichert. In einer RGB-Bitmap werden die Intensitäten der Farbkanäle durch eine Zahl zwischen 0 und 255 (8 Bit) angegeben.

2.4.2 Bildverarbeitung

Die Aufnahmen wurden mit einer Bildverarbeitungssoftware¹¹ weiterverarbeitet. Es wurde für den aufeinander folgenden Einsatz verschiedener Bildfilter ein Makro (automatisierter Arbeitsablauf innerhalb einer Softwareanwendung) geschrieben und weiterentwickelt. Ziel des Filtereinsatzes war es, aus dem Farbbild ein binäres Schwarzweißbild herauszufiltern, das nur noch die zu vermessenden Partikel zeigt.

Die Details der Bildverarbeitung sind Anhang A zu entnehmen.

⁸ SYTOX[®] Green von Molecular Probes Europe BV, Niederlande

⁹ Progressive 3 CCD, Color Video Camera; Sony

¹⁰ Lucia32[®], Version 4.11, Laboratory Imaging

¹¹ KS400 Imaging System, Version 3.0, Kontron Elektronik, Vertrieb Carl Zeiss GmbH

2.5 Korngrößenmessung mit einem elektronischen Partikelzähler

Für wenige Proben wurden Vergleichsmessungen mit einem elektronischen Partikelzählgerät¹² („Coulter Counter“) durchgeführt. Ein direkter Vergleich der Datensätze aus Bildanalyse und der Messung mit dem „Coulter Counter“ ist nicht möglich, da bei der elektronischen Messung Volumina aus der Änderung von Spannungswerten errechnet werden und darüber hinaus nicht zwischen verschiedenen Partikelklassen (Diatomee / Mineral) einer Suspension unterschieden wird. Das Messprinzip beruht auf der Abhängigkeit des Widerstands einer elektrolytischen Suspension vom Volumen eines Partikels, innerhalb einer Kapillaröffnung (Grover *et. al.*, 1969, 1972). In einer elektrolytischen Suspension wird ein elektrisches Feld angelegt, das nur durch eine kapillarförmige, zylindrische Öffnung führt. Treten nichtleitende Partikel durch diese Öffnung, ändert sich der Widerstand und es wird ein Spannungssignal erzeugt. Während der Messung wird laufend Suspension durch die Öffnung gepumpt. Die Art des Signals der Widerstandsänderung ist davon abhängig, wie sich ein Partikel durch die Öffnung bewegt. Einfluss hat die Distanz des Bewegungspfads zur Öffnungsmitte und die Orientierung von nichtsphärischen Partikeln innerhalb der Öffnung. Nach Signalverstärkung und Verarbeitung kann auf das effektive Volumen zurückgeschlossen werden, wenn der Formfaktor bekannt ist. Das effektive Volumen unterscheidet sich insoweit vom realen Volumen eines Partikels, als das z.B. Poren oder unterschiedlich elektrische Eigenschaften gleich großer Partikel zu unterschiedlichen effektiven Volumina führen. Der Formfaktor ist abhängig von der Orientierung des Partikels in der Öffnung. Die Dimension der Öffnung muss den zu messenden Partikeln angepasst sein.

Für die Partikelmessung wurde eine 3%ige NaCl-Lösung verwendet, die zuvor mit einem 0,2 µm Filter¹³ filtriert wurde, um Verunreinigungen zu entfernen.

¹² Elzone® PC 280, von Particle Data Europe (Consdorf, Luxemburg)

¹³ 0,2 µm Filter von Sartorius

2.6 Randbedingungen für Isotopenmessungen an Diatomeenschalen

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist, eine Extraktion von Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten zu erreichen. Dabei geht es in einem ersten Schritt um die Abtrennung sämtlicher minerogenen Beimischungen und in einem zweiten Schritt um die Separierung von verschiedenen Diatomeenarten. Im zweiten Fall kann allerdings nicht unbedingt eine Trennung verschiedener Spezies voneinander durchgeführt werden, weil durchaus verschiedene Diatomeenspezies etwa gleiche Gestalt bzw. Größe besitzen. Dennoch ist es interessant Diatomeenfraktionen unterschiedlicher Größe zu generieren.

Diese garantieren zumindest die Trennung bestimmter Klassen von Diatomeen voneinander. Immerhin ist nicht auszuschließen, dass unterschiedliche Diatomeenspezies biogen bedingt zu unterschiedlichen Werten der Sauerstoffisotopenverhältnisse führen. Derartige intensive Untersuchungen stehen noch aus, bedürfen jedoch in einem ersten Schritt der sauberen Trennung von anderen Sauerstoff enthaltenden Materialien. Diese Bedingung wird durch die SPLITT-Fraktionierung erfüllt.

Die separierten Diatomeenschalen sollen für eine Untersuchung der stabilen Sauerstoffisotope genutzt werden. Eine wichtige Frage hierbei ist, wie das silikatische Schalenmaterial in ein Messgas (CO_2 oder CO) für die Isotopenmessung überführt werden kann. Bekannt sind Methoden wie die partielle Verdampfung der Probe durch Laserbestrahlung, oder die Fluorinierung (Hoefs, 1997). Da die Laserbestrahlung nur partiell erfolgt, ist eine Isotopenfraktionierung in Probenrandbereichen vielfach nicht zu vermeiden. Des weiteren müssen mehrere Messungen erfolgen, die gemittelt werden. Bei der Fluorinierung können im Schalensilikat enthaltene OH-Gruppen, bzw. Wasser oder Reste organischen Materials den Isotopenwert beeinflussen.

Für die Isotopenanalyse der stabilen Sauerstoffisotope in sauerstoffhaltigen Feststoffen, insbesondere im Silikat von Diatomeenschalen, wurde von G.H. Schleser ein neues Verfahren entwickelt, mit dem bei Temperaturen über 2000°C der Feststoff mit Graphit umgesetzt wird. Dazu wird der Feststoff (z.B. Diatomeenschalen) auf eine Graphitküvette aufgebracht. Die Küvette wird in einem wassergekühlten Quarzgehäuse angebracht, das anschließend evakuiert wird. Mit einem Mittelfrequenz-Generator wird die Graphitküvette induktiv erhitzt. Die Aufheizzeit ist frei wählbar und die Temperatur stufenlos regelbar. In einer ersten Aufheizphase bis ca. 450°C werden OH-Gruppen, bzw. Wasser desorbiert und organisches Material thermisch zu CO_2 zersetzt. Das Quarzgehäuse wird hiernach erneut evakuiert. Es folgt eine schnelle Temperaturerhöhung auf $2000 - 2200^\circ\text{C}$. Bei diesen Temperaturen setzt

sich das Schalensilikat mit dem Graphit zu CO um. Nach dem Boudouard-Gleichgewicht zwischen CO und CO₂, liegt bei den genannten Temperaturen nur CO vor. Das CO wird zunächst in stickstoffgekühlten Molekularsieben eingefangen. Zur massenspektrometrischen Messung wird das CO durch Aufheizen wieder aus den Molekularsieben freigesetzt.

Das Verfahren erfordert Einwaagen von wenigstens 200 bis 300 µg, so dass die Gewinnung von Diatomeen aus Sedimentmaterialien möglichst vollständig sein muss, um die gewünschte Mengen in ausreichender Auflösung zu erhalten.

3 Ergebnisse

In den folgenden Kapiteln werden die Ergebnisse der Trennversuche von Diatomeen aus verschiedenen Sedimenten vorgestellt, die sich aus der Arbeit mit der SPLITT-Zelle und der Bildanalyse ergaben. Die Bezeichnung der Proben wurde wie folgt vorgenommen:

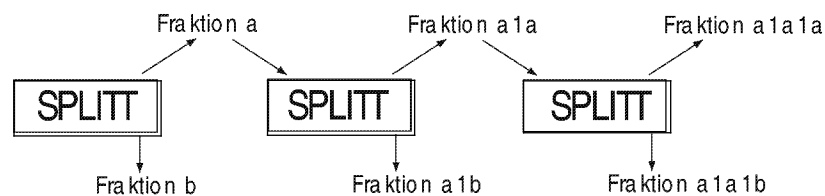
Rezentes Holzmaarsediment: J, S, T,U

Sedimentfalle (Holzmaar): ZS7m (Material aus 7 m Wassertiefe)

Huguang Maar: Hug

Bachsee: BAC

Die Fraktionen wurden ihrer Fraktionierungsstufe entsprechend bezeichnet. Wenn z.B. Fraktion a weiter fraktioniert wurde, ist die Fraktion a der zweiten Stufe mit a1a bezeichnet worden.



Zunächst stellte sich die Frage, inwieweit die Bildauswertung für die Partikelanalyse der SPLITT-Fraktionen eingesetzt werden kann, bzw. wie repräsentativ die Daten sind. Es wurde eine Simulation einer SPLITT-Fraktionierung durchgeführt, um einen ersten Vergleich ziehen zu können (Anhang B.1). Es ergab sich eine gute Übereinstimmung zwischen den Werten aus der Bildanalyse und der Simulation. Als nächstes wurden Fehlerquellen betrachtet, die sich aus der Vermessung von Objekten in Pixeldarstellung ergeben, um zu verstehen, wie sich ein Datensatz aus der Bildauswertung zusammensetzt (Anhang B.2). Als weiterer Punkt wurde sich anschließend mit Messfehlern beschäftigt, die daraus folgen, dass (a) interaktiv bestimmte Parameter (z.B. Schwellenwert) bei der Bildverarbeitung variiert werden, (b) das Messergebnis bei Wiederholungsmessungen schwankt und (c) die interaktive und automatische Messung u.U. unterschiedliche Ergebnisse liefern können (Anhang B.3). Zum Schluss wird ein Vergleich zwischen Bildauswertung und „Coulter Counter“-Messung vorgenommen und diskutiert, wobei die Frage zu beantworten ist, ob eine Abschätzung der Massen möglich ist (Anhang B.4).

Mit den daraus folgenden Erkenntnissen werden die Ergebnisse der SPLITT-Fraktionierung vorgestellt, wobei zunächst aufgezeigt wird, wie das gesamte Trennverfahren zu optimieren

ist. Dazu wird als erstes in zwei Kapiteln (3.2.1, 3.2.2) dargestellt, wie das Ergebnis einer SPLITT-Fraktionierung von der Variation der Fließraten abhängt. Dann wird ein SPLITT-Verfahren diskutiert, mit dem eine zeitlich kürzere Fraktionierung möglich ist (Kap. 3.2.3). Das folgende Kapitel (3.2.4) beschäftigt sich mit den Fragen, ob es (a) sinnvoll ist Tonminerale mittels SPLITT-Fraktionierung von den Diatomeenschalen abzutrennen und (b) wieviel Fraktionierungsschritte dazu notwendig sind. Es wird des weiteren ein Verfahren vorgestellt, mit dem man den Trenndurchmesser d_c aus den Bildauswerte-Daten ermitteln kann. Im Anschluss wird in zwei Kapiteln (3.2.5, 3.2.5.2) diskutiert, bei welchen Siebgrößen eine Probensuspension in Siebfractionen geteilt werden sollte, bevor die SPLITT-Zelle zum Einsatz kommt. Mit den gewonnenen Erkenntnissen folgt die Anwendung der dargestellten Methode auf Sedimente unterschiedlicher Herkunft (Kap. 3.2.5, 3.2.6, 3.2.7).

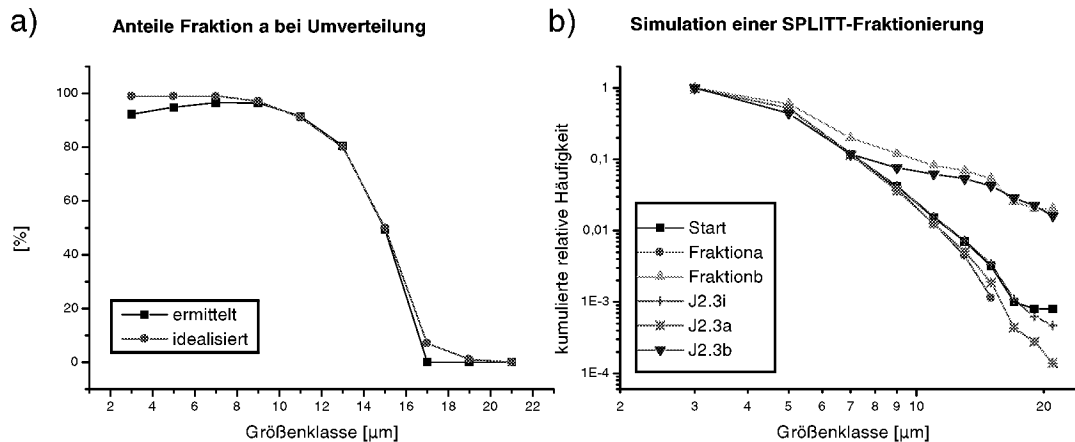
3.1 Ergebnisse der Partikelmessungen mittels Bildauswertung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden gemäß dem zuvor charakterisierten Bildauswerteverfahren insgesamt etwa 1900 Mikroskopbilder ausgewertet. Die Ergebnisse, die sich im Laufe der Entwicklungsarbeit dieser Technik ergaben, werden diskutiert und u.a. im Vergleich zur Partikelgrößenmessung über die Änderung des elektrischen Widerstands bei Durchtritt der Partikel durch eine Kapillaröffnung („Coulter Counter“-Messung, Kapitel 3.1.4) dargestellt.

3.1.1 Simulation einer SPLITT-Fraktionierung

Die ersten Ergebnisse aus der Bildanalyse warfen die Frage auf, ob die erhaltene Korngrößenverteilung für die SPLITT-Fractionen realistisch ist. Eine Simulation der Fraktionierung in der SPLITT-Zelle sollte daher ein Bild von den zu erwartenden Partikelverteilungen zeigen.

Dazu wurde ein einfaches Modell aufgestellt, in dem eine Häufigkeitsverteilung einer Probensuspension nach einem vorgegebenen Muster erzeugt wird. Anschließend wurde die Ausgangsmenge in zwei Fractionen aufgeteilt. Das Modell basiert auf 10 Korngrößenklassen. Die kleinste Klasse war der Bereich von 2 bis 4 μm , die größte Klasse eine offene Klasse $> 19 \mu\text{m}$. Um den Vergleich führen zu können, wurden die Bildanalysedaten ebenfalls in 10 Klassen eingeteilt. Als Startwerte für die Simulation dienten die Werte der

**Abb. 9**

Simulation einer SPLITT-Fraktionierung als Test für die Zuverlässigkeit der bildanalytischen Auswertung.

a) Anteile in den Größensklassen die bei einer Umverteilung der Ausgangsmenge zur Fraktion a gehen.

Ermittelte Werte aus der SPLITT-Fraktionierung und die in der Simulation eingesetzten idealisierten Werte.

b) Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten.

Simulierte Werte: Start, Fraktion a, Fraktion b

SPLITT-Fraktionen: J2.3i (Ausgangssuspension), J2.3a (Fraktion a), J2.3b (Fraktion b)

Fließraten: $V(a') = 9,8 \text{ ml/min}$, $V(b') = 30,0 \text{ ml/min}$, $V(a) = 30,3 \text{ ml/min}$, $V(b) = 9,9 \text{ ml/min}$

$V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 20,5 \text{ ml/min}$

Häufigkeitsverteilung der Ausgangssuspension. Die Berechnungen wurden mit dem Programm Microsoft Excel, Version 8.0b durchgeführt. Die detaillierte Beschreibung des Simulationsverfahrens ist dem Anhang B.1 zu entnehmen.

In Abb. 9 sind die simulierten Werte als Summenkurven gegenüber den Bildanalysedaten einer SPLITT-Fraktionierung aufgetragen.

Es ergab sich eine gute Übereinstimmung der simulierten Werten mit den aus der Bildanalyse ermittelten Daten. Die Ergebnisse aus der Bildanalyse liegen demnach in einer realistischen Größenordnung.

3.1.2 Häufigkeiten der Pixelmuster in der Bildauswertung

Digitale Bilddaten setzen in Abhängigkeit von der Bildauflösung einer Bestimmung von Partikelgrößen eine untere Grenze. Kleinste Einheit ist das quadratische Pixel. Je höher die Bildauflösung ist, desto mehr Pixel stehen für die gleiche Fläche zur Verfügung und desto kleinere Objekte können vermessen werden. Steigende Pixelzahlen stellen aber auch höhere

Anforderungen an Speicherplatzbedarf und Rechenzeit. Die Bildauflösung eines Mikroskopbildes ist neben der Vergrößerung, an die Bildauflösung der Videokamera geknüpft. Die verwendeten Kameras erzeugten Bilder mit 716×572 und 752×548 Pixel Bildgröße. Jedes vermessene Objekt hat eine Größe die einem vielfachen eines einzelnen Pixels entspricht. Wird ein Partikel durch ein Pixelmuster abgebildet, kann dies nur mit einer begrenzten Vielfalt an Formen geschehen. Je weniger Pixel an einem Muster beteiligt sind, desto geringer ist die Formenvielfalt. Zwei Pixel können zwei unterschiedliche Muster bilden, drei Pixel können fünf unterschiedliche Muster bilden, usw.. Kleine Partikel werden mit nur wenigen Pixeln abgebildet. Wird z.B. ein Partikel mit zwei oder mit drei diagonal angeordneten Pixeln abgebildet, ist die gemessene Partikelgröße um $1/3$, bzw. $1/2$ verschieden. Wird also ein Partikel durch Pixelmuster mit geringen Pixelzahlen abgebildet, kann der Fehler bei nicht exakter Abbildung relativ groß sein. Um eine Vorstellung der Häufigkeiten bestimmter Pixelmuster zu gewinnen, wurde ein Datensatz einer Bildanalyse dahingehend untersucht. Das verwendete Verfahren ist im Anhang B.2 dargestellt.

Das Ergebnis der Vermessung von Partikeln mittels Bildauswertung ist abhängig davon, wie genau die Partikel abgebildet werden können (Bildauflösung) und wie während der Bildverarbeitung die ursprüngliche Abbildung eines Partikels, in eine Vermessungsmaske umgesetzt wird, d.h. welche Pixelmuster durch Filtermatrizen bevorzugt werden. Der Fehler ist bei kleinen Objekten am größten, da der betroffene Randbereich eines Pixelmusters relativ zur Gesamtgröße des Objekts groß ist. Dieser Fehler fällt allerdings dann weniger ins Gewicht, wenn bei der Vermessung ein großes Größenintervall betrachtet wird.

3.1.3 Abschätzung der Messfehler bei der Bildanalyse

Zur Abschätzung des Messfehlers wurde sowohl eine Mehrfachmessung an drei verschiedenen Bildreihen derselben Probe, als auch eine viermalige Wiederholungsmessung an ein und derselben Bildreihe durchgeführt (die Details sind in Tab. 15 und Tab. 16 von Anhang B.3 dargestellt). Erwartungsgemäß ist die Reproduzierbarkeit einer Messung von der Anzahl gemessener Partikel abhängig. Auffällig war ein Abknicken der Summenkurve bei $15 \mu\text{m}$ in vielen Messungen. Dies wird darauf zurückgeführt, dass die automatische Messung

nur bis zu einer Größe von $15\text{ }\mu\text{m}$ durchgeführt wurde. Offensichtlich passt der interaktiv vermessene Teil nicht exakt mit der automatischen Messung zusammen (Abb. 10). Hier stellt sich die Frage, ob interaktive und automatische Messung bei gleichen Objekten auch gleiche Ergebnisse liefern. Dieser Frage wird im Anhang B.3 nachgegangen.

Das Bildauswerte-Verfahren liefert reproduzierbare Werte, wenn ausreichend Partikel gemessen werden können (wenigstens 100 Partikel). Die interaktive Einstellung des Schwellwerts bei der Binärbildumwandlung (Anhang A.3) ist eine bedeutende Fehlerquelle. Die interaktive Vermessung von Objekten liefert Ergebnisse, die mit der automatischen Vermessung gut übereinstimmen. Die Frage, ob interaktive und automatische Messung zusammen ausgewertet werden dürfen, ist davon abhängig, wie groß der Überlappungsbereich beider Messmethoden ist. Eine doppelte Messung von Objekten sollte ausgeschlossen werden. Die Messung der Diatomeenschalen der Proben ist einigen Fehlerquellen unterworfen. Bei der interaktiven Messung muss der Bearbeiter entscheiden, welches Objekt als Diatomeenschale identifiziert wird. Hier spielt u.a. die Bildqualität eine Rolle. Beim Vergleich der Diatomeengehalte der Proben und Fraktionen ist auch immer daran zu denken, dass während des Umgangs mit den Proben (SPLITT-Fraktionierung etc.) ein Teil der Schalen zerstört werden kann und schon dadurch Unterschiede auftreten!

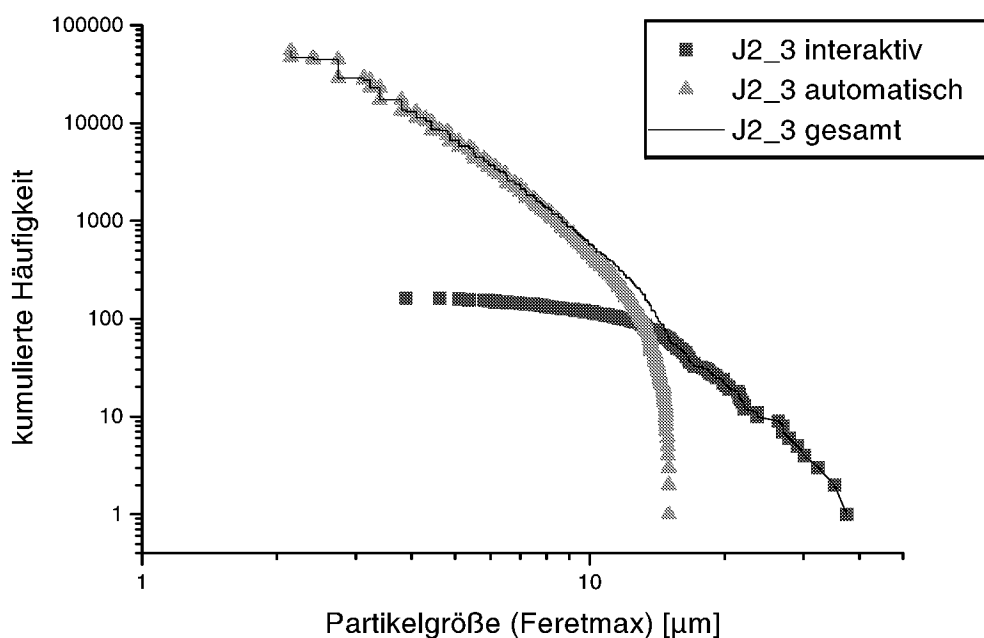


Abb. 10

Vergleich zwischen automatischer und interaktiver Messung der Partikelgrößen innerhalb derselben Probe, als Test für die Vergleichbarkeit von automatischer und interaktiver Größenmessung. (Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten Häufigkeiten der Partikelgröße)

3.1.4 Vergleich Bildanalyse / „Coulter Counter“

Aus der Bildanalyse der SPLITT-Fractionen ergab sich ein Bild für die Größenverteilung von Mineralkörnern und Diatomeenschalen, bzw. der Anteil an Diatomeenschalen an der gesamten Partikelmenge. Mit welcher Massenausbeute ist aber für Diatomeenschalen zu rechnen? Eine Abschätzung der Mineralmasse der gemessenen Fraktionen sollte eine Größenvorstellung dafür liefern. Das Verfahren zur Abschätzung der Volumina ist im Anhang B.4 aufgeführt. Das Ergebnis unterscheidet sich um etwa zwei bis drei Größenordnungen von den oben beschriebenen tatsächlich vorhandenen Gesamtmassen: 0,031g. Die „Coulter Counter“-Messung schließt alle in der Suspension enthaltenen Partikel ein, also auch alle Diatomeenschalen. Es wäre zu erwarten, dass die daraus errechnete Gesamtmasse deutlich über der tatsächlich erhaltenen Gesamtmasse liegt, denn selbst wenn die in der Probensuspension enthaltene Masse nur 0,1 g betrug, sollte die errechnete Masse um eine Größenordnung höher liegen. Vermutlich wurde die Anzahl großer Partikel unterbewertet. Eine Umrechnung der Volumina aus der „Coulter“-Messung in Korngrößen über eine Ellipsoidgleichung ($k_b = 14$), ergab gute Übereinstimmung mit den Daten der Bildanalyse (Abb. 11). Die Vorstellung, alle Mineralkörner wären stäbchenförmig (Ellipsoid, kleine Halbachse = $1/14$ der Rotationsachse) erscheint jedoch nicht realistisch.

Aus den gewonnenen Bildauswertedaten ließen sich nicht ohne weiteres Volumina, bzw. Massen berechnen, da nur Kennwerte der 2dimensionalen Abbildung der Partikel gemessen werden konnten. Für eine Volumen- / Massenberechnung sind räumliche Parameter der Objekte erforderlich.

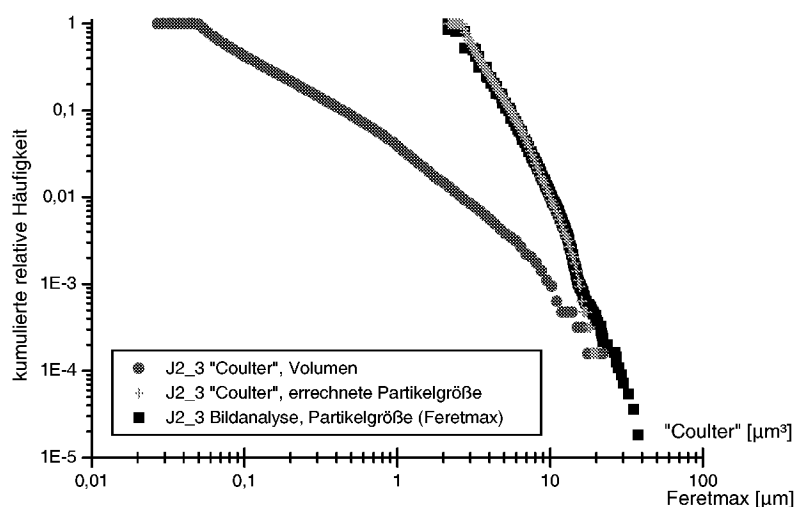


Abb. 11

Vergleich von Daten aus einer „Coulter-Messung“ (Volumina), der aus den „Coulter“-Daten errechneten Partikelgrößen und den Partikelgrößen (Feretmax) aus der Bildanalyse derselben Probe.

(Zum Verfahren siehe Anhang B)

Die Summenkurve der Volumina flacht im Bereich der kleinsten Volumina ab, da diese Volumenklassen nicht besetzt sind, d.h. keine Partikel gemessen wurden.

Die Korngrößen aus der „Coulter“-Messung wurden über eine Ellipsoidgleichung (Halbachse $b = 1/14$ der Rotationsachse) errechnet.

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Häufigkeiten Volumina / Partikelgrößen)

3.2 Ergebnisse der SPLITT-Fraktionierungen

Die Versuche zur SPLITT-Fraktionierung wurden mit unterschiedlichen Schwerpunkten durchgeführt. Nach einer allgemeinen Betrachtung zum Einfluss der Fließratenverhältnisse auf das Trennergebnis wird gezeigt, wie in stufenweiser SPLITT-Fraktionierung sukzessiv Korngrößen abgetrennt werden können. Nachfolgend wird zunächst betrachtet inwieweit durch Siebungen vorfraktioniert werden sollte. Anschließend werden Ergebnisse vorgestellt, die mit Sedimenten unterschiedlicher Herkunft erzielt wurden. Insgesamt wurden 94 Fraktionierungen mit der Bildauswertung bearbeitet. Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Versuche anhand von repräsentativen Daten dargestellt werden.

Das sedimentäre Material wurde wie in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben aufgeschlossen, suspendiert und gesiebt (Kap. 2.2). Die Siebfractionen wurden sofort aus den Sieben in kleine Glasfläschchen (*Microvials*) umgefüllt; die kleinste Siebfraction (meist mehrere Liter Suspension) sich zuerst absetzen lassen und dann zur Aufbewahrung in *Microvials* gefüllt. Zum verdünnen der Suspensionen wurde H₂O deionisiert verwendet, das unter Unterdruck und Ultraschall entgast wurde, um Blasenbildung während der SPLITT-Fraktionierung vorzubeugen. Die Suspensionen für die SPLITT-Fraktionierung wurden so eingestellt, dass der Gewichtsanteil des suspendierten Materials unterhalb von 1% blieb, bezogen auf die Gesamtmasse der Suspension. Zunächst wurden zur Suspension keine Zusätze hinzugefügt. Die ab Kapitel 3.2.4 dargestellten Ergebnisse (ab Probe J1+) wurden mit Zusatz von Ethanol, bzw. einem Benetzungsmittel (Agepon®) erzielt. Der Zusatz dieser Stoffe soll Ablagerungen in der SPLITT-Zelle verhindern. Da beide Stoffe Sauerstoff enthalten, kann ein geringer Isotopenaustausch mit dem Silikat der Diatomeenschalen nicht ausgeschlossen werden. Dies gilt aber genauso für Wasser und alle anderen Sauerstoff enthaltenen Suspensionsbestandteile, wobei allerdings die O-Bindungsenergien der einzelnen Stoffe einzubeziehen ist! Als organische Verbindungen sind Tenside und

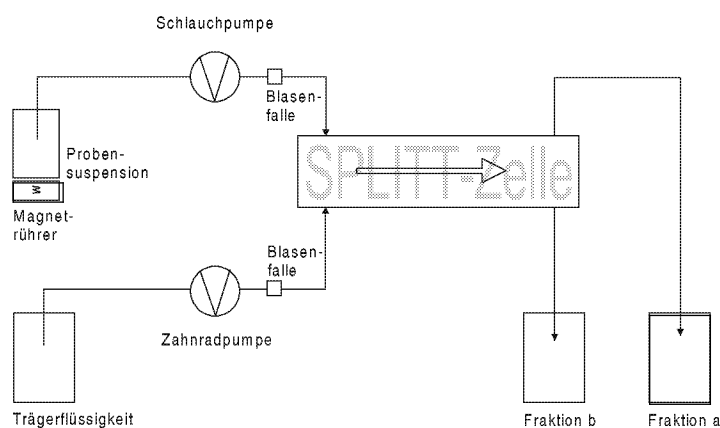


Abb. 12
Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur SPLITT-Fraktionierung.

Ethanol weniger temperaturbeständig als die mineralischen (anorganischen) Stoffe der Suspension. Das Schalensilikat wird thermisch bei ca. 2000°C aufgeschlossen. Es ist zu erwarten, dass während der Aufheizphase, die sehr schnell erfolgt, alle organischen Verbindungen zersetzt und sofort abgepumpt werden (bei $T \approx 450^\circ\text{C}$) und damit nicht die isotopische Zusammensetzung der Diatomeenschalen beeinflussen.

Die Suspension wurde während der Fraktionierung mittels eines Magnetrührers ständig gemischt und in einem homogenen Zustand gehalten. Nicht benutzte Suspensions-Chargen und SPLITT-Fractionen wurden im Kühlschrank aufbewahrt. Die Flüssigkeitsströme sollten während der Fraktionierung möglichst kontinuierlich sein. Erreicht wurde dies für die Trägerflüssigkeit mit einer Zahnradschlepppumpe¹⁴, die auch bei hohen Gegendrücken (max. 6 bar) zuverlässig arbeitet (Abb. 12). Schwierig ist es dagegen für die Probensuspension ein geeignetes Pumpsystem zu finden, weil (a) die Probe nicht durch die Pumpe kontaminiert werden darf, (b) die Suspension die Pumpe nicht beschädigen darf, (c) die Probenpartikel nicht durch den Pumpvorgang zerstört werden dürfen, (d) die Pulsation des Probenstroms möglichst gering sein sollte und (e) der einstellbare Fließratenbereich der Pumpe groß sein sollte (0,1 bis 100 ml/min). Es wurde eine Schlauchpumpe¹⁵ mit hohem Gleichlauf und 8 Rollen eingesetzt, um die Pulsation des Suspensionsstroms gering zu halten. Insbesondere bei hohen Gegendrücken, also bei hohen Fließraten, sind der Verwendbarkeit von Schlauchpumpen Grenzen gesetzt. Die SPLITT-Zelle wurde zunächst durch Eingang a' mit Ethanol (vergällt) gespült und blasenfrei gemacht. Anschließend wurde mit mehreren 100 ml Trägerflüssigkeit (Eingang a' und b') das Ethanol herausgewaschen. Um Blasen einfacher entfernen zu können und Ablagerungen vor der Trennerkante zu vermindern, wurde (ab Probe J1_8a2) die Trennerkante leicht gerundet. Die Schlauchdurchmesser der Schlauchpumpe wurden so gewählt, dass die Pumpe mit mittlerer Leistung laufen konnte, d.h. die Pulsation bei jeder Fraktionierung eine ähnliche Frequenz besaß. Die Fließraten wurden auf der Eingangsseite ermittelt, indem die Zeit gemessen wurde, die zum Leerpumpen einer Messpipette nötig war. Das Pipettenvolumen wurde der Fließrate angepasst, so dass etwa 2 min Messzeit zur Verfügung standen. Auf der Ausgangsseite wurden die Fließraten durch Befüllen eines Messzylinders ermittelt. Auch das Volumen des Messzylinders wurde der Fließrate angepasst. Der Messfehler zwischen Eingangs- und Ausgangsfließraten betrug durchschnittlich etwa 2%. Standen die Fließraten fest, wurde die Probensuspension an Eingang a' angeschlossen. Teilweise wurde mit Blasenfallen (Abb. 13) gearbeitet, die jeweils

¹⁴ Zahnradschlepppumpe Reglo Z von Ismatec. Graphit Zahnräder. Pumpleistung: 1 – 85 ml/min

¹⁵ Schlauchpumpe BVP CA8 von Ismatec. 8 Rollen. Pumpleistung: 0,01 – 226 ml/min

zwischen den Pumpen und der SPLITT-Zelle angebracht waren. Bei geringen Fließraten wurde auf eine Blasenfalle für die Suspension verzichtet, da die Zeit zum Ausspülen der Blasenfalle zu groß war. Zuerst wurde die Zahnradpumpe angeschaltet, um eine gleichmäßige Strömung in der SPLITT-Zelle zu etablieren. Danach wurde die Schlauchpumpe (Suspension) hinzugeschaltet. Für die Ermittlung der relativen Korngrößenverteilung und des Diatomeenschallengehalts wurden jeweils mindestens 100 ml der SPLITT-Fractionen gesammelt und hiervon *Microvials* befüllt (ca. 7 ml). Für quantitative Analysen wurde die gesamte Menge an Probensuspension fraktioniert. Sobald die noch vorhandene Probensuspension etwa 5 ml erreicht hatte, wurde mehrmals mit kleinen Mengen (ca. 5 ml) Trägerflüssigkeit (H_2O deionisiert, 1% Ethanol, 0,05% Agepon) nachgefüllt, bis die Suspension klar wurde. Anschließend wurde mit Trägerflüssigkeit aufgefüllt und die Pumpen noch mehrere Minuten weiter betrieben. Der Durchlauf war beendet, wenn die Probe komplett die SPLITT-Zelle durchlaufen hatte. Die SPLITT-Fractionen wurden jetzt durch Zentrifugieren¹⁶ (15 min, 3000 min^{-1} , $\sim 18600 \text{ g}$) aufkonzentriert, gewaschen und in *Microvials* umgefüllt. Während dessen wurde die SPLITT-Zelle dadurch gespült, dass in mehrmaligem Wechsel Ethanol, Luftblasen und Trägerflüssigkeit durch die Zelle gepumpt wurden. Die Luftblasen erzeugen starke Druckunterschiede und Turbulenzen in der SPLITT-Zelle, unterstützen somit den Reinigungsprozess. Nach mehreren Durchläufen oder wenn sichtbare Ablagerungen in der Zelle zurückblieben, wurde die SPLITT-Zelle zur Reinigung komplett auseinander gebaut und mit H_2O deionisiert, Ethanol, bzw. Aceton (nur vorsichtig mit einem Tuch) gereinigt.

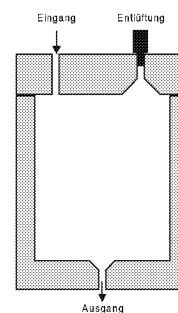
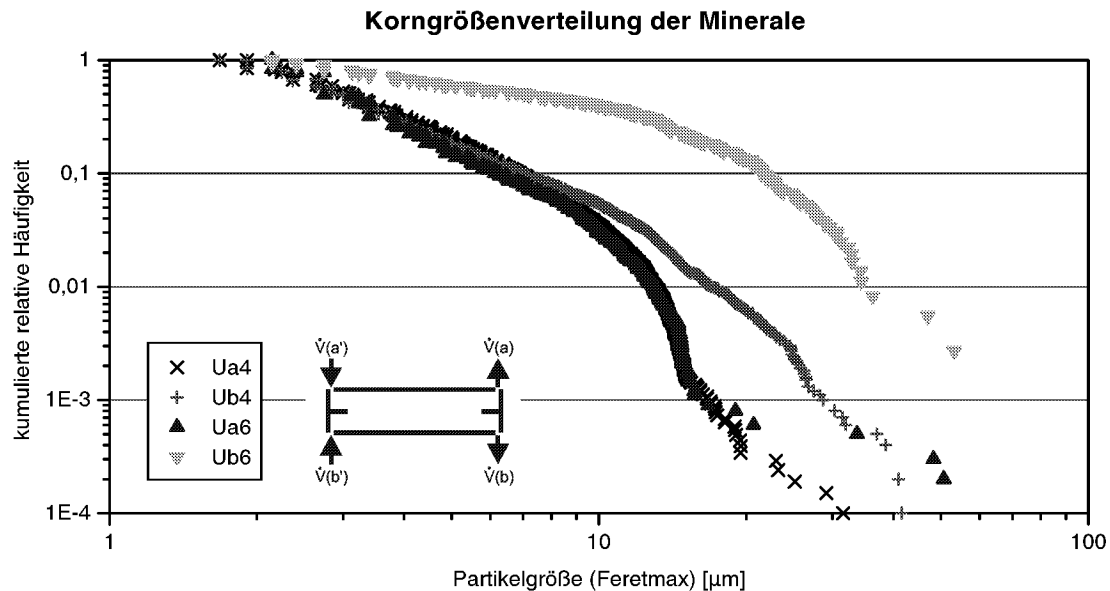


Abb. 13
Querschnitt durch
eine Blasenfalle.

3.2.1 Änderung der Eingangsfließraten

Um zu verdeutlichen welchen Einfluss die Variation der Eingangsfließraten auf das Trennergebnis hat, wurden Versuche mit unterschiedlichen Fließraten für Eingang a' und b' durchgeführt. Die Ausgangsfließraten wurden nicht variiert ($\dot{V}(a) = \dot{V}(b)$). Als Probensuspension wurde die Siebfraction $< 20 \mu\text{m}$ (rezentes Sediment, Holzmaar, Eifel)

¹⁶ Tischzentrifuge C4.12 von Jouan

**Abb. 14**

Änderung des Trennvermögens der SPLITT-Zelle bei Variation der Eingangsfließraten.

Die Trennung erfolgt schlecht, wenn $\dot{V}(a') > \dot{V}(b')$, wie im Fall U4.

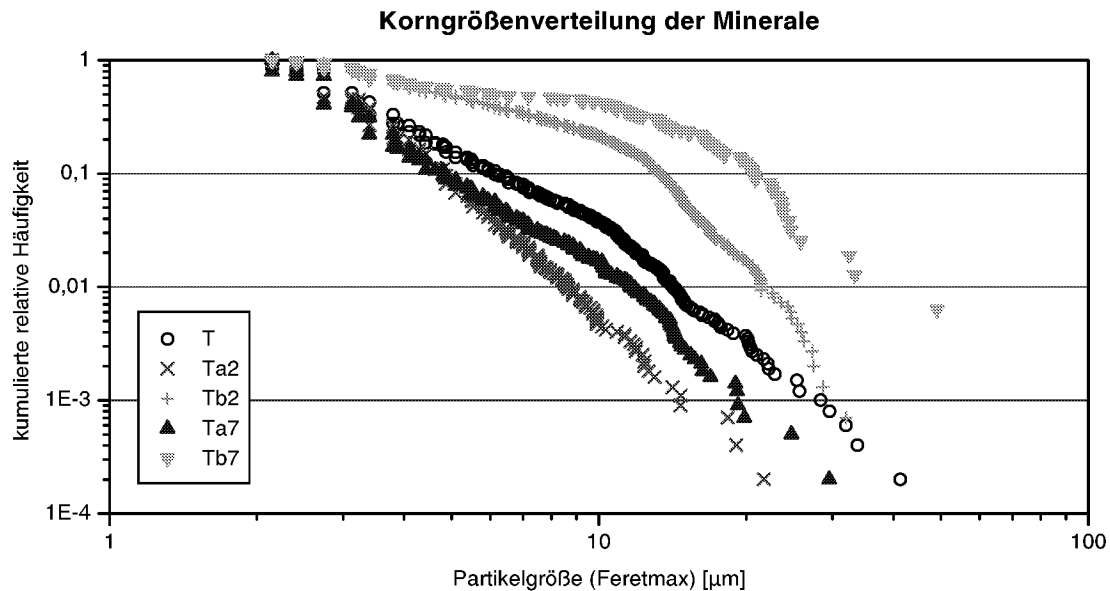
Ausgangssuspension: ca. 1%ig. (siehe auch Anhang D.2.1, Abb. 49 und Abb. 50)

Fließraten U4: $\dot{V}(a') = 60 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b') = 50 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(a) = 57 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b) = 51,8 \text{ ml/min}$
 $\dot{V}(a')/\dot{V}(b') = 1,2$

Fließraten U6: $\dot{V}(a') = 20 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b') = 50 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(a) = 36,8 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b) = 33,5 \text{ ml/min}$
 $\dot{V}(a')/\dot{V}(b') = 0,4$

Differenzen der Summen von Eingangs- und Ausgangsfließraten sind durch das Messverfahren bedingt.
 (Doppelt logarithmische Darstellung der relativen kumulierten Partikelgrößenhäufigkeiten)

verwendet. Erwartungsgemäß zeigte sich, dass bei Fließratenverhältnissen $\dot{V}(a') / \dot{V}(b') \geq 1$ ein nur schlechtes Trennungsergebnis erzielt wird (Abb. 14, Abb. 49 (Anhang D)). Der Anteil kleiner Korngrößen ist in Fraktion b (Ub4) immer noch sehr hoch. Korngrößen unter $10 \mu\text{m}$ stellen mehr als 90% der Fraktion Ub4. Relativ zu Fraktion b ist Fraktion a verarmt an Korngrößen über $10 \mu\text{m}$. Die Summenkurve für Fraktion a (Ua4) weist einen Knick bei ca. $15 \mu\text{m}$ auf, der auf die Kombination von interaktiver und automatischer Messung im Bildanalyseverfahren zurückzuführen ist (siehe Kap. 3.1.3, Anhang B.3 und Abb. 10). Die Situation stellt sich anders dar, wenn $\dot{V}(a')$ deutlich kleiner $\dot{V}(b')$ ist. In Fraktion b (Ub6) beträgt jetzt der Anteil von Korngrößen über $10 \mu\text{m}$ etwa 40% (Abb. 50). Die Summenkurven der Korngrößen von Fraktion Ua6 und Ub6 laufen an keiner Stelle mehr parallel. In Abb. 15 ist die unterschiedliche Fraktionierung zwischen hohen und niedrigen Gesamtfließraten dargestellt. Sowohl Fraktion a, als auch Fraktion b enthalten bei hoher Gesamtfließrate mehr größere Korngrößen (Ta7, Tb7) als bei niedriger Gesamtfließrate (Ta2, Tb2).

**Abb. 15**

Änderung des Trennvermögens der SPLITT-Zelle bei Variation der Eingangsfließraten.

Bei hoher Gesamtfließrate wird bei einer größeren Korngröße getrennt (Fall T7 im Vergleich zu Fall T2).

T zeigt die Korngrößen der Ausgangssuspension (Siebfraktion $< 20 \mu\text{m}$, ca. 1%ig).

Fließraten T7: $\dot{V}(a') = 30,5 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b') = 70,6 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(a) = 52,6 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b) = 50,8 \text{ ml/min}$
 $\dot{V}(a')/\dot{V}(b') = 0,43$

Fließraten T2: $\dot{V}(a') = 10 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b') = 20 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(a) = 15,4 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b) = 15,0 \text{ ml/min}$
 $\dot{V}(a')/\dot{V}(b') = 0,5$

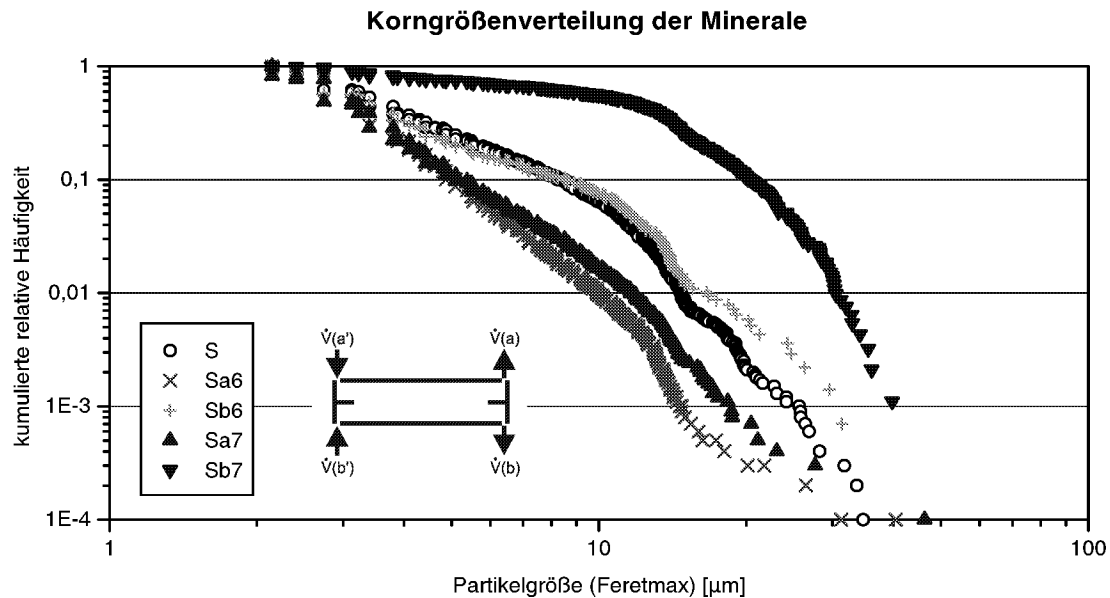
(Doppelt logarithmische Darstellung der relativen kumulierten Korngrößenhäufigkeiten)

Das Ergebnis bestätigt die theoretische Vorhersage, wonach bei der SPLITT-Fraktionierung die Eingangsfließrate $\dot{V}(b') > \dot{V}(a')$ gewählt werden sollte, um eine gute Auflösung zu erreichen.

3.2.2 Änderung der Ausgangsfließraten

Die Wahl der Ausgangsfließraten hat ebenso wie die Wahl der Eingangsfließraten Einfluss auf die Trennungskorngröße und das Auflösungsvermögen der Fraktionierung.

In Versuch S6 wurden alle Fließraten gleich gewählt. Eine Trennungskorngröße ist in diesem Fall nicht definiert, da keine Transportregion existiert: Eingangs- und Ausgangstrennfläche fallen zusammen. Diejenige Korngröße, welche zu 100% Ausgang b erreicht, ist nur von der Eingangsfließrate $\dot{V}(a')$ abhängig, d.h. von der Zeit, die zum Durchqueren der Region zwischen oberer Wand und der Kanalmitte nötig ist. Gleichzeitig sinken auch die feinsten Partikel schon in die nur zum Ausgang b führende Region. Der Anteil kleiner Partikel in

**Abb. 16**

Änderung des Trennvermögens der SPLITT-Zelle bei Variation der Ausgangsfließraten.

Mit überkreuzender Strömung (Transportregion) ist die Auflösung deutlich besser (Fall S7).

S zeigt die Korngrößen der Ausgangssuspension (Siebfraction < 20 µm, ca. 1%ig).

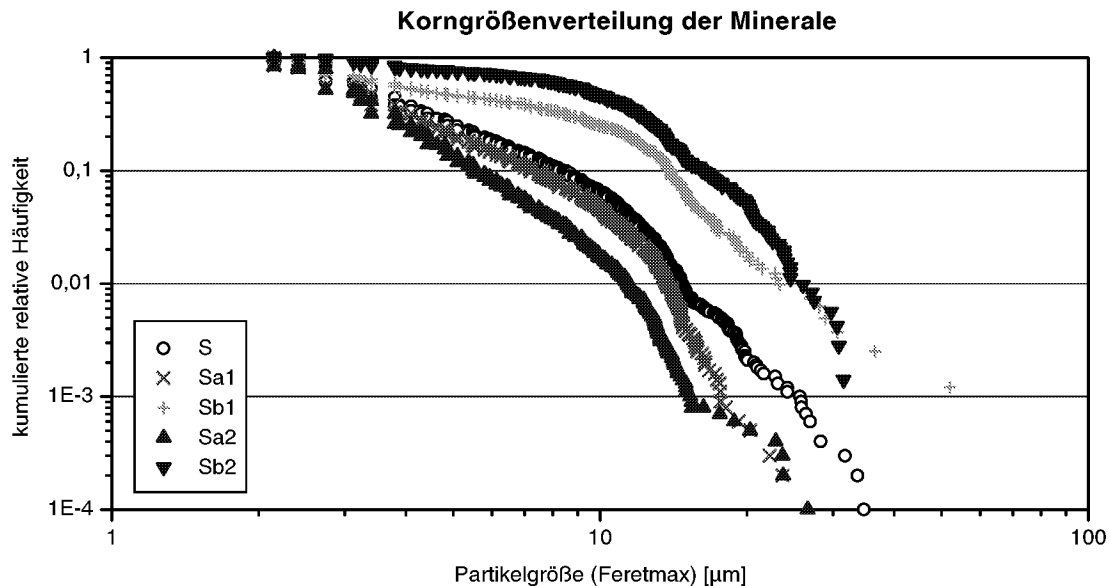
Fließraten S6: $\dot{V}(a') = 30,0 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b') = 30,0 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(a) = 30,3 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b) = 29,4 \text{ ml/min}$
 $\dot{V}(a')/\dot{V}(b') = 1,0$ $\dot{V}(a)/\dot{V}(b) = 1,0$

Fließraten S7: $\dot{V}(a') = 30,0 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b') = 30,0 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(a) = 46,2 \text{ ml/min}$, $\dot{V}(b) = 12,1 \text{ ml/min}$
 $\dot{V}(a')/\dot{V}(b') = 1,0$ $\dot{V}(a)/\dot{V}(b) = 3,8$

(Doppelt logarithmische Darstellung der relativen kumulierten Korngrößenhäufigkeiten)

Fraktion b, ist demnach auch von der Eingangsfließrate $\dot{V}(a')$ abhängig. In Abb. 16 ist dies anhand der Kurvenverläufe für die Fraktionen a und b (Sa6, Sb6) nachzuvollziehen. Fraktion a (Sa6) ist gegenüber der Ausgangssuspension (S) verarmt an großen Korngrößen. Fraktion b (Sb6) enthält einen höheren Anteil großer Korngrößen, aber auch einen hohen Anteil kleinster Partikel. Der Anteil mittlerer Korngrößen scheint zu gering gemessen zu sein, da die Kurve zum Teil unterhalb der Kurve der Ausgangssuspension (S) verläuft.

Auch in Versuch S1 / S2 wurden die Eingangsfließraten konstant gehalten und nur die Ausgangsfließraten variiert (Abb. 17), wobei die Eingangsfließrate $\dot{V}(b') > \dot{V}(a')$ eingestellt wurde. Bei S1 waren die Ausgangsfließraten $\dot{V}(a)$ und $\dot{V}(b)$ etwa gleich. Insbesondere Fraktion a (Sa1) zeigt kaum einen Unterschied zur Ausgangssuspension (S). Wenn $\dot{V}(a) > \dot{V}(b)$ gewählt wird, d.h. ein von Eingang b' nach Ausgang a überkreuzender Strom erzeugt wird, sollte zum einen die Trennungskorngröße größer werden, zum anderen die Auflösung verbessert. Dieser Fall ist mit Versuch S2 veranschaulicht. Fraktion Sb2 zeigt einen höheren Anteil großer Korngrößen, als Fraktion Sb1.

**Abb. 17**

Änderung des Trennvermögens der SPLITT-Zelle bei Variation der Ausgangsfließraten. Mit höherer Fließrate der Transportregion $V(t)$ verbessert sich die Auflösung und vergrößert sich der Trenndurchmesser (Fall S2).

S zeigt die Korngrößen der Ausgangssuspension (Siebfraction $< 20 \mu\text{m}$, ca. 1%ig).

Fließraten S1: $V(a') = 5,0 \text{ ml/min}$, $V(b') = 20,0 \text{ ml/min}$, $V(a) = 13,3 \text{ ml/min}$, $V(b) = 12,8 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,25$ $V(a)/V(b) = 1,0$ $V(t) = 8,3 \text{ ml/min}$

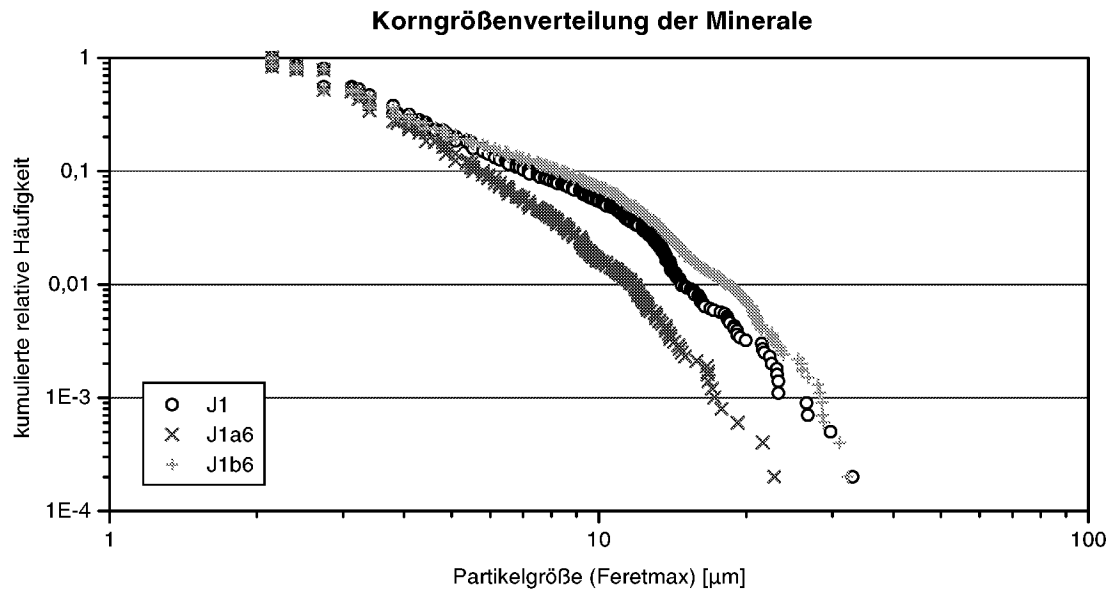
Fließraten S2: $V(a') = 5,0 \text{ ml/min}$, $V(b') = 20,0 \text{ ml/min}$, $V(a) = 15,0 \text{ ml/min}$, $V(b) = 10,8 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,25$ $V(a)/V(b) = 1,4$ $V(t) = 10 \text{ ml/min}$

(Doppelt logarithmische Darstellung der relativen kumulierten Korngrößenhäufigkeiten)

Damit ergibt sich folgendes Ergebnis für optimale Trennungen mit Hilfe der SPLITT-Fraktionierungen: Für eine gute Auflösung sollte die Ausgangsfließrate $V(a) > V(b)$ gewählt werden. Zusammenfassend ergeben sich für die Fließraten an Ein- und Ausgang folgende Verhältnisse: $V(a') < V(b')$ und $V(a) > V(b)$, so daß sich eine Transportregion entwickeln kann.

3.2.3 SPLITT-Fraktionierung ohne Trägerstrom (FFDSF = full-feed depletion SPLITT fractionation)

Die zum Teil starke Verdünnung der Probenfraktionen, infolge der geringen Konzentration der Ausgangssuspension und der Verdünnung während der SPLITT-Fraktionierung, macht eine Aufkonzentrierung der Proben notwendig. Insbesondere bei mehrstufigen SPLITT-Fraktionierungen stellt dies einen wichtigen Zeitfaktor dar, nebst der Möglichkeit der Instabilisierung der Suspension. Contado et al. (1997) schlugen eine Methode vor, bei der keine Trägerflüssigkeit in die SPLITT-Zelle gepumpt wird, Eingang b' also geschlossen ist. Der Vorteil bestünde hier darin, dass die Konzentration der Ausgangssuspension 1 Gew.% überschreiten darf, vor allem aber darin, dass im Laufe der Fraktionierung keine Verdünnung

**Abb. 18**

Trennungsfähigkeit der SPLITT-Zelle im FFDSF –Modus, d.h. es wird (fast) ausschließlich Probensuspension in die SPLITT-Zelle gepumpt.

J1 zeigt die Korngrößen der Ausgangssuspension (Siebfraction < 20 μm).

Fließraten J1_6: $V(a') = 50,0 \text{ ml/min}$, $V(b') = 5,2 \text{ ml/min}$, $V(a) = 41,1 \text{ ml/min}$, $V(b) = 10,5 \text{ ml/min}$

Differenzen der Summen von Eingangs- und Ausgangsfließraten sind durch das Messverfahren bedingt.

(Doppelt logarithmische Darstellung der relativen kumulierten Korngrößenhäufigkeiten)

der Probe auftritt. Dieser Vorteil muss mit dem Nachteil eines schlechten Trennergebnisses erkaufte werden. Die schlechte Auflösung der Fraktionierung macht ein mehrstufiges Arbeiten zwingend erforderlich.

Abb. 18 zeigt das Ergebnis einer FFDS-Fraktionierung. Es wurde eine geringe Eingangsfließrate $V(b')$ gewählt, um Ablagerungen im Bereich des Eingangs b der SPLITT-Zelle zu verhindern. Die Kurvenverläufe der Fraktionen a / b (J1a6, J1b6) zeigen ein ähnliches Muster zu dem in Versuch S6 gefundenen (siehe Kapitel 3.2.2). Erwartungsgemäß ist Fraktion a (J1a6) gegenüber der Ausgangssuspension (J1) an großen Korngrößen verarmt. Fraktion b enthält einen höheren Anteil großer Korngrößen, ist aber immer noch reich an kleinen Korngrößen, die das Gros der Fraktion ausmachen.

Für eine quantitative Extraktion von Diatomeenschalen ist diese Methode nicht geeignet, da mit jedem Durchlauf ein Teil der Schalen mit Fraktion b verloren geht. Die Größe dieses Anteils hängt davon ab, wie groß der Anteil der Ausgangsfließrate $V(b)$ bezüglich $V(a)$ ist und wieviel Diatomeenschalen schon in die Region abgesunken sind die Ausgang b verlässt. Der Schalenanteil in Fraktion b kann durch weitere Fraktionierungen teilweise extrahiert werden.

3.2.4 Quantitative SPLITT-Fraktionierung in mehreren Stufen

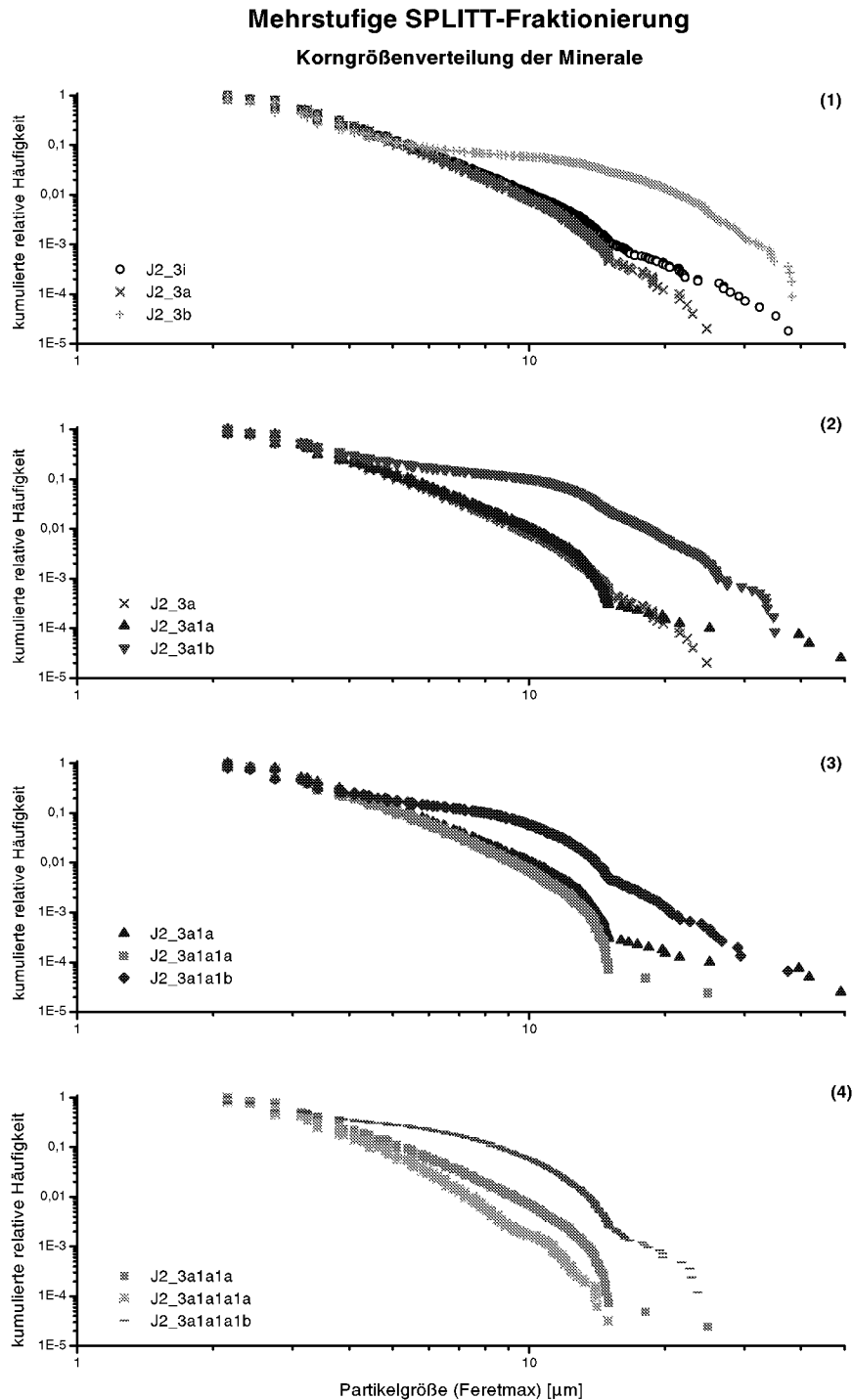
Aus den Ergebnissen der vorhergegangenen Versuche zur SPLITT-Fraktionierung wurde ein Schema entwickelt, das auf stufenweise ablaufenden SPLITT-Fraktionierungen beruht. Für den hier aufgeführten Versuch wurde eine stark verdünnte Suspension ($\ll 1$ Gew.%) verwendet. Das Material bestand aus der Siebfraction $< 20 \mu\text{m}$ eines rezenten Seesediments (Holzmaar, Eifel) welches folgende Diatomeenarten enthielt: *Cyclotella*, *Fragilaria*, *Cocconeis*, *Cymbella*. Es wurden jeweils 400 ml Suspension angesetzt. Nach jedem Fraktionierungsschritt wurden die SPLITT-Fractionen bei 3000 Umdrehungen/min, 15 min lang zentrifugiert und aufkonzentriert. Fraktion b wurde jeweils in kleinste Glasfläschchen (*Microvials*, 7 ml) umgefüllt; Fraktion a wurde auf 400 ml angesetzt und weiter fraktioniert. Insgesamt wurden 4 Fraktionierungsstufen mit folgendem Fließratenschema durchgeführt:

Tab. 2

Fließraten der nacheinander durchgeführten SPLITT-Fraktionierungen.
Anfänglicher Gehalt an Diatomeenschalen: 2 % der Gesamtpartikelzahl.

Frakt.- Stufe	Probe	V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt bzgl. Gesamtpartikelzahl	
						Fraktion a	Fraktion b
1. Stufe	J2_3	9,8	30,0	30,3	9,9	2,5 %	0,6 %
2. Stufe	J2_3a1	5,0	20,3	19,7	6,0	2,7 %	1,4 %
3. Stufe	J2_3a1a1	2,5	9,8	9,8	2,6	2,3 %	2,9 %
4. Stufe	J2_3a1a1a1	1,0	5,4	5,0	1,3	2,8 %	7,6 %

Im ersten und zweiten Durchlauf reicherten sich die Diatomeenschalen in Fraktion a an. In Durchlauf drei und vier dagegen, wurde jeweils Fraktion b mit Schalen angereichert (Abb. 51 - Abb. 55). D.h. bezüglich der in dieser Sedimentprobe enthaltenen Diatomeenschalen scheint ab einer Fließrate für die Transportregion $V(t) = V(a) - V(a')$ ab etwa 8 ml/min der Punkt erreicht, an dem ein Gros der Schalen zu gleichen Teilen nach a und b fraktionieren. Mit einer angenommenen Fließrate $V(a') = 3 \text{ ml/min}$ und einem Dichteunterschied (Quarz - Wasser) $\Delta\rho = 1,62 \text{ g/cm}^3$, errechnet sich ein Trenndurchmesser $d_c = 4,7 \mu\text{m}$. Die zur Größe der betrachteten Diatomeenschalen korrespondierende Mineralkorngröße dürfte über dem errechneten Wert liegen, da langsamere Sinkgeschwindigkeiten zu erwarten sind, wenn die Korngestalt vom Ideal der Kugelform abweicht. Abb. 19 zeigt die Korngrößenverteilung der Minerale (ohne Diatomeenschalen) in den Fraktionen. Die sukzessive Abnahme der Korngrößen mit jedem weiteren Fraktionierungsschritt ist gut nachzuvollziehen.

**Abb. 19**

Ergebnisse einer mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung anhand der Mineralverteilung (ohne Diatomeenschalen). Fraktion a wurde jeweils für die nächste Stufe verwendet. Für die Mineralkörner wurde eine gute Auflösung der Trennung erreicht. Ab Stufe (3) reicherten sich Diatomeen jeweils in Fraktion b an (hier nicht dargestellt).

J2_3i zeigt die Korngrößen der Ausgangssuspension (Siebfraction < 20 μm). (siehe Anhang D.2.2, Abb. 51 - Abb. 55)

- (1) Fließbraten J2_3 (1): $V(a') = 9,8 \text{ ml/min}$, $V(b') = 30,0 \text{ ml/min}$, $V(a) = 30,3 \text{ ml/min}$, $V(b) = 9,9 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 20,5 \text{ ml/min}$
- (2) Fließbraten J2_3 (2): $V(a') = 5,0 \text{ ml/min}$, $V(b') = 20,3 \text{ ml/min}$, $V(a) = 19,7 \text{ ml/min}$, $V(b) = 6,0 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 15,3 \text{ ml/min}$
- (3) Fließbraten J2_3 (3): $V(a') = 2,5 \text{ ml/min}$, $V(b') = 9,8 \text{ ml/min}$, $V(a) = 9,8 \text{ ml/min}$, $V(b) = 2,6 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 7,3 \text{ ml/min}$
- (4) Fließbraten J2_3 (4): $V(a') = 1,0 \text{ ml/min}$, $V(b') = 5,4 \text{ ml/min}$, $V(a) = 5,0 \text{ ml/min}$, $V(b) = 1,3 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,2$; $V(t) = 4,4 \text{ ml/min}$

Differenzen der Summen von Eingangs- und Ausgangsfließraten sind durch das Messverfahren bedingt. (Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten)

Es wurde versucht, für jeden Lauf nachzuvollziehen, bei welcher Korngröße der Trenndurchmesser liegt (Abb. 20). Dazu wurden die absoluten Partikelzahlen in den Korngrößenklassen der Ausgangssuspension, sowie in den Fraktionen berechnet (siehe Kap. 3.1.4).

Die Ermittlung des Trenndurchmessers gelang ob der großen Zählfehler (Kapitel 3.1.3) bei größeren Korngrößen ($> 10 \mu\text{m}$) nur in sehr groben Schranken. Berechnet wurde der Anteil von Fraktion a an der jeweiligen Ausgangssuspension. Die untere und obere Fehlergrenze wurde wie folgt berechnet. Zuerst wurde die Standardabweichung in Prozent, vom Mittelwert der Wiederholungsmessungen J2_3i bis J2_3iii ermittelt (Anhang B.3, Tab. 15 und Tab. 16).

Die untere Fehlergrenze wurde dann berechnet nach

$$(35) \quad x_n = \frac{a_n - (a_n \cdot s_n)}{o_n + (o_n \cdot s_n)}$$

Die obere Fehlergrenze wurde berechnet mit

$$(36) \quad x_n = \frac{a_n + (a_n \cdot s_n)}{o_n - (o_n \cdot s_n)}$$

a_n = Partikelzahl in Klasse n der Fraktion a

o_n = Partikelzahl in Klasse n der Ausgangssuspension

s_n = Standardabweichung in Prozent vom Mittelwert der Klasse n (aus J2_3i bis J2_3iii)

Aus der Abtragung der Werte der Korngrößenklassen ergeben sich die in Tab. 3 ermittelten Trennungskorngrößen d_c bei 50% Anteil Fraktion a.

Tab. 3

Experimentelle Ermittlung des Trenndurchmessers im Vergleich zum theoretisch ermittelten.

In der Spalte „Ermittelter d_c “ sind die ermittelten Werte aus den Gleichungen (35) und (36) dargestellt.

Die Optimierungsmethode ist im Kapitel (3.2.4.0) erläutert.

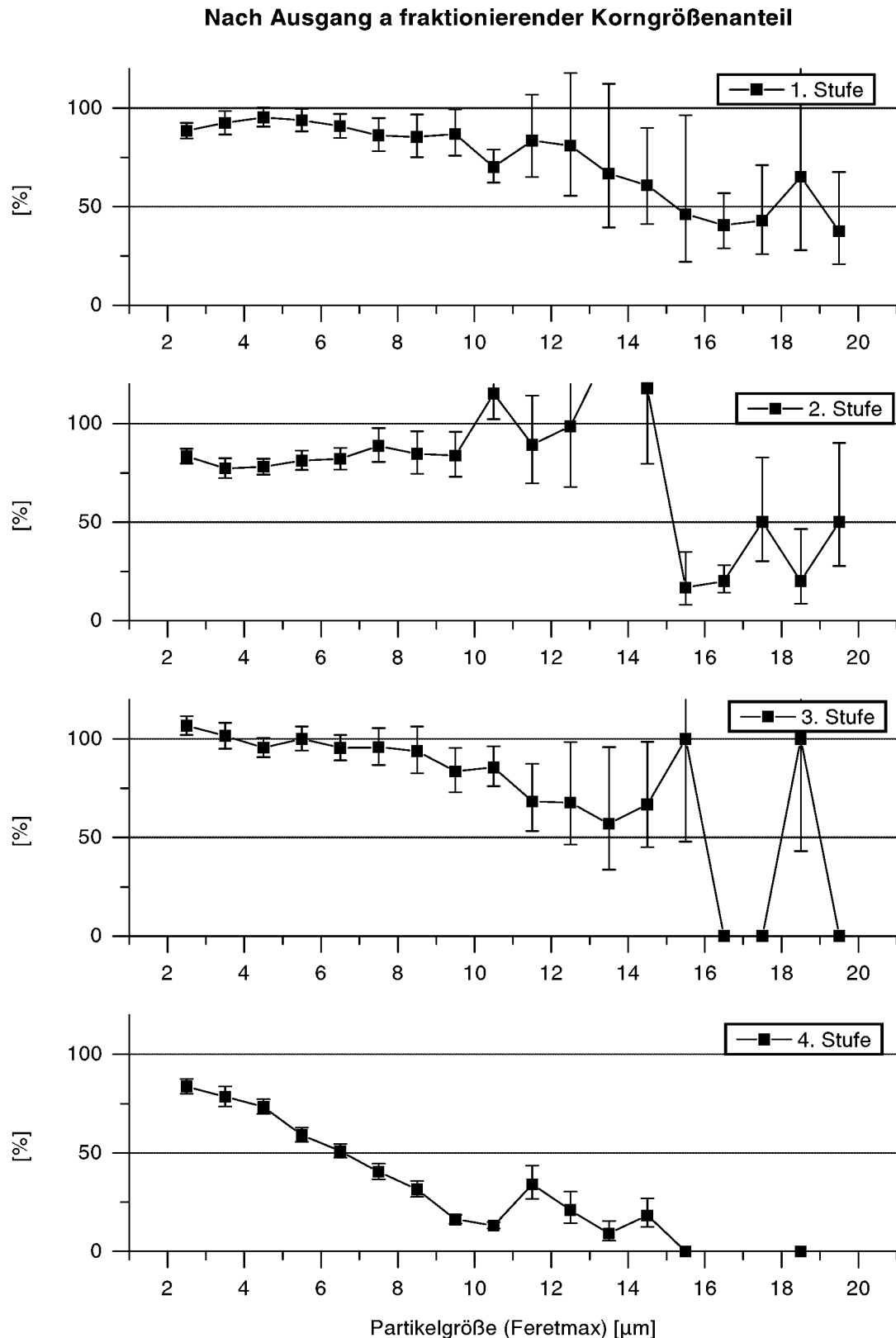
Der theoretische d_c wurde anhand der allgemeinen Gleichung für den Trenndurchmesser (Kapitel 2.3.3, Gleichung 35), für Quarzkugeln errechnet.

Lauf Frakt.	Probe	Ermittelter d_c [μm]	d_c nach Optimierungsmethode [μm]	Theoretischer d_c [μm]
1. Stufe	J2_3	13,5 bis 17,5 μm	13,8 bis 15,6 μm	7,7 μm
2. Stufe	J2_3a1	14,5 bis 15,5 μm	11,2 bis 12,1 μm	6,3 μm
3. Stufe	J2_3a1a1	12,5 bis 16,5 μm	9,4 bis 10,3 μm	4,5 μm
4. Stufe	J2_3a1a1a1	6,5 μm	7,7 bis 8,6 μm	3,3 μm

Verglichen mit der Größenverteilung der Diatomeenschalen in den Fraktionen, lassen sich die Mineralkorngrößen abschätzen, welche etwa gleiche Sinkgeschwindigkeiten besitzen wie Diatomeenschalen. Für runde Schalenformen (mehrheitlich *Cyclotella*) ergab sich eine bimodale Größenverteilung. Die Schalengrößen lagen hauptsächlich bei etwa 6 μm (die Mehrzahl) und bei etwa 12 μm (Abb. 21).

Ab dem 3. Fraktionierungsschritt reicherten sich die größeren runden Schalen in Fraktion b an. Langgestreckte ($\pm$ nadelförmige) Schalenformen (z.B. *Fragilaria*) waren in einem Größenbereich von 10 μm bis über 60 μm vertreten, ohne ein Maximum in einem bestimmten Größenbereich aufzuweisen. Alle anderen Schalenformen (u.a. *Cocconeis*, *Cymbella*, *Fragilaria*) wiesen in ihrer Größenverteilung ein breites Maximum bei etwa 12 μm auf. Mit dem 4. Fraktionierungsschritt waren in den Fraktionen a und b deutlich unterschiedliche Schalengrößen vorhanden. In Fraktion a hatte die Größenverteilung ihr Maximum bei etwa 10 μm (*Cyclotella*, *Fragilaria*), in Fraktion b lag das Maximum bei etwa 15 μm (*Cyclotella*, *Cocconeis*). Es wurde für alle Durchläufe der Anteil, der nach „a“ fraktionierenden Schalen ermittelt. Die Berechnung erfolgte mit der weiter oben angegebenen Gleichung für die Mineralkörner. Als Ergebnis ist festzustellen, dass die meisten Diatomeenschalen nach „a“ fraktionieren, nämlich mit jeweils über 70%. Damit ergibt sich die Möglichkeit durch weitere Siebungen zuerst quantitativ den Feinanteil der Minerale zu entfernen und erst dann eine SPLITT-Fraktionierung durchzuführen. Dies wurde auch in den theoretischen Betrachtungen in Kapitel 2.3.1 dargelegt.

Die Ergebnisse der mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung zeigen, dass eine vollständige Extraktion von Diatomeenschalen aus der Siebfraction < 20 μm eines Sediments mit hohem Feinstkornanteil nicht möglich ist. Die Diatomeenschalen können zwar angereichert werden, es treten aber noch immer Mineralkörner mit korrespondierenden Korngrößen auf. Eine Auftrennung zwischen Schalengrößen und -formen ist bedingt möglich, was für isotopische Untersuchungen u.U. von Bedeutung sein kann.

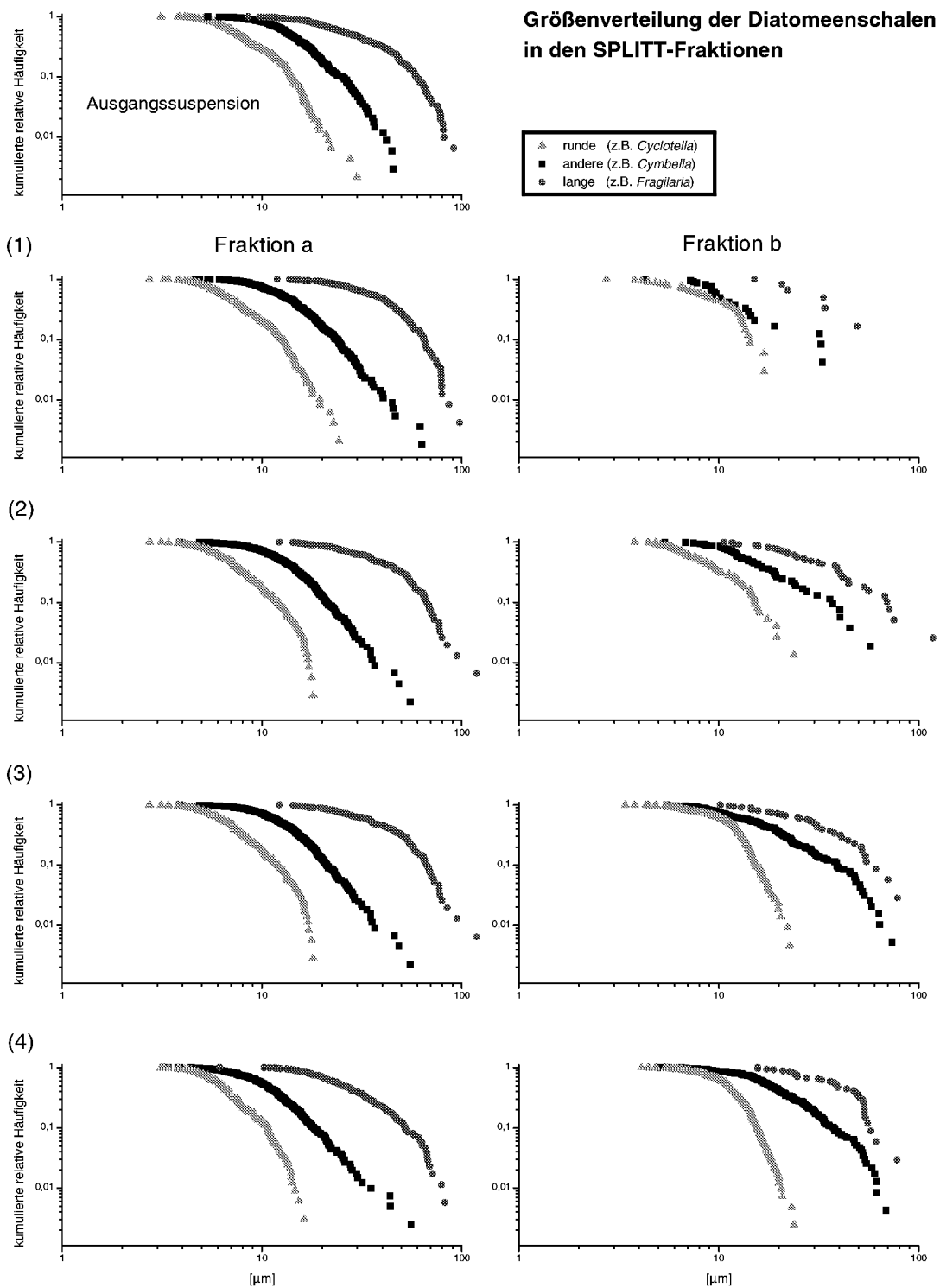
**Abb. 20**

Charakteristik der Partikelumverteilungen bei der mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung.

Fraktion a wurde jeweils als Ausgangssuspension für die nächste Stufe gebraucht.

Dargestellt sind die Anteile pro Korngrößenklassen, die bei der SPLITT-Fraktionierung in Fraktion a gingen. Z.B. bedeutet 90% in der Klasse 2,5 µm, dass 90% von den Mineralkörnern der Größenklasse 2,5 µm während der SPLITT-Fraktionierung zu Ausgang a gelangt sind und 10% zu Ausgang b.

Aufgrund der großen Zählfehler bei Korngrößen > 10 µm bedingt durch geringe Partikelzahlen (Anhang B.3), kommen teilweise Prozentzahlen > 100% vor.

**Abb. 21**

Ergebnis der mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung für verschiedener Diatomeenschalenformen.
(siehe auch Anhang D.2.2, Abb. 51 - Abb. 55)

(1) bis (4): Stufe 1 bis 4 der mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung. Jeweils Fraktion a wurde für den nächsten Lauf benutzt. Ab Stufe 3 reicherten sich die größeren Diatomeenschalen in Fraktion b an, z.B. die etwa 12 μm großen Schalen der runden Form.

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Häufigkeiten der Diatomeenschalengrößen)

3.2.4.1 Ermittlung des Trenndurchmessers mit einem Optimierungsverfahren

Die Trenndurchmesser, bzw. die Umverteilung der Partikel aus den Ausgangssuspensionen in die Fraktionen kann direkt nur anhand quantitativer Messungen erfolgen. Um eine Vorstellung von der Umverteilung derjenigen Suspensionen zu erlangen, die nicht quantitativ erfasst wurden, musste ein rechnerisches Verfahren eingesetzt werden. Dazu wurden die Rohdaten aus der Bildanalyse der Ausgangssuspension, der Fraktion a und der Fraktion b in 37 Größenklassen eingeteilt (letzte Klasse offen, $>33,5\text{ }\mu\text{m}$). Dann wurden für jede Suspension die Anteile der Größenklassen an der Gesamtpartikelzahl ermittelt. Als nächstes wurde ein Modell aufgestellt, nach dem die für die Ausgangssuspension ermittelten Anteile als Partikelmengen betrachtet und in die Modellfraktion a und b umverteilt wurden (Tab. 4).

Tab. 4 Erstellung eines Modells für die Umverteilung von Partikel während SPLITT-Fraktionierung. Hier beispielhaft gezeigt anhand einer einzelnen Größenklasse.

aus Bildauswertung			Partikelmenge auf 1000 normiert	Umverteilung zur Modellfraktion a		Partikel	Umverteilung zur Modellfraktion b		Partikel
Klasse [μm]	Partikelzahl Ausgangssuspension	Anteil an Gesamtzahl [%]		[%]			[%]		
3,31 μm	21553	39,2%	392	93%	365		7%	28	

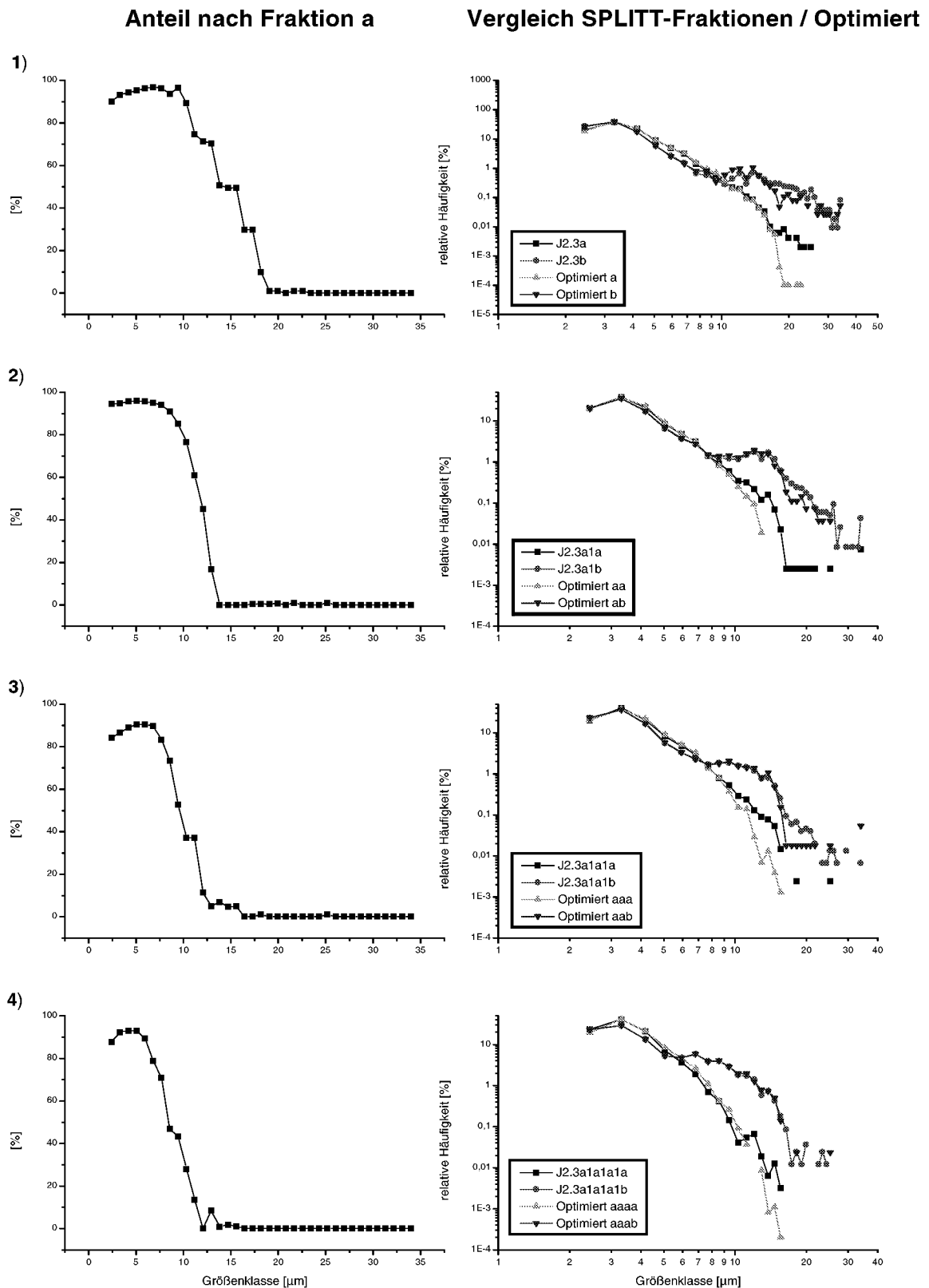
Die ermittelten Partikelzahlen der Modellfraktionen a und b wurden in Anteile umgerechnet. Danach wurden die quadratischen Abweichungen zwischen den Größenklassen der Modellfraktionen und den tatsächlichen SPLITT-Fraktionen berechnet. Das Optimierungsverfahren besteht nun darin, dass die Umverteilung der Ausgangssuspension so angepasst wird, dass die Unterschiede zwischen Modellfraktionen und den Bildanalysedaten der SPLITT-Fraktionen möglichst gering sind. Dabei wird die kleinste Summe der quadratischen Abweichungen als Optimum angesehen.

Tab. 5 Optimieren der Umverteilung durch das Anpassen der Modellfraktionen an die Bildauswertedaten. Hier beispielhaft gezeigt anhand einer einzelnen Größenklasse.

aus Bildauswertung			Partikel Modellfraktion a	Anteil an Fraktion a [%]	Partikel Modellfraktion b	Anteil an Fraktion b [%]	Summe der quadratischen Abweichungen
Klasse [μm]	SPLITT-Fraktion a	SPLITT-Fraktion b					
3,31 μm	37,3%	38,1%	365	39,2%	28	39,0%	2,4E-04

Die Umverteilung jeder Größenklasse ist mit Hilfe des „Solvers“ im Programm Microsoft Excel, Version 8.0b, optimiert worden (Abb. 22). Im Bereich kleiner Korngrößen wurde eine gute Übereinstimmung der Werte erreicht. Aufgrund der geringen Anzahl gemessener Partikel großer Korngrößen und den damit vorhandenen Zählfehlern, weicht das Ergebnis der Optimierung deutlicher von den Bildanalysedaten ab.

Das vorgestellte Optimierungsverfahren ermöglicht eine einfache Abschätzung des Trenndurchmessers, anhand der Bildanalysedaten der SPLITT-Fractionen.

**Abb. 22**

Ergebnis des Optimierungsverfahrens für die 4-stufige SPLITT-Fraktionierung der Probe J2_3i.

Links die optimierte Umverteilung der jeweiligen Ausgangssuspension. Angegeben sind die Anteile [%] der Größensklassen, die von der Ausgangssuspension nach Fraktion a gehen.

Rechts der Vergleich zwischen den aus der Bildanalyse gewonnenen Daten und den aus der Optimierung erhaltenen Werten. (doppelt logarithmische Achsen)

1) bis 4) Stufe 1 bis 4 der mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung.

3.2.5 SPLITT-Fraktionierung von Sedimentproben aus dem Holzmaar (Eifel)

3.2.5.1 SPLITT-Fraktionierung einer Siebfraktion 10 – 20 μm (Holzmaar)

Aus den vorangegangenen Versuchen zur SPLITT-Fraktionierung ergab sich, dass je nach Ausgangslage des vorliegenden Probenmaterials eine Unterteilung des Sediments in weitere Siebfraktionen vorteilhaft sein kann. Es soll im Folgenden vorgestellt werden, wie eine Siebfraktion im Bereich 10 – 20 μm SPLITT-technisch aufzubereiten ist. Als Ausgangsmaterial wurde rezentes Sediment aus dem Holzmaar verwendet. Zusätzlich zu den schon beschriebenen vorgeschalteten Aufbereitungsschritten wurde mit der Siebfraktion < 20 μm eine Siebung bei 10 μm durchgeführt. Die Siebfraktion 10 – 20 μm wurde anschließend in zwei Durchläufen mit der SPLITT-Zelle aufbereitet. Mit dem zweiten Durchlauf

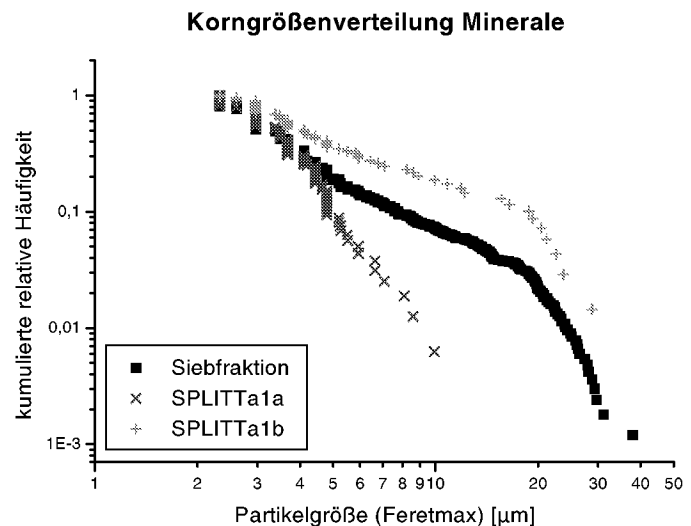


Abb. 23

Ergebnis der SPLITT-Fraktionierung einer Siebfraktion 10 – 20 μm in zwei Stufen.

(siehe auch Anhang D.2.3, Abb. 56, Abb. 57)

Nach 2 Fraktionierungen sind in Fraktion a nur noch Partikel < 10 μm zu finden, die eine Kontamination darstellen. Partikel > 20 μm in der Siebfraktion sind zum größten Teil auf Partikel zurückzuführen, die mit ihrem kleinsten Durchmesser durch das Sieb gelangen konnten, aber auch auf Aggregate.

Fließraten der Fraktionierungsstufen:

- 1) $V(a') = 5,5 \text{ ml/min}$, $V(b') = 22,4 \text{ ml/min}$,
 $V(a) = 21,1 \text{ ml/min}$, $V(b) = 6,9 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,25$; $V(t) = 16,9 \text{ ml/min}$
- 2) $V(a') = 3,3 \text{ ml/min}$, $V(b') = 10,6 \text{ ml/min}$,
 $V(a) = 10,7 \text{ ml/min}$, $V(b) = 3,4 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,31$; $V(t) = 7,3 \text{ ml/min}$

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten)

konnten in Fraktion a (Abb. 23, Abb. 57 (Anhang D), SPLITTa1a) alle Mineralkörner > 10 μm abgetrennt werden, d.h. es sollten keine Mineralkörner mehr vorhanden sein. Die Partikelgrößenanalyse ergab für diese Fraktion aber noch einen geringen Anteil an kleinen Partikeln mit einem Maximum bei etwa 3 μm (vergl. Kapitel 3.2.5.2 und 3.2.5.3), deren Herkunft unklar ist. Denkbar sind eine unvollständige Siebung, vorhandene Kontamination der benutzten Lösungen (es wurden keine hochrein gefilterten Flüssigkeiten benutzt), Kontamination der Suspensionen über die Raumluft (es wurden in den Suspensionen immer wieder Staubpartikel gefunden) oder Artefakte aus dem Prozess der Partikelgrößenanalyse.

Unter Vernachlässigung der Partikel $< 10 \mu\text{m}$, ergibt sich für Fraktion a (SPLITTa) nach dem 2. Lauf praktisch ein Anteil an Diatomeenschalen von 100%. Bei den Diatomeenarten dieser Fraktion a handelte es sich hauptsächlich um *Cyclotella*, *Cymbella*, *Cocconeis* und *Fragilaria*. Eine weitere Auftrennung in Fraktionen von einzelnen Diatomeenarten wurde nicht vorgenommen und erscheint schwierig, da die Größen- und Masseneigenschaften der Diatomeenschalen in diesem Größenbereich ($10 - 20 \mu\text{m}$) sehr ähnlich sind. Vermutlich lässt sich aber mittels SPLITT-Fraktionierung, bei entsprechender Einstellung der Fließraten oder Modifikation des Trennvorgangs, eine Artentrennung in gewissem Umfang erreichen.

Allerdings garantiert die erhaltene Fraktion eine für isopenanalytische Untersuchungen weitestgehend saubere Probe, d.h. eine Probe die keine minerogenen Partikel mehr enthält, die das zu messende biogene Signal verfälschen könnten.

Tab. 6

Diatomeengehalte der SPLITT-Fraktionierung der Siebfraction $10 - 20 \mu\text{m}$ unter Angabe der Fließraten. Die Fraktionierung wurde in zwei Schritten durchgeführt. Für den 2. Schritt wurde Fraktion a aus der ersten Auftrennung weiter verwendet. Der Anfangsgehalt an Diatomeenschalen betrug 13,8 % (69 % für Partikel $> 10 \mu\text{m}$, d.h. unter Vernachlässigung der Kontamination). Für Fraktion a der 1. Fraktionierungsstufe konnten keine Diatomeengehalte ermittelt werden. Der hohe Gehalt an Diatomeen in Fraktion b der 2. Stufe erklärt sich durch die geringe Zahl an Partikeln $> 10 \mu\text{m}$.

Frakt. Stufe	V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt bzgl. Gesamtpartikelzahl			
					Fraktion a		Fraktion b	
					gesamt	$> 10 \mu\text{m}$	gesamt	$> 10 \mu\text{m}$
1. Stufe	5,5	22,4	21,1	6,9	-	-	2,8 %	4,0 %
2. Stufe	3,3	10,6	10,7	3,4	28,7 %	100 %	36,7 %	76,9 %

Aus der Siebfraction $10 - 20 \mu\text{m}$ des rezenten Holzmaarsediments ließ sich in zwei Fraktionierungsstufen eine vollständige Extraktion von Diatomeenschalen (Fraktion a) erreichen.

3.2.5.2 SPLITT-Fraktionierung einer Siebfraction $20 - 80 \mu\text{m}$ (Holzmaar)

Das gesiebte Sediment wies einen hohen Gehalt (81,9%) an Diatomeenschalen auf (u.a. *Synedra*, *Asterionella*, *Fragilaria*, *Pleurosigma*, *Cymbella*). Dennoch ist bei einem Fremdanteil von Partikeln in der Größenordnung von etwa 20%, ein Großteil davon sind minerogener Natur, eine isopenanalytische Untersuchung nicht sinnvoll. Je nach Isotopenmarkierung der Minerale kann das zu verifizierende Isotopensignal der Diatomeen

überdeckt werden (Kap. 4.4.5). Im vorliegenden Fall wurde eine einstufige SPLITT-Fraktionierung durchgeführt (Anhang D, Abb. 58, Abb. 59). Aufgrund der hohen Fließraten wurde an der Grenze der Verwendbarkeit der SPLITT-Zelle gearbeitet. Insbesondere die Schlauchpumpe zeigte sich angesichts des Gegendrucks an ihrer Leistungsgrenze. Die Suspension, respektive die Trägerflüssigkeit, enthielt 0,05% Agepon® und war auf eine Partikelkonzentration $< 0,5$ Gew.% angesetzt. Die Bildauswertung der Fraktionen, einschließlich der Ausgangssuspension, ergaben eine trimodale Korngrößenverteilung der Minerale, mit Maxima bei ca. $3\text{ }\mu\text{m}$, ca. $37\text{ }\mu\text{m}$ und ca. $46\text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 24). Da der Feinanteil sich nur aus kleinsten Partikeln zusammensetzt, ist die Herkunft dieser Partikel fraglich. Eine Kontamination der Probe und / oder des Objektträgers während der Partikelgrößenanalyse kann nicht ausgeschlossen werden. Werden diese Partikel für die Berechnung des Gehalts an Diatomeenschalen nicht berücksichtigt, ist das Ergebnis der Fraktionierung bereits gut (Tab. 7). Entsprechend der Angaben in Kap. 4.4.5 würde beispielsweise ein minerogener Massenanteil von 10%, bei einer Differenz der Sauerstoffisotopenwerte zwischen Mineral und Diatomee von $\Delta = 5\text{‰}$, die Probenmessung um lediglich $0,5\text{‰}$ verfälschen.

Tab. 7

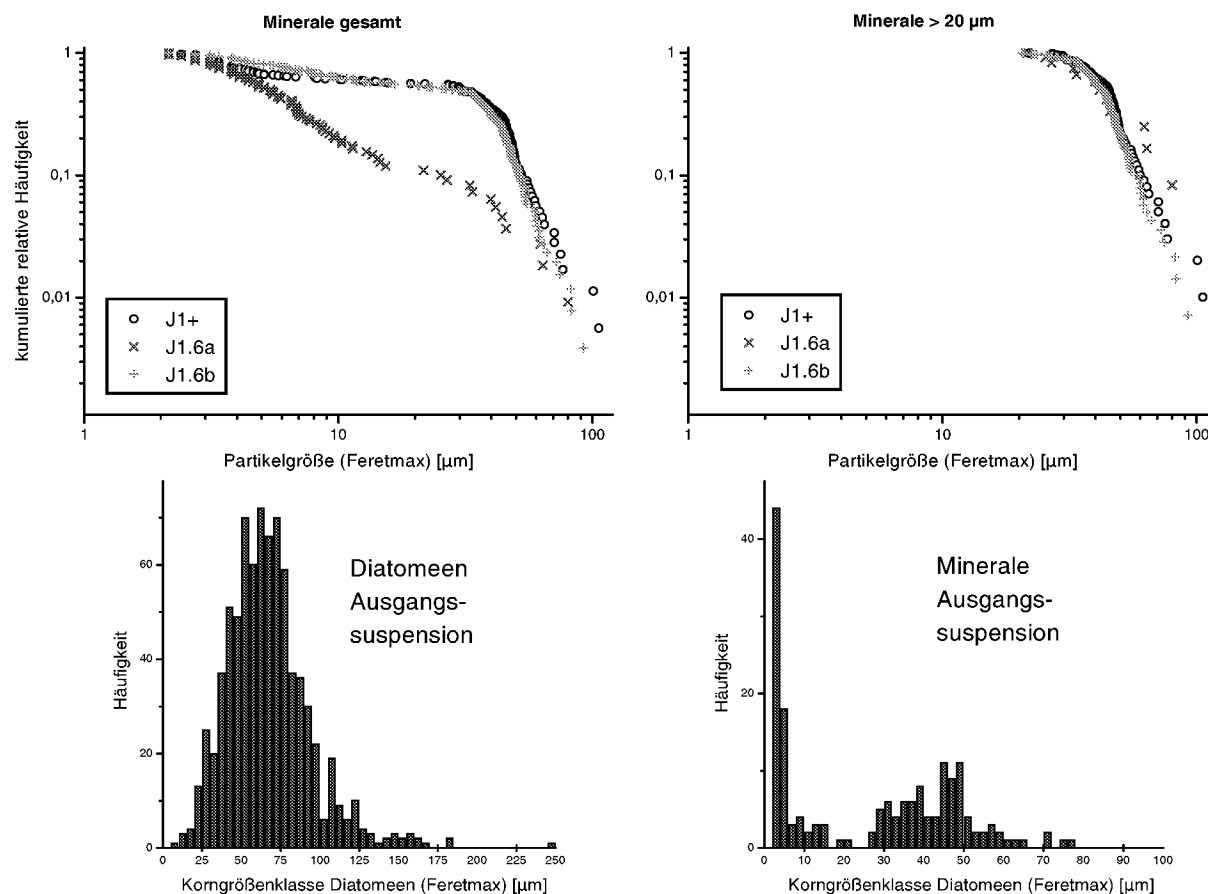
Diatomeengehalte der SPLITT-Fraktionierung für die Siebfraction 20 – $80\text{ }\mu\text{m}$ unter Angabe der verwendeten Fließraten.

Das Ergebnis wurde mit nur einer SPLITT-Fraktionierung erzielt.

Die Gehalte an Diatomeenschalen sind einmal bezüglich aller gemessener Partikel angegeben (gesamt) und unter Vernachlässigung der Partikel $< 20\text{ }\mu\text{m}$.

V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt bzgl. Gesamtpartikelzahl					
				Probe J1+ (20-80 μm)		Fraktion a		Fraktion b	
				gesamt	$> 20\text{ }\mu\text{m}$	gesamt	$> 20\text{ }\mu\text{m}$	gesamt	$> 20\text{ }\mu\text{m}$
56,6	77	100	32,9	81,9%	89,0%	78,7%	97,1%	1,9%	3,4%

Die SPLITT-Fraktionierung der Siebfraction 20 – $80\text{ }\mu\text{m}$ des rezenten Holzmaarsediments erwies sich als eine schnelle und effektive Methode, Diatomeenschalen von Mineralkörnern zu trennen. Die angereicherte Diatomeenfraktion (Fraktion a) enthielt noch wenige Mineralkörner $> 20\text{ }\mu\text{m}$ sowie eine Kontamination an kleinsten Partikeln ($3\text{ }\mu\text{m}$). Um auf der sicheren Seite zu sein, könnte demzufolge die Durchführung einer weiteren Fraktionierungsstufe sinnvoll erscheinen.

**Abb. 24**

SPLITT-Fraktionierung einer Siebfraction 20 – 80 µm. (siehe auch Anhang D.2.4, Abb. 58, Abb. 59)

Nach einer Fraktionierungsstufe waren in Fraktion a nur noch sehr wenige Mineralkörner > 20 µm vorhanden.

In allen Fraktionen fanden sich Kontaminationen von Partikeln < 20 µm.

Fließraten J1+ : $V(a') = 56,6$ ml/min, $V(b') = 77$ ml/min, $V(a) = 100$ ml/min, $V(b) = 32,9$ ml/min

$V(a')/V(b') = 0,7$; $V(t) = 43,4$ ml/min

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten)

3.2.5.3 SPLITT-Fraktionierung eines Sedimentfallen-Materials (Holzmaar)

Um die verfahrenstechnische Eignung der vorgestellten Technik auf breiterer Basis zu demonstrieren wurde als Vergleichsmaterial zu Sediment, dass den obersten Zentimetern eines Seebodens entstammte, Sedimentfallen-Material gewählt. Die von Jülich aus betreute Sedimentfalle befand sich in 7 m Wassertiefe, über der tiefsten Stelle des Holzmaares (Eifel). Über einen Zeitraum von jeweils 2 Wochen wurde Sediment akkumuliert. Es wurde Material von zwei Probenahmen verwendet (vom 07.09.1999 und 21.09.1999). Der Gehalt an mikroskopischem, organischem Material war deutlich höher als im Sediment des Seebodens (mikroskopische Beurteilung). Nach mehreren Stunden Behandlung mit 30%iger H_2O_2 waren noch deutlich fädige Reste von Blaualgen zu erkennen. Es wurde eine Suspension, die noch

derartige Reste enthielt, mittels SPLITT-Fraktionierung aufbereitet (ZS7m990907). Dabei stellte sich heraus, dass eine Suspension mit einem hohen Gehalt bestimmter organischer Reste wie z.B. die fädigen Zellstrukturen von Blaualgen oder für Bakterien und Pilze leicht aufschließbares Material, für eine SPLITT-Fraktionierung nicht geeignet ist, da sich vermehrt große Aggregate bilden, welche die Auftrennung verhindern (Abb. 25, Anhang D, Abb. 60). Um die geschilderten Probleme zu umgehen wurde eine weitere Probe (ZS7m990921) daraufhin solange mit H_2O_2 behandelt, bis keine organischen Reste dieser Art mehr zu erkennen waren.

Trotzdem war der Gehalt an sehr stabilen biogenen Partikeln in der Siebfraktion 20 – 80 μm noch hoch. Dazu gehörten u.a. Zellgerüste bestimmter Grünalgen (*Pediastrum*), Reste der Panzer von Wasserflöhen (*Cladocera*), Schwammnadeln etc.. Dagegen waren in der Siebfraktion < 20 μm keine mikroskopischen, organischen Reste mehr zu erkennen.

Siebfraktion < 20 μm des Fallensediments: Die entsprechend gründlich vorbehandelte Siebfraktion < 20 μm des Fallensediments wurde in zwei Stufen SPLITT-fraktioniert (Anhang D, Abb. 61 - Abb. 63). Im ersten Schritt wurden größere Mineralkörner von den Diatomeenschalen abgetrennt, im zweiten Schritt wurden Tonminerale abgetrennt. Als Ergebnis wurde eine mit Diatomeenschalen angereicherte Fraktion b (*Cymbella*, *Cyclotella*, *Cocconeis*, *Fragilaria*) erhalten (Tab. 8). Eine Aussage über die Massenanteile von Diatomeen und Mineralen, lässt sich aus den Bildanalysedaten nicht gewinnen (siehe Kap. 3.1.4). Die Suspensionen aus der SPLITT-Fraktionierung der Siebfraktion < 20 μm (ZS7m990921) stellten sich als instabil heraus. Es bildeten sich nach der SPLITT-Fraktionierung, im Zeitraum bis zur Präparation Aggregate, die bei der Partikelgrößenanalyse zu einer Überschätzung der größeren Korngrößen führte (zu erkennen in Abb. 26 (a), ZS7ma1a). Insofern können die aus der Bildauswertung gewonnenen Daten nur eingeschränkt zur Bewertung der Trennungsqualität der entsprechenden SPLITT-Fraktionierung gelten.

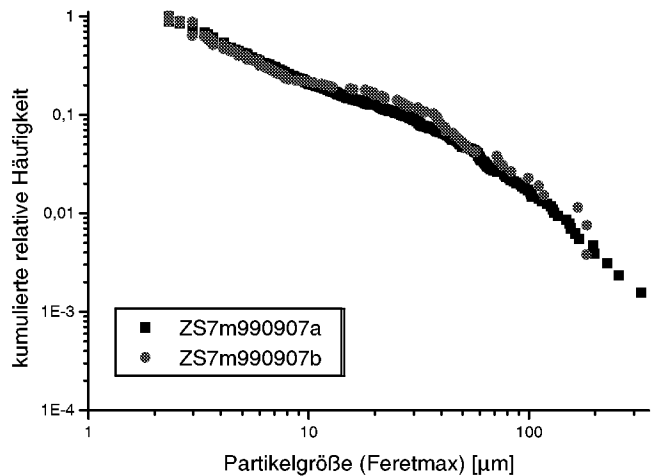


Abb. 25

SPLITT-Fraktionierung eines Sedimentfallen-Materials (7 m Wassertiefe) – Siebfraktion 20 – 80 μm . Aufgrund eines hohen Anteils organischer Reste und daher Aggregatbildung, konnte nur ein schlechtes Trennergebnis erzielt werden. (siehe Anhang D.2.5, Abb. 60)
 Probe ZM7m990907; Fließraten:
 $V(a') = 57,7$ ml/min, $V(b') = 78,0$ ml/min,
 $V(a) = 104$ ml/min, $V(b) = 34$ ml/min
 $V(a')/V(b') = 0,74$; $V(t) = 20,3$ ml/min
 (Doppelt logarithmische Darstellung)

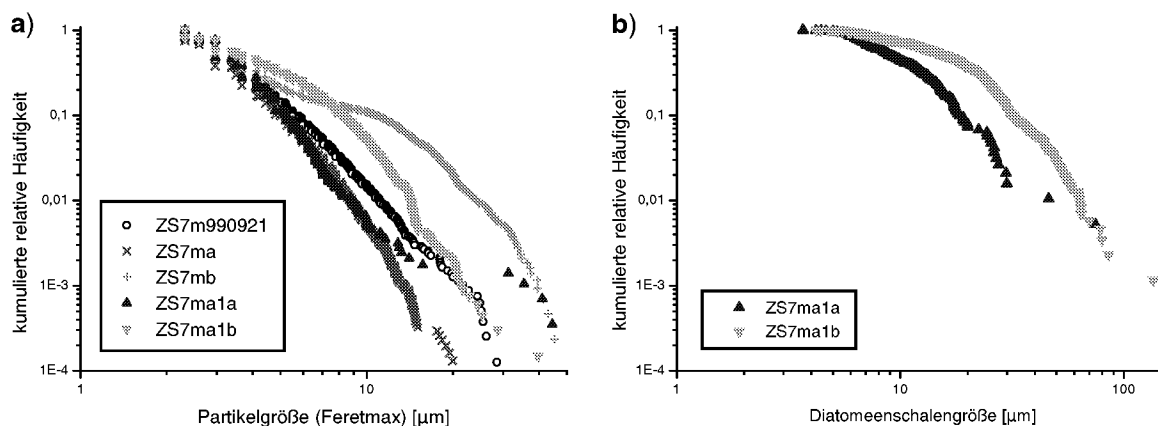
Nach mikroskopischer Betrachtung waren Diatomeenschalen in Fraktion a1b gut angereichert, aber ein noch zu hoher mineralischer Anteil vorhanden. Daher muss auch in diesem Fall eine Mikrosiebung bei 5 und 10 μm der SPLITT-Fraktionierung vorgeschaltet werden (vergl. Kap.3.2.4).

Tab. 8

Diatomeengehalte der SPLITT-Fraktionierung für die Siebfraction < 20 μm (ZS7m990921) und Angabe der Fließraten.

Die Fraktionierung wurde in zwei Schritten durchgeführt. Für den 2. Schritt wurde Fraktion a weiter verwendet. Der Anfangsgehalt an Diatomeenschalen betrug 4,51%, bzgl. der Gesamtpartikelzahl.

Frakt. Stufe	Probe ZS7m (990921)	V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt bzgl. Gesamtpartikelzahl	
						Fraktion a	Fraktion b
1. Stufe	ZS7m	5,1	20,0	18,8	6,3	2,07%	2,32%
2. Stufe	ZS7ma1	0,8	2,7	2,4	0,9	6,38%	11,45%

**Abb. 26**

SPLITT-Fraktionierung eines Sedimentfallen-Materials in 2 Stufen (7 m Wassertiefe) – Siebfraction < 20 μm .

In Fraktion b der 2. Stufe reicherten sich Diatomeenschalen an, die im Vergleich zu den Diatomeen in Fraktion a größere Schalen besaßen (siehe b). (siehe auch Anhang D.2.5, Abb. 61 - Abb. 63)

a) Korngrößenverteilung der Minerale.

Aufgrund von Aggregatbildung sind in Fraktion a1a große Korngrößen überschätzt.

Probe ZM7m990921; Fließraten:

1) ZS7m: $V(a') = 5,1 \text{ ml/min}$, $V(b') = 20,0 \text{ ml/min}$, $V(a) = 18,8 \text{ ml/min}$, $V(b) = 6,3 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,26$; $V(t) = 14,9 \text{ ml/min}$

2) ZS7ma: $V(a') = 0,8 \text{ ml/min}$, $V(b') = 2,7 \text{ ml/min}$, $V(a) = 2,4 \text{ ml/min}$, $V(b) = 0,9 \text{ ml/min}$
 $V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 1,9 \text{ ml/min}$

b) Größenverteilung der Diatomeenschalen nach der 2. Fraktionierungsstufe in Fraktion a und b.
 (Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten)

Siebfraktion 20 – 80 μm des Fallensediments: Die Siebfraktion $> 20 \mu\text{m}$ des Fallensediments wurde in einer Stufe SPLITT-fractioniert. Diatomeenschalen reicherten sich in Fraktion a an (Anhang D, Abb. 64). Der Gehalt an Diatomeen (im wesentlichen *Synedra*) war jedoch im Bezug auf die Gesamtpartikelzahl gering (Tab. 9). Neben wenigen Mineralen fanden sich in Fraktion a vor allem Reste biogener Herkunft. Diese Reste werden bei der Bildanalyse nicht berücksichtigt (Abb. 27).

Nach der Bestimmung der Korngrößenverteilung ergab sich ein schon im Kapitel 3.2.5.1 beschriebenes Problem. Obwohl nach einer Siebung bei $20 \mu\text{m}$ alle kleineren Korngrößen entfernt worden sein sollten, wies die Größenverteilung der gemessenen Partikel ein weiteres Maximum bei kleinsten Korngrößen um $3 \mu\text{m}$ auf. Der Gehalt an Diatomeenschalen bezüglich der Partikelzahl weist daher deutliche Unterschiede auf, je nachdem ob gemessene Partikel $< 20 \mu\text{m}$ mit berücksichtigt werden oder nicht. Aufgrund der geringen Anzahl gemessener Diatomeen sind die Angaben der Diatomeengehalte zusätzlich mit einem größeren Fehler behaftet.

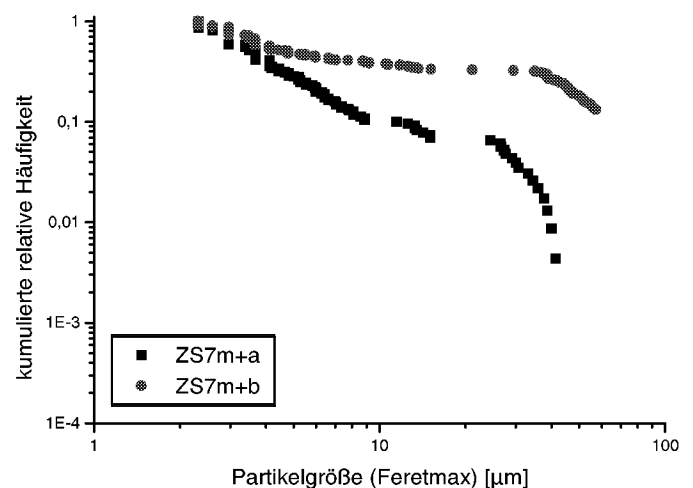
Tab. 9

Diatomeengehalte und Fließraten für die SPLITT-Fraktionierung der Siebfraktion 20 - 80 μm (ZS7m990921). Es wurde nur ein Fraktionierungsschritt durchgeführt. Die Diatomeenschalen reicherten sich in Fraktion a an. Der Anfangsgehalt an Diatomeenschalen wurde nicht bestimmt.

V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt bzgl. Gesamtpartikelzahl			
				Fraktion a		Fraktion b	
				gesamt	$> 20 \mu\text{m}$	gesamt	$> 20 \mu\text{m}$
58,8	77,9	103,8	33,8	6,5%	51,61%	0,49%	1,47%

Abb. 27

SPLITT-Fraktionierung eines Sedimentfallen-Materials (7 m Wassertiefe) - Siebfraktion 20 – 80 μm . Nach einem Fraktionierungsschritt reicherten sich Diatomeenschalen in Fraktion a an. (siehe auch Anhang D.2.5, Abb. 64)
Probe ZM7m990921; Fließraten:
V(a') = 58,8 ml/min, V(b') = 77,9 ml/min,
V(a) = 103,8 ml/min, V(b) = 33,8 ml/min
V(a')/V(b') = 0,75; V(t) = 19,1 ml/min
(Doppelt logarithmische Darstellung)



Das Material aus den Sedimentfallen wies im Vergleich zum Sediment aus den obersten Dezimetern des Seebodens höhere organische Anteile auf. Dies führte zu längeren Vorbehandlungszeiten für das Sediment, da bestimmte organische Anteile in der Suspension, sich wegen ihrer Neigung zur Aggregatbildung als störend für die SPLITT-Fraktionierung herausstellten. Kompakte biogene Partikel, die in der Siebfraction 20 – 80 μm zu finden waren, störten die SPLITT-Fraktionierung nicht.

Für die Siebfraction < 20 μm lässt sich feststellen, dass sich Tonminerale mittels SPLITT-Fraktionierung in zwei Stufen zwar abtrennen lassen, aber eine mineralfreie Fraktion nicht erhalten wird. Hier müsste eine weitere Siebung folgen.

Die Siebfraction 20 – 80 μm enthielt nur wenig Diatomeen, so dass zwar in einem Fraktionierungsschritt Diatomeenschalen angereichert werden konnten (Fraktion a), aber der Anteil an anderen biogenen Partikeln überwiegt, bzw. auch schon ein geringer Gehalt an Restmineralen deutlich ins Gewicht fällt.

3.2.6 SPLITT-Fraktionierung einer Sedimentprobe aus dem Huguang Maar (Südchina)

Das aus einer Kerntiefe von ca. 29 m stammende Material war soweit kompaktiert, dass die in Kapitel 2.2.1 vorgeschlagene Aufbereitung nicht zu einer vollständigen Suspendierung der Partikel führte. In der Suspension waren instabile Aggregate von kleinsten Partikeln (Tone + Feinschluff) vorhanden, die immer wieder Partikel in unterschiedlichen Mengen freisetzten. Aus diesem Grund können die aus der Bildanalyse gewonnenen Korngrößenverteilungen nicht exakt das Ergebnis der SPLITT-Fraktionierung widerspiegeln. In den Summenkurven der b-Fractionen in Abb. 28 ist deshalb eine Überbetonung kleiner Korngrößen vorhanden. Die gemessenen größeren Partikel setzten sich aus Mineralkörnern und Aggregaten zusammen, wobei sich die Aggregate hydrodynamisch ähnlich zu den Mineralkörnern verhielten, also ebenfalls abzutrennen waren.

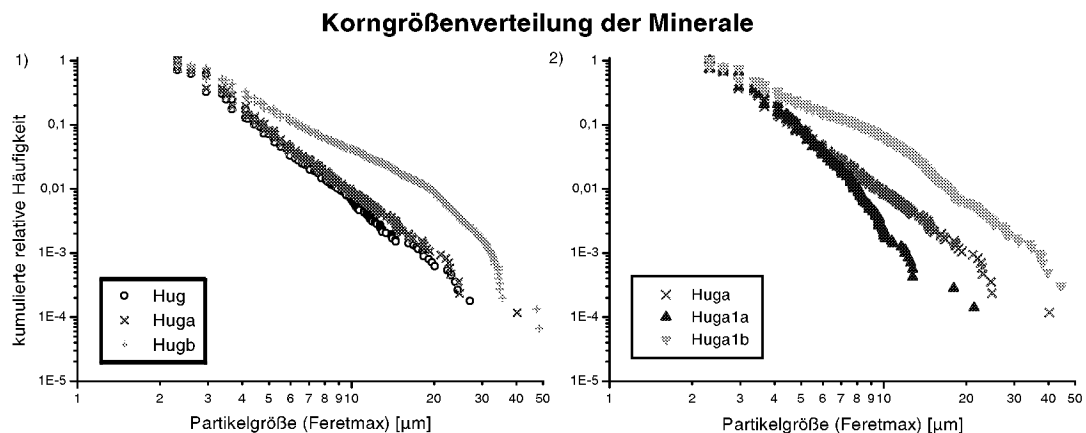
Das Material wurde bei 20 μm gesiebt, um größere Aggregate zu entfernen. Für die SPLITT-Fraktionierung wurde die Siebfraction < 20 μm verwendet, da sich dort nach mikroskopischer Betrachtung die meisten Diatomeenschalen (im wesentlichen *Aulacoseira*) befanden. Die SPLITT-Fraktionierung wurde in 2 Stufen durchgeführt, um zuerst größere Minerale / Aggregate von den Diatomeenschalen zu trennen und anschließend die Ton- und Feinschlufffraction (Anhang D, Abb. 65 - Abb. 67). In Tab. 10 ist zu sehen, dass sich die

Diatomeenschalen zuerst in Fraktion a anreicherten und mit der zweiten Fraktionierungsstufe in Fraktion b (Huga1b). Aufgrund der freigesetzten Partikel ist hier vermutlich der Anteil von 3,25% Diatomeenschalen bzgl. der Gesamtpartikelzahl unterschätzt. In Fraktion Huga1a befanden sich noch wenige kleine Diatomeen und Schalenbruch.

Tab. 10

Fließraten und Diatomeengehalte der SPLITT-Fraktionierung der Probe Hug_F-15-u_2916. Die Fraktionierung wurde in zwei Schritten durchgeführt. Für den 2. Schritt wurde Fraktion a weiter verwendet. In Stufe 1 wurden größere Mineralkörner abgetrennt, in Stufe 2 die Tonminerale. Der Anfangsgehalt an Diatomeenschalen betrug 0,57% der Gesamtpartikel.

Frakt. Stufe	Probe Hug_F-15-u_2916	V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt bzgl. Gesamtpartikelzahl	
						Fraktion a	Fraktion b
1. Stufe	Hug	5,1	20,3	19,5	6,3	1,18%	0,67%
2. Stufe	Hug a	0,8	2,7	2,5	1,3	0,44%	3,25%

**Abb. 28**

SPLITT-Fraktionierung in zwei Stufen eines kompaktierten Sediments aus dem Huguang Maar (China) – Siebfraction < 20 µm.

Da Aggregate vorhanden waren, aus denen ständig kleine Partikel freigesetzt wurden, sind in den b-Fractionen kleine Korngrößen überbetont. (siehe auch Anhang D.2.6, Abb. 65 - Abb. 67)

Probe Hug_F-15-u_2916; Fließraten der Fraktionierungsschritte:

1) Hug: $V(a') = 5,1$ ml/min, $V(b') = 20,3$ ml/min, $V(a) = 19,5$ ml/min, $V(b) = 6,3$ ml/min

$V(a')/V(b') = 0,25$; $V(t) = 15,2$ ml/min

2) Huga: $V(a') = 0,8$ ml/min, $V(b') = 2,7$ ml/min, $V(a) = 2,5$ ml/min, $V(b) = 1,3$ ml/min

$V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 1,9$ ml/min

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten)

Aus den Versuchsergebnissen lässt sich ableiten, dass verfestigte Sedimentproben intensiver vorbehandelt werden müssen, als in Kap. 2.2.1 beschrieben. Ein mehrfaches Erhitzen mit H_2O_2 wäre z.B. zu testen. Die SPLITT-Fraktionierung bestätigte die in den vorherigen Versuchen gemachten Ergebnisse. In einer stufenweise ablaufenden Fraktionierung lassen sich Diatomeenschalen anreichern, eine vollständige Extraktion war im vorliegenden Fall jedoch nicht zu erreichen, da sich Mineralkörner mit zu den Diatomeen korrespondierenden Korngrößen nicht abtrennen ließen. In einem solchen Fall ist durch vorgeschaltete weitere Siebungen die Trennung von korrespondierenden Korngrößen vorzunehmen. Mit Hilfe weiterer SPLITT-Fraktionierungen dürfte eine gewünschte hohe Anreicherung an Diatomeen erreichbar sein.

3.2.7 SPLITT-Fraktionierung einer Sedimentprobe aus dem Bachsee (Schweiz, Grindelwald)

Der Bachsee ist ein Hochgebirgssee (2265 m ü. NN) mit sehr diatomeenarmen Sedimenten. Es wurde eine Probe des obersten Sedimentzentimeters bearbeitet, um zu testen inwieweit sich bei solch diatomeenarmen Sedimenten eine Anreicherung von Diatomeenschalen durchführen lässt. Eine Anwendung dafür, ist z.B. im Bereich der Artenbestimmung zu suchen. Nach mikroskopischer Beurteilung war das Material bereits gut suspendiert und brauchte nicht mehr aufgeschlossen zu werden. Mikroskopische Reste organischen Materials waren nicht zu erkennen. Das Probenvolumen betrug nur etwa 5 ml suspendiertes Sediment. Die Probe wurde bei 20 μm gesiebt, um größere Partikel abzutrennen. Es wurde die Siebfraction < 20 μm weiter verwendet, da sich hier nach mikroskopischer Betrachtung die meisten Diatomeenschalen (hauptsächlich *Fragilaria*, *Cyclotella*) befanden. Das Volumen der Ausgangssuspension betrug 200 ml. Die SPLITT-Fraktionierung wurde auch hier in zwei Stufen durchgeführt (Anhang D, Abb. 68 - Abb. 70). Die Korngrößenverteilungen der Minerale sind in Abb. 29 wiedergegeben.

Die Gesamtzahl der gemessenen Mineralpartikel ist bei dieser Messreihe unsicher. Es traten Abweichungen der absoluten Partikelzahlen zwischen der Ausgangssuspension und der Summe der Fraktionen von ca. 50% auf, da vermutlich die Gesamtpartikelzahl in Fraktion BACa durch die Bildanalyse unterschätzt wurde. Ebenso sind die Diatomeenzahlen mit z.T. großen Fehlern behaftet, da jeweils nur wenige Diatomeenschalen gezählt wurden. Hier traten Abweichungen der absoluten Schalenzahlen von ca. 20% zwischen den Fraktionierungsstufen auf. Die Diatomeenschalen (*Fragilaria*, *Cyclotella*) reicherten sich in der

1. Fraktionierungsstufe in Fraktion a an und mit der 2. Stufe in Fraktion b (Tab. 11). Die Diatomeengehalte bezüglich der Gesamtpartikelzahlen blieben gering. Für eine Artenbestimmung ist nur die Fraktion mit den meisten Diatomeenschalen wichtig, ohne das größere Verluste auftreten. Entsprechend wurden die absoluten Schalenmengen ermittelt.

Tab. 11

Diatomeengehalte der SPLITT-Fraktionierung der Probe BAC_0-1 unter Angabe der Fließraten. Die Fraktionierung wurde in zwei Schritten durchgeführt. Für den 2. Schritt wurde Fraktion a weiter verwendet. Die Prozentangaben sind bezüglich der Gesamtpartikelzahl der jeweiligen Fraktion gerechnet. Die Schalenzahlen wurden aus den Bildanalysedaten auf absolute Zahlen der jeweiligen Fraktion hochgerechnet. Für die Schalenzahlen ergab sich ein Zählfehler von ca. 20%. Der Anfangsgehalt an Diatomeenschalen betrug 0,26% (4.325.821 Schalen).

Frakt. Stufe	Probe BAC_0-1	V(a') [ml/min]	V(b') [ml/min]	V(a) [ml/min]	V(b) [ml/min]	Diatomeengehalt			
						Fraktion a		Fraktion b	
						[%]	Schalenzahl	[%]	Schalenzahl
1. Stufe	BAC	4,9	20,3	19,6	6,3	0,53%	4.866.548	0,22%	59.639
2. Stufe	BACa	0,8	2,7	2,5	0,8	0,28%	3.701.599	0,56%	333.979

Korngrößenverteilung der Minerale

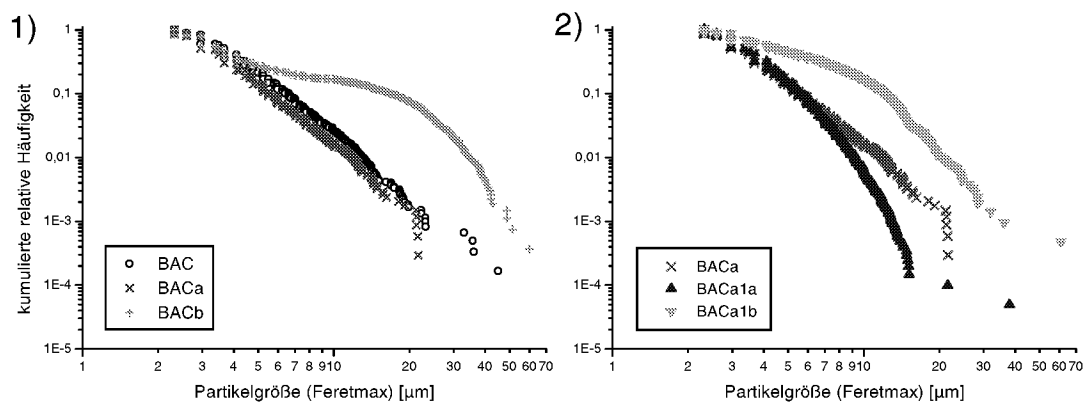


Abb. 29

SPLITT-Fraktionierung in zwei Stufen eines Sediments aus dem Bachsee (Schweiz) – Siebfraction < 20 µm. Das Sediment war sehr arm an Diatomeenschalen. Mit zwei Fraktionierungsstufen ließen sich Diatomeen anreichern (in Fraktion BACa1b). (siehe auch Anhang D.2.7, Abb. 68 - Abb. 70)

Probe BAC_0-1; Fließraten der Fraktionierungsschritte:

1) BAC: $V(a') = 4,9$ ml/min, $V(b') = 20,3$ ml/min, $V(a) = 19,6$ ml/min, $V(b) = 6,3$ ml/min

$V(a')/V(b') = 0,24$; $V(t) = 15,4$ ml/min

2) BACa: $V(a') = 0,8$ ml/min, $V(b') = 2,7$ ml/min, $V(a) = 2,3$ ml/min, $V(b) = 0,8$ ml/min

$V(a')/V(b') = 0,3$; $V(t) = 1,9$ ml/min

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten relativen Korngrößenhäufigkeiten)

Das Ergebnis der mehrstufigen SPLITT-Fraktionierung des Bachsee-Sediments zeigte ein etwas unterschiedliches Verhalten gegenüber den Proben aus dem Holzmaar und dem Huguang Maar.

Nach zwei Fraktionierungsstufen war die Mehrzahl der Diatomeenschalen in Fraktion a (a1a) wiederzufinden, wobei durch den hohen mineralischen Anteil eine solche Fraktion für isopenanalytische Untersuchungen nicht in Frage kommt. Bei gleichen Einstellungen der Fließraten, wie sie schon für das Fallensediment und das Sediment aus dem Huguang Maar verwendet wurden, zeigten sich Unterschiede im Fraktionierungsergebnis. Die SPLITT-Fraktionierung muss also, wie auch zu erwarten ist, nicht nur dem Mineralspektrum des Sediments, sondern darüber hinaus der Vielgestaltigkeit der Diatomeenschalen angepasst werden.

Durch eine Vorfraktionierung mittels Mikrosiebung, ließe sich eine bessere Anreicherung der Diatomeen erzielen. Der Versuch zeigt auch, dass geringe Probenmengen mittels SPLITT-Fraktionierung verarbeitet werden können, was für die Untersuchung varvierter Sedimente von Bedeutung ist.

4 Diskussion

4.1 Anwendbarkeit der Bildanalyse für SPLITT-Fractionen aus limnischen Sedimente

Wie in Kapitel 2.4 (Bildverarbeitung) beschrieben, stellt sich zunächst die Frage, warum zur Partikelanalyse der Sedimente aus den SPLITT-Fraktionierungen nicht eine der gängigen Methoden angewendet wurde. Dazu ist anzumerken, dass Siebanalyse, Sedimentierverfahren, Laserpartikelzähler, Coulter-Counter usw. granulometrische Methoden sind die nur indirekt eine Aussage über Korngrößen erlauben. Bei keiner der genannten Methoden wird bei der Messung zwischen unterschiedlichen Partikelklassen unterschieden. Um zweifelsfrei zwischen einer Diatomeenschale und einem Mineralkorn unterscheiden zu können, sind unbedingt morphologische Methoden gefragt. Traditionell kommen dafür bis heute nur optische Verfahren in Frage (Köster, 1964). Eine große Partikelzahl macht hier eine Automatisierung zwingend. In weiten Bereichen werden schon software-gestützte Bildanalyseverfahren eingesetzt, so dass der Einsatz für die Analyse der SPLITT-Fractionen nahelag (Russ, 1999; Klaus et al., 1999).

4.1.1 Mikroskopie – Probenvorbereitung

Auch bei einer bildanalytischen Methode ist die Probenvorbereitung für das spätere Messergebnis entscheidend. Welches sind die Kriterien, die man für eine Bildanalyse beachten sollte?

4.1.1.1 Probenlagerung

Es stellte sich heraus, dass einige der Suspensionen aus der SPLITT-Fraktionierung instabil waren, d.h. dazu neigten, Aggregate zu formen. Dies ist nicht nur während der SPLITT-Fraktionierung störend, sondern verfälscht, wenn nach der Fraktionierung auftretend, das Ergebnis der Bildanalyse – es werden zu viele große und gleichzeitig zu wenig kleine Partikel gemessen. Instabile Suspensionen müssen stabilisiert werden. Dies kann geschehen durch Waschen, bzw. Entfernen der Substanzen, die instabilisierend auf die Suspension wirken, oder

durch Zugabe stabilisierender Mittel (z.B. Natriumdiphosphat, falls die Probe nur zur Bildanalyse Verwendung findet).

4.1.1.2 Präparation

Die Partikel sollten homogen über das Messfeld des Objektträgers verteilt sein. Sich berührende Partikel oder Anhäufungen beeinflussen das Messergebnis. Um eine gleichmäßige Verteilung des Präparats auf dem Objektträger zu erreichen, wurde ein Tensid (Agepon®) in starker Verdünnung (>1000-fach) eingesetzt. Es besteht hierbei die Gefahr, dass Rückstände des Tensids nach der Bildverarbeitung als Artefakte mitgemessen werden können (Abb. 30). Eine weitere Quelle für eine Messverfälschung sind Partikel, die aus der Raumluft und aus den verwendeten Flüssigkeiten stammen.

Fremdpartikel dieser Art können nur mit erhöhtem Aufwand entfernt werden (fusselfreie Kleidung, gefilterte Raumluft, gefiltertes Wasser...). Im Falle der SPLITT-Fractionen wurde darauf weitgehend verzichtet, da in den meisten Proben der Anteil an Fremdpartikeln gegenüber der Partikelzahl der Probe gering war. Eine Ausnahme stellten diejenigen Proben dar, bei denen hauptsächlich Korngrößen > 15 µm gemessen werden sollten, da hier die Partikelzahl der Proben gering war. Die Wahl einer geringeren Vergrößerung könnte in diesem Fall helfen, da so kleinste Partikel nicht mehr erfasst werden, allerdings ohne Unterschied zwischen Fremdpartikeln und kleinen Mineralkörnern.

4.1.1.3 Wahl der Okulare / Vergrößerung

Die Vergrößerung ist dem Messbereich der Partikelgrößen anzupassen. Um einen großen Korngrößenbereich zu erfassen, wurde eine geringe Vergrößerung gewählt. Die Seitenlänge eines quadratischen Bildpixels repräsentierte 0,76 µm, bzw. 0,82 µm. Damit konnten Objekte

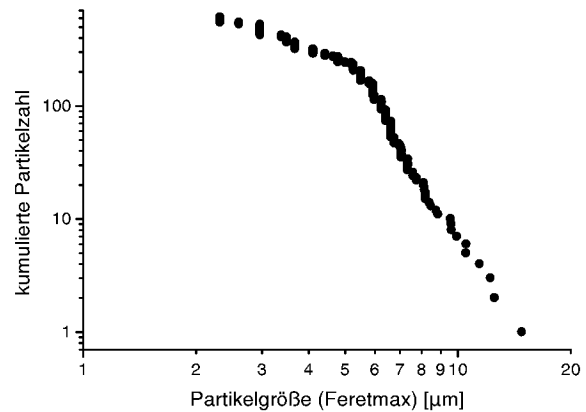


Abb. 30

Blindversuch mit H₂O deion. und Agepon (2 µl auf 1000µl).

Die Summenkurve zeigt eine bimodale Verteilung. In 21 Bildern wurden 611 Partikel gemessen, die z.T. aus Tensidrückständen bestehen, z.T. von Verunreinigungen aus Wasser, bzw. Luft herrühren. (doppelt logarithmische Darstellung)

zwischen 2 bis 80 μm gut erfasst werden. Die Bildverarbeitung limitiert klar die untere Grenze der messbaren Partikelgrößen, während die obere Grenze ein aufnahmetechnisches Problem darstellt. Je größer die Partikel sind, desto weniger können pro Bild gezählt werden, bzw. desto häufiger werden nur Teile eines Partikels im Bild erfasst.

4.1.1.4 Belichtungszeit

Die Belichtungszeit für die Bildaufnahme muss der Beleuchtung angepasst sein. In überbelichteten Bildern werden kleine Objekte überstrahlt. Stark unterbelichtete Aufnahmen erschweren die Trennung zwischen Objektinformation und Hintergrund.

4.1.2 Bildverarbeitung

Bevor ein Objekt mittels Bildanalyse vermessen werden kann, muss eine Bildverarbeitung die Bildinformation so aufbereitet haben, dass nur noch die gewünschte Information in möglichst unverfälschter Weise bereit steht. Doch der erste Schritt zur Informationsverfälschung ist die Bildverarbeitung. Im Anhang A (Bildverarbeitung) wird erläutert, welche Schritte der Bildverarbeitung nötig sind, um ein messbares Ergebnisbild zu erhalten. Im Kapitel 3.1 wurde auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die sich mit der Bildverarbeitung ergeben. Die Simulation einer SPLITT-Fraktionierung (Kapitel 3.1.1, Anhang A.1) ergab, dass die Ergebnisse der Bildanalyse als realistisch zu beurteilen sind.

4.1.2.1 Erfassung kleiner Partikel

An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, dass ein Videobild eine pixelweise Darstellung von Objekten liefert. Das bedeutet, ein Objekt wird gerastert abgebildet und nicht in seinem wirklichen Umriss. Die gerasterte Abbildung wird dem wahren Objekt um so ähnlicher, je besser das Verhältnis von morphologischen Details zur Pixelgröße (Rastergröße) ist. Mit anderen Worten, ein Objekt wird um so schlechter abgebildet, je weniger Pixel zur Abbildung zur Verfügung stehen. Genau das aber ist bei der Abbildung kleiner Partikel der Fall. Da der Begriff „kleine Partikel“ relativ ist, sei hier bemerkt, dass hier im allgemeinen Partikel an der unteren Messgrenze gemeint sind, im besonderen Partikel $< 6 \mu\text{m}$ aus den

SPLITT-Fractionen. Im Kapitel 3.1.2 wurde gezeigt, wie die Variation der Pixelmuster Einfluss auf das Messergebnis nimmt. Ein Objekt, dass durch z.B. 12 Pixel abgebildet wird, kann je nach Bildverarbeitung doppelt, bzw. halb so groß gemessen werden. Die untere Grenze der Partikellängenmessung, die bei 4 Pixeln = minimal 2,15 μm gewählt wurde, ist daher kritisch zu bewerten. Die Verfälschung der morphologischen Messung hat keinen Einfluss auf die gemessene Gesamtpartikelzahl der Probe. Basierend auf der Gesamtpartikelzahl wurde der Anteil an Diatomeenschalen einer Probe berechnet.

4.1.2.2 Erfassung großer Partikel ($> 15 \mu\text{m}$)

Allgemein lässt sich sagen, dass die Messung großer Objekte insofern unproblematisch ist, als Randeffekte, also z.B. der Wegfall von Randpixeln, geringen Einfluss auf das morphologische Messergebnis haben. Im speziellen Fall der Bildanalyse von sedimentären Proben ergab sich eine Problematik aufgrund der minerogenen, bzw. biogenen Herkunft der Partikel. Ab etwa 15 μm Korngröße führte die Oberflächenstruktur der Minerale zu einer uneinheitlichen Abbildung mit stark schwankenden Grauwerten. Ein solches Objekt, dass vom Betrachter als Mineralkorn erkannt wird, zerfiel während der Bildverarbeitung in kleinere Einzelobjekte. Ähnliches gilt für Diatomeenschalen, deren feine Struktur meist nicht als Ganzes von der Bildverarbeitung erfasst wurde. Aus diesen Gründen wurden Partikel $> 15 \mu\text{m}$, sowie Diatomeenschalen von der automatischen Messung ausgeschlossen. Größere Partikel wurden interaktiv am Bildschirm vermessen, wobei durch die Kombination von automatischer und interaktiver Messung, die Korngrößenverteilung oft nicht korrekt abgebildet wurde.

4.1.2.3 Erfassung von Diatomeenschalen

Wie zuvor erwähnt, wurden Diatomeenschalen meist nicht vollständig durch die Bildverarbeitung erfasst. Ein allgemeineres, nicht nur auf Diatomeenschalen bezogenes Problem stellte die Frage dar, auf welche Weise automatisch, d.h. softwarebasiert zwischen zwei Partikelklassen (z.B. Minerale und Diatomeen) unterschieden werden kann. Es müssen morphometrische, bzw. densitometrische Merkmale bestimmt werden, in denen sich die Partikelklassen unterscheiden. Dazu können Trainings-Bildserien eingesetzt werden, in denen explizit nur eine Partikelklasse vorkommt. Im Falle der analysierten SPLITT-Fractionen wurde auf ein automatisiertes Verfahren verzichtet, da schon die Vorbedingung, dass die

Partikel alle perfekt von der Bildverarbeitung wiedergegeben sein müssen, nicht gegeben war. Dies hatte einen deutlich erhöhten Zeitbedarf für die Bildanalyse zur Folge.

4.1.2.4 Berechnung der Partikelmassen aus der Längenmessung

Das benutzte Messverfahren lieferte Kennwerte (Feretmax, Feretmin, Fläche, FCircle), die aus der Vermessung der 2-dimensionalen Abbildung (Mikroskopbild) von 3-dimensionalen Objekten (Minerale, Diatomeen) gewonnen wurden. Um aus den gegebenen Kennwerten auf ein Volumen und schließlich auf eine Masse zu kommen, müssen Annahmen über die räumliche Form der Objekte gemacht werden. Dies wurde für eine Sedimentprobe exemplarisch versucht (Kapitel 3.1.4). Die erhaltenen Gesamtmassen der Minerale erwiesen sich um etwa 2 Größenordnungen zu groß und damit unbrauchbar. Erwartet wurde eine Gesamtmasse zwischen 0,1 und 0,8 g. Untersuchungen möglicher Fehlerquellen durch falsche Berechnung der Verdünnung, eine Überschätzung der Zahl kleiner Partikel ($< 10 \mu\text{m}$), oder eine Überschätzung der Zahl großer Partikel zeigte, dass der bei der Massenbestimmung aufgetretene Fehler andere Ursachen haben muss (siehe Anhang C).

Je nachdem, welches Volumenmodell der Massenberechnung zu Grunde gelegt wurde, unterscheiden sich die Ergebnisse um bis zu 2 Größenordnungen. Offensichtlich ist hier der Hauptgrund für die unzulängliche Berechnung der Gesamtmasse zu suchen. Dem jeweiligen Modell wurde als gemessener Wert nur der „Feretmax“ zugrunde gelegt. Um volumetrische und damit die Masse betreffende Aussagen machen zu können, müssen noch andere geometrische Merkmale berücksichtigt werden. Nur bei automatischer Messung können weitere Kennwerte gemessen werden, aus denen eventuell ein besseres Volumenmodell entwickelt werden kann. In den hier bearbeiteten Proben stehen für eine automatische Messung nur Partikelgrößen bis $15 \mu\text{m}$ zur Verfügung. Eine Berechnung der Gesamtmassen erscheint daher zu unsicher.

4.2 Arbeitsaufwand bei der Bildanalyse

In diesem Abschnitt soll ein Überblick über den Arbeitsaufwand, respektive die Kosten, für eine Bildanalyse gegeben werden. Die Zeitangaben wurden aus Erfahrungswerten geschätzt.

a) Präparate

Arbeitsmittel:	5 - 20 µl Pipette, 50 – 200 µl Pipette, 1000 µl Pipette, Pipettenspitzen, Microvials zum Mischen, Diagnostik-Objektträger (Lochmaske), Petrischalen		
Zeitbedarf:	Probe verdünnen und aufbringen	für 10 Proben	ca. 30 min
	Trocknen	unabhängig von Probenzahl	ca. 3 Std.

b) Mikroskopbilder

Arbeitsmittel:	Durchlichtmikroskop, Videokamera (+ Aufsatz), Computer, Aufnahmesoftware, evtl. <i>frame grabber</i> -Karte		
Zeitbedarf:	Bei 21 Bildern pro Probe	für 10 Proben	ca. 1½ Std.

c) Bildanalyse

Arbeitsmittel:	Computer mit großem Bildschirm (18“), Bildverarbeitungs-Software, Speichermedium		
Speicherbedarf:	ca. 1,2 MB pro Bild (RGB-Bitmap-Format (BMP)), bei 10 Proben mit je 21 Bildern => ca. 260 MB		
Zeitbedarf:	Abhängig davon, wieviel interaktiv gemessen werden muss	für 1 Probe (21 Bilder)	20 min bis 1½ Std.

Nicht aufgeführt ist der Zeitbedarf für Austesten der Verdünnungen, Wiederholungsmessungen, Entwicklungsarbeit der passenden Bildverarbeitungsschritte (Makro schreiben), etc..

Für eine Anzahl von 30 Proben z.B. ergibt sich eine Bearbeitungszeit von minimal 2 Tagen und maximal 8 Tagen, abhängig vom Probenmaterial. Im Schnitt ist für 30 Proben mit einer Bearbeitungszeit von etwa 1 Woche zu rechnen.

4.3 Schlussfolgerungen zur Bildanalyse für die Auswertung von SPLITT-Fractionen

Das für die Beurteilung der Trennung von Diatomeenschalen aus Sedimentmaterial entwickelte und zur Anwendung gekommene bildanalytische Verfahren, welches speziell auf das vorliegende Problem angepasst wurde, kann wie folgt beurteilt werden:

- Die Bildanalyse ermöglicht eine gute Abschätzung der Trennvorgänge während der SPLITT-Fraktionierung.
- Die Qualitätskontrolle einer SPLITT-Fraktionierung, im Sinne einer Bestimmung des Anteils mineralischer Partikel bei der Extraktion von Diatomeenschalen, ist sicher gegeben. Lediglich bei Kontaminationen durch Tensidrückstände oder bei in den Ausgangsflüssigkeiten vorhandenen Verunreinigungen kann es zu Problemen kommen. Eventuell kann in Extremfällen auf andere Aufnahmetechniken zurückgegriffen werden (z.B. Rasterelektronenmikroskopie (REM)), was andererseits Einfluss auf den Zeitbedarf und die Kosten hat.
- Eine Massenbilanz für eine SPLITT-Fraktionierung kann mittels Bildanalyse nicht ohne weiteres aufgestellt werden. Es werden mit der verwendeten Vergrößerung und Aufnahmetechnik nur Partikel $> 2 \mu\text{m}$ erfasst; damit bleiben die Tonminerale außen vor. Die Verwendung einer höheren Vergrößerung hat wiederum Auswirkung auf die obere Messgrenze. Aus den gemessenen Längen der zu untersuchenden Objekte lassen sich nicht einfach Volumina berechnen.
- Die Bildanalyse bietet ein großes Potential bei der Analyse verschiedener Komponenten eines Sedimentes und wird hier sicherlich in Zukunft an Bedeutung gewinnen.

4.4 Diatomeenextraktion

4.4.1 Vorbehandlung des Sediments

Verschiedene Autoren (*Juillet-Leclerc*, 1984; *Leclerc & Labeyrie*, 1987; *Shemesh et al.*, 1995) schlagen zur Suspendierung / Disaggregation von (marinen) Sedimentproben, bei gleichzeitigem Entfernen der Organik, starke oxidierende Säuren vor (HClO_4 , HNO_3) oder reduzierende Lösungen von Hydroxylamin + Essigsäure. Diese Methodik birgt jedoch eine Reihe von Risiken.

Zum einen sind die genannten Reagenzien problematisch zu handhaben, zum anderen ergeben sich bezüglich der Anwendbarkeit Fragen. Werden Diatomeenschalen all ihrer organischen Anteile beraubt, zerfallen sie in ihre Komponenten (*Round et al.*, 1990). Die Komponenten sind anfälliger für weitere Zerstörung ihrer Struktur und bieten eine größere Oberfläche für einen Isotopenaustausch mit dem umgebenden Medium. *Juillet-Leclerc* (1984) beschrieb, dass durch eine Behandlung mit $\text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$ die obersten Silikatlagen der Schalen gelöst würden. Der Vorteil ist hier zwar, dass damit wohl auch ein großer Teil anhaftender (Ton-) Minerale entfernt wird, aber gleichzeitig wird schon Einfluss auf die isotopische Zusammensetzung genommen. Wieviel Tonminerale z.B. in den Poren der Valven verbleiben, lässt sich kaum abschätzen. Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, dass es um so schwieriger ist eine vollständige Extraktion der Schalen zu bewerkstelligen, je mehr Schalenkomponenten und deren Bruchstücke vorliegen. Um Diatomeenschalen möglichst komplett zu erhalten wurde in der vorliegenden Arbeit vergleichsweise schonend, mit H_2O_2 (30%ig) vorbehandelt. Trotzdem wurde beobachtet, dass die Schalen nicht nur in Epi- und Hypovalva zerfielen, sondern sich z.T. auch Gürtelbänder und Valven trennten. Bei der Wahl der Vorbehandlung des Sediments wurde Augenmerk darauf gerichtet, dass die Probe gut suspendiert wurde, ohne Schalenmaterial zu zerstören.

Eine Kombination von schwachem Ultraschall und H_2O_2 erwies sich für wenig verfestigtes Material am geeignetsten.

Die Dauer der Vorbehandlung muss dem Verfestigungsgrad des Sediments angepasst werden. Inwieweit H_2O_2 die Isotopie des Schalenmaterials verändert ist zur Zeit offen.

4.4.2 Anpassung der SPLITT-Fraktionierung an die vorgegebene Trennaufgabe

Um eine geeignete Methodik für die SPLITT-Fraktionierung zu entwickeln, die speziell auf die Fragestellung der Diatomeenextraktion zugeschnitten ist, wurden verschiedene Möglichkeiten der Einflussnahme auf das Trennergebnis untersucht. Die Bedingungen für die Einstellung der Fließraten an Ein- und Ausgängen welche in der Literatur beschrieben werden (Giddings, 1992; Gupta *et al.*, 1997; Jiang *et al.*, 1997; Springston *et al.*, 1987), erwiesen sich als nahezu optimal für die vorliegenden Anwendungen.

Die durchgeführten Untersuchungen zur Verifizierung einer optimalen Trennung von Diatomeenschalen aus Matrices verschiedener Herkunft zeigten, dass ein gutes Trennergebnis (Abb. 38 - Abb. 46) unter folgenden Bedingungen erzielt wird:

- Die Eingangsfließrate der Trägerflüssigkeit $V(b')$ sollte deutlich größer sein als diejenige der Diatomeensuspension $V(a')$ (> 4 fach). Der Unterschied darf nicht zu groß gewählt werden, da sonst Turbulenzen induziert werden.
- Die Ausgangsfließrate $V(a)$ sollte größer sein als $V(b)$. Vielfach hat sich folgende Einstellung zur Trennung bewährt: $V(b')=V(a)$, $V(a')=V(b)$.
- Eine hohe Gesamtfließrate darf nicht zu Turbulenzen im Kanal führen. Bei schräggestellter SPLITT-Zelle kann die Gesamtfließrate niedriger eingestellt werden.
- Die Partikelkonzentration muss gering sein (< 1 Gew.% (Jiang *et al.*, 1997)), da es sonst zu Instabilitäten der Strömung kommen kann, die von der unterschiedlichen Dichte zwischen Suspension und Trägerflüssigkeit herrührt. Eine Vorgabe für die Suspension nur in Gewichtsanteilen macht allerdings wenig Sinn, denn diese Angabe kann verschieden viele Partikel für ein bestimmtes Volumen repräsentieren. Eine generelle Angabe der maximalen Partikelkonzentration ist daher nicht möglich. Die freie mittlere Weglänge der Partikel muss groß genug sein, damit es während der Auftrennung nicht zu Partikel-Partikel Interaktionen kommen kann.
- Es darf nicht zu Ablagerungen im SPLITT-Kanal kommen, da sich damit das Trennergebnis verschlechtert. Die Gesamtfließrate muss entsprechend hoch gewählt werden. Speziell bei geringen Fließraten kann die Ablagerung durch Zusätze von z.B. Tensiden und / oder Ethanol weitgehend verhindert werden.
- Es dürfen keine korrespondierenden Partikelgrößen vorkommen, d.h. Partikel deren Unterschiede hinsichtlich Form (Volumen) und Dichte zu gleichen Sinkgeschwindig-

keiten führen (Kapitel 2.3.1). Für die Extraktion der Diatomeenschalen bedeutet das, dass vorweg geeignete Fraktionen gesiebt werden müssen.

4.4.3 SPLITT-Fraktionierung in mehreren Stufen (Siebfraktion < 20 µm)

Ein Hauptproblem bei der Extraktion von Diatomeenschalen ist das weite Spektrum unterschiedlicher Korngrößen im Mineralanteil eines Sediments. Insbesondere ein hoher Anteil kleiner Korngrößen (Schluff, Ton) erwies sich als ungünstig. Zunächst wurde versucht, ausschließlich mit SPLITT-Fraktionierung Diatomeen anzureichern. Dazu sind in jedem Fall mehrere Fraktionierungsschritte notwendig, in denen nach und nach zuerst große und zuletzt kleine Korngrößen abgetrennt werden. Die Versuchsergebnisse legen nahe, dass eine schrittweise SPLITT-Fraktionierung allein nicht sinnvoll ist.

- In einem natürlichen Sediment kommen mehrere Arten von Diatomeen vor, die sich in Schalenform und Schalengröße unterscheiden. Diatomeenschalen fraktionieren in der SPLITT-Zelle in Abhängigkeit von ihrer Schalenform und -größe. Daraus folgt, dass eine einzige Fraktion von Diatomeenschalen mit schrittweiser SPLITT-Fraktionierung nicht zu erreichen ist. Vielmehr werden Fraktionen erhalten in denen bestimmte Schalenformen (also Taxa) und Schalengrößen jeweils gemeinsam vorkommen, neben einem mineralischen Anteil.
- Bei schrittweiser SPLITT-Fraktionierung ist zu erwarten, dass immer ein mineralischer Anteil neben den Diatomeenschalen vorkommt. Die Größe dieses Anteils ist abhängig von den zu den Diatomeenschalen korrespondierenden Korngrößen und von der Menge an Mineralen mit diesen Korngrößen. Beispielsweise wurde festgestellt, dass runde Schalenformen (z.B. *Cyclotella*) einer Größe von ca. 13 µm zusammen mit Mineralkörnern (Quarz) von ca. 6 µm Größe fraktionieren. Hat das Sediment von vornherein einen hohen Feinschluffanteil, wird der mineralische Anteil in der Diatomeenfraktion hoch sein.
- Um mit einer SPLITT-Fraktionierung kleinste Korngrößen (z.B. Tone) von kleinen Diatomeenschalen zu trennen, sind Pumpraten von unter 1 ml/min für die Suspension nötig. Damit werden die Bearbeitungszeiten allerdings sehr lang.

Wie kann eine aufwendige schrittweise SPLITT-Fraktionierung umgangen werden? Die Lösung dieser Frage ist eine Siebung in mehrere Fraktionen, in denen keine Minerale mit zu Diatomeenschalen korrespondierenden Korngrößen vorkommen. Für Korngrößen $< 20 \mu\text{m}$ müssen Mikrosiebungen bei $10 \mu\text{m}$ und $5 \mu\text{m}$ (evtl. auch $15 \mu\text{m}$) vorgenommen werden. Anschließend kann eine SPLITT-Fraktionierung so durchgeführt werden, dass Mineralkörner und Diatomeenschalen getrennt werden. Normalerweise können die Siebgrößen nicht frei gewählt werden. Dies hat zur Folge, dass u.U. doch noch korrespondierende Korngrößen vorkommen, bzw. kleinste Diatomeenschalen verloren gehen. In diesem Fall ist abzuwägen, wie groß der Verlust an Schalen hinsichtlich der Erhaltung des Sauerstoffisotopensignals in Diatomeen sein darf, um eine mögliche Kontamination der Diatomeenfraktion durch Minerale zu vermeiden, bzw. wie groß die Kontamination sein darf (siehe Kap. 4.4.5).

4.4.4 SPLITT-Fraktionierung großer Korngrößen (Siebfraktion 20-80 μm)

Die Höhe des SPLITT-Kanals setzt die obere Grenze für den Bereich der trennbaren Korngrößen. Der Trennungsdurchmesser d_c sollte 1/10 der Kanalhöhe nicht überschreiten (Jiang *et al.*, 1997). Im Falle der hier verwendeten SPLITT-Zelle sind das $d_c \approx 40 \mu\text{m}$. Für die bearbeiteten Sedimente wurde eine Siebfraktion von 20 - 80 μm gewählt, da hier der mineralische Anteil $> 40 \mu\text{m}$ vergleichsweise gering war. Ein größere Menge von Mineralen mit Korngrößen über 40 μm würde zu Ablagerungen in der SPLITT-Zelle oder zu Verstopfungen der Zu-, bzw. Ableitungen führen. Sollen Korngrößen $> 40 \mu\text{m}$ getrennt werden, muss für die SPLITT-Zelle eine größere Kanalhöhe gewählt werden. Jiang *et al.* (1997) beschreiben eine Zelle für die Fraktionierung von Partikeln aus einer Bodenprobe (d_c bei ca. 200 μm) mit einer Kanalhöhe von 1,65 mm. Allerdings dürften Minerale von Korngrößen $> 40 \mu\text{m}$ mittels Vorsiebung weitgehend abtrennbar sein.

Für eine erfolgreiche Extraktion von Diatomeenschalen aus den Siebfraktionen $> 20 \mu\text{m}$ ist folgendes zu beachten:

- Mit steigendem Partikeldurchmesser wird die Differenz der korrespondierenden Korngrößen immer größer (Kapitel 2.3.1). Damit wird es immer einfacher eine passende Siebfraktion herzustellen.
- Ab etwa 50 μm Korngröße weicht die nach Stokes ermittelte Sinkgeschwindigkeit (für Kugeln) deutlich von der wirklichen Sinkgeschwindigkeit ab, da sich Turbulenzen um das

sinkende Partikel herum entwickeln (nach *Oseen* in *Köster*, 1964). Auf *Stokes* Formel basierende Gleichungen, z.B. zur Berechnung des Trenndurchmessers d_c , können nicht mehr verwendet werden.

- Ein hoher mineralischer Anteil, insbesondere größerer Korngrößen, kann eine mehrstufige SPLITT-Fraktionierung notwendig machen, wenn die Gefahr von Ablagerungen in der SPLITT-Zelle besteht. In diesem Fall müssen zuerst die großen Korngrößen abgetrennt werden. Eine Schrägstellung der SPLITT-Zelle kann hier hilfreich sein.
- Aufgrund der hohen Pumpraten für die Suspension ergeben sich kurze Bearbeitungszeiten (z.B. etwa 15min bei $V(a') = 50$ ml/min, 500 ml Suspension, 5min Nachlaufzeit). Ein hoher Probendurchsatz ist möglich.

4.4.5 Überlegungen zur Kontamination von Diatomeenproben

Eine Fraktion extrahierter Diatomeenschalen kann auf unterschiedliche Weise kontaminiert sein. Es ist möglich, dass noch Tonminerale den Schalen anhaften (z.B. in den Poren (*Mann & Müller*, 1985)). Eine Probe kann ferner durch Staubpartikel oder Partikel aus den verwendeten Flüssigkeiten (z.B. Wasser) verunreinigt sein. Die Verunreinigung kann organischer Art (z.B. Bakterien, Fasern, Tenside) oder mineralischer Art sein. Neben den Bemühungen Kontaminationen zu vermeiden, bzw. zu minimieren, sollte abgeschätzt werden, wie groß der Einfluss einer Verunreinigung auf den Isotopenwert der Probe ist, denn Zeitbedarf und Kosten sind vom Arbeitsaufwand für einen höheren Reinheitsgrad der Probe abhängig. Folgend soll exemplarisch eine Abschätzung vorgestellt werden, in wieweit der δ -Wert stabiler Sauerstoffisotope in einer Diatomeenprobe verändert werden kann.

Sowohl im Silikat der Schalen, als auch im Silikat von Mineralen sind die stabilen Sauerstoffisotope in unterschiedlicher Häufigkeit vorhanden: ^{16}O (häufig), ^{18}O (selten).

Ausgedrückt wird dies durch

$$(37) \quad R_{\text{Diat}} = \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}} \right)_{\text{Diat}} ; \quad R_{\text{Min}} = \left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}} \right)_{\text{Min}} \quad (\text{Diat} = \text{Diatomeen, Min} = \text{Minerale})$$

Repräsentiert wird die isotopische Zusammensetzung durch die relative Abweichung [‰] gegenüber einem Standard

$$(38) \quad \delta^{18}\text{O} = \left(\frac{R_{\text{Probe}}}{R_{\text{Standard}}} - 1 \right) \cdot 10^3$$

Das Sauerstoffisotopen-Verhältnis in einer Probe (R_{Probe}) setzt sich wie folgt zusammen:

$$(39) \quad R_{\text{Probe}} = \frac{{}^{18}\text{O}_{\text{Diat}} + {}^{18}\text{O}_{\text{Min}}}{{}^{16}\text{O}_{\text{Diat}} + {}^{16}\text{O}_{\text{Min}}}$$

Die Gleichung für den δ -Wert für Diatomeenschalen lässt sich umformen

$$(40) \quad {}^{18}\text{O}_{\text{Diat}} = \left(\frac{\delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}}}{10^3} + 1 \right) \cdot R_{\text{Standard}} \cdot {}^{16}\text{O}_{\text{Diat}}$$

Gleiches gilt für den δ -Wert der Minerale. In Gleichung (39) eingesetzt ergibt sich

$$(41) \quad R_{\text{Probe}} = \frac{\left(\frac{\delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}}}{10^3} + 1 \right) \cdot R_{\text{Standard}} \cdot {}^{16}\text{O}_{\text{Diat}} + \left(\frac{\delta^{18}\text{O}_{\text{Min}}}{10^3} + 1 \right) \cdot R_{\text{Standard}} \cdot {}^{16}\text{O}_{\text{Min}}}{{}^{16}\text{O}_{\text{Diat}} + {}^{16}\text{O}_{\text{Min}}}$$

Es lässt sich weiter schreiben

$$(42) \quad {}^{16}\text{O}_{\text{Gesamt}} = {}^{16}\text{O}_{\text{Diat}} + {}^{16}\text{O}_{\text{Min}}$$

Für den δ -Wert der Probe ergibt sich mit (41) und (42), nach weiteren Umformungen

$$(43) \quad \delta^{18}\text{O}_{\text{Probe}} = \frac{{}^{16}\text{O}_{\text{Diat}}}{{}^{16}\text{O}_{\text{Gesamt}}} \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}} + \frac{{}^{16}\text{O}_{\text{Min}}}{{}^{16}\text{O}_{\text{Gesamt}}} \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{Min}}$$

Damit erhalten wir eine Gleichung aus der der Isotopenwert einer Mischprobe errechnet werden kann. Allerdings ergibt sich hier ein Problem, da die Gehalte der ${}^{16}\text{O}$ -Isotope nicht ohne weiteres ermittelt werden können. Mit der Voraussetzung, dass ${}^{16}\text{O} \gg {}^{18}\text{O}$ (also $R \ll 1$) – was dem Normalfall entspricht – lässt sich ${}^{16}\text{O}$ dem Gesamtsauerstoff gleichsetzen: ${}^{16}\text{O} \approx {}^{16}\text{O} + {}^{18}\text{O}$. Schreibt man für den Sauerstoffanteil aus den Diatomeenschalen (entsprechend für den mineralogenen Anteil)

$$(44) \quad r_{\text{Diat}} = \frac{\text{O}_{\text{Diat}}}{\text{O}_{\text{Gesamt}}} \approx \frac{{}^{16}\text{O}_{\text{Diat}}}{{}^{16}\text{O}_{\text{Gesamt}}}$$

ergibt sich für Gleichung (43)

$$(45) \quad \delta^{18}\text{O}_{\text{Probe}} = r_{\text{Diat}} \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}} + r_{\text{Min}} \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{Min}} \quad \text{mit } r_{\text{Diat}} + r_{\text{Min}} = 1; 0 \leq r_{\text{Diat}}, r_{\text{Min}} \leq 1$$

Wird angenommen, dass die Minerale den gleichen Anteil an Sauerstoff in ihrer Verbindung aufweisen wie Diatomeenschalen, also z.B. nur Quarzkörner vorhanden sind (SiO_2), können r_{Diat} und r_{Min} durch die entsprechenden Massenverhältnisse ersetzt werden.

$$(46) \quad \delta^{18}\text{O}_{\text{Probe}} = \frac{M_{\text{Diat}}}{M_{\text{Gesamt}}} \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}} + \frac{M_{\text{Min}}}{M_{\text{Gesamt}}} \cdot \delta^{18}\text{O}_{\text{Min}}$$

Nach Umformung ergibt sich für die Abweichung des Isotopenwerts eine Abhängigkeit vom Anteil der Minerale an der Gesamtmasse und der Differenz der Isotopenwerte von Mineral und Diatomeenschale

$$(47) \quad \Delta = \delta^{18}\text{O}_{\text{Probe}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}} = \frac{M_{\text{Min}}}{M_{\text{Gesamt}}} (\delta^{18}\text{O}_{\text{Min}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}})$$

Anhand dieser Gleichung lässt sich eine Abschätzung vornehmen, wie groß der Einfluss einer Verunreinigung auf den Isotopenwert einer Diatomeenprobe ist. Leider lässt sich der Gehalt an Sauerstoff in Diatomeenschalen nicht genau vorhersagen, da der Wassergehalt der polymerisierten Kieselsäure $[\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ unbekannt ist. Es ist allerdings Aufgabe des Aufschlussverfahrens, das Wasser vor der eigentlichen Isotopenmessung zu entfernen. Für eine einfache Abschätzung wird angenommen, dass die Schalen nur aus SiO_2 bestehen, mit einem $\delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}} = 30\text{‰}$. Den Zusammenhang zwischen der Veränderung des ursprünglichen δ -Wertes der Schalen bezüglich unterschiedlicher Sauerstoff-Anteile aus Mineralen verschiedener Isotopensignatur (δ -Werte) zeigt Abb. 31. Ist beispielsweise der Isotopenwert der Minerale doppelt so groß wie der der Diatomeen (hier $\delta^{18}\text{O}_{\text{Min}} = 60\text{‰}$) und soll die Abweichung nicht mehr als $0,5\text{‰}$ betragen, so ergibt sich ein maximaler zulässiger Anteil an Mineralmasse von $1,7\%$. Bei $250\text{ }\mu\text{g}$ Probeneinwaage dürfte dann nicht mehr als $4,2\text{ }\mu\text{g}$ Mineral vorhanden sein, was einem Quarzkorn ($\rho = 2,6\text{ g/cm}^3$) von etwa $146\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser (Kugel) entsprechen würde.

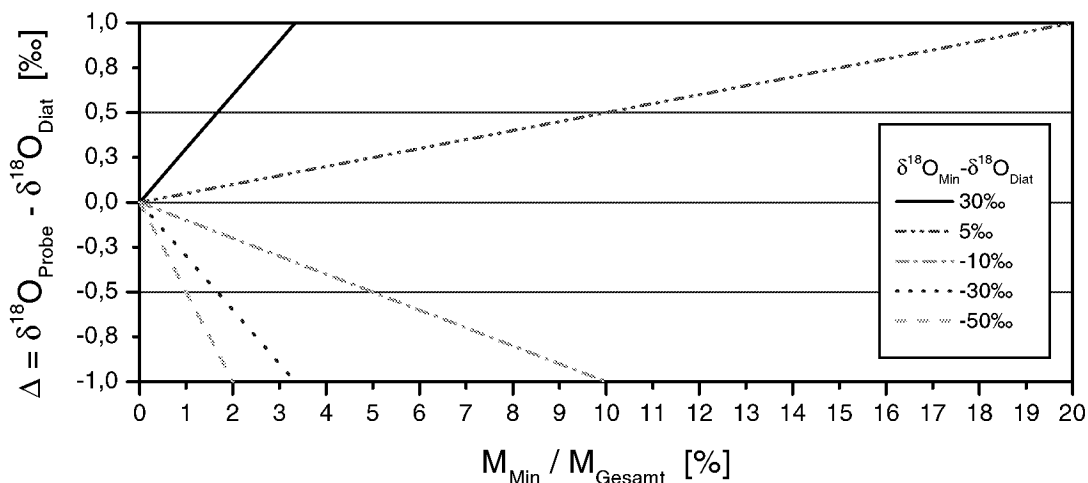


Abb. 31

Änderung des $\delta^{18}\text{O}$ -Wert einer Mischprobe gegenüber einer reinen Diatomeenprobe in [‰], bei Variation der Differenz zwischen den δ -Werten von Diatomee und Mineral.

Beispiel: $\delta^{18}\text{O}_{\text{Diat}} = 30\text{‰}$ und $\delta^{18}\text{O}_{\text{Min}} = 60\text{‰}$; Differenz = 30‰

Unter diesen Vorgaben verschiebt sich der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert bei 1% Mineralanteil um $\Delta = 0,3\text{‰}$.

4.5 Arbeitsaufwand bei der SPLITT-Fraktionierung zur Trennung von Diatomeen

In diesem Abschnitt soll ein Überblick über den Arbeitsaufwand, respektive die Kosten, für eine SPLITT-Fraktionierung gegeben werden. Die Zeitangaben wurden aus Erfahrungswerten geschätzt.

a) Aufschluss des Sediments (für 1 Probe)

Arbeitsmittel:	600 ml Enghals-Becherglas, H ₂ O ₂ (30%ig): ca. 20 ml/g Probe, HCl konz., Ultraschallgerät (regelbar), Heizplatte		
Zeitbedarf:	bei unverfestigtem Sediment	unabhängig von Probenzahl	mind. 1½ Std.
	Absetzen lassen		1 Tag

b) Siebung (für 1 Probe)

Arbeitsmittel:	Siebsatz (z.B. 80 µm, 20 µm, 10 µm 5 µm); 1000 ml Weithals-Bechergläser (mind. 5 Stück); Pasteurpipette, Probenbehälter (Microvials) für die Siebfractionen		
Zeitbedarf:	für 1 g Trockeneinwaage (Rohsediment) mit hohem Feinanteil	Zeitbedarf ist abhängig von der Korngrößenverteilung	
	80 µm-Siebung		ca. 5 min
	20 µm-Siebung		ca. 15 min
	10 µm-Siebung		ca. 30 min
	5 µm-Siebung		ca. 2 Std.

c) SPLITT-Fraktionierung (1 Probe)

Arbeitsmittel:	SPLITT-Zelle, Schlauchpumpe + Schläuche untersch. Durchmessers, Zahnradschraube, Tensid, Ethanol, Bechergläser, Zentrifuge		
Zeitbedarf:	Der Zeitbedarf ist abhängig von der Korngrößenverteilung		
	Siebfraction 20 - 80 µm	400 ml Suspension	ca. 15 min
	Siebfraction 10 - 20 µm	400 ml Suspension 2 Frakt.schritte	ca. 3½ Std.
	Siebfraction 5 - 10 µm	400 ml Suspension	ca. 8 Std.

Der Zeitbedarf für 30 Proben mit hohem Feinkornanteil und etwa 1 g Trockeneinwaage des Rohsediments beläuft sich demnach auf etwa 4 Tage für die Siebfraction 20 – 80 µm, etwa 1 Monat für die Siebfractionen 20 – 80 µm und 10 – 20 µm, und auf mehr als 2 Monate inklusive der 5 – 10 µm Siebfraction.

4.6 Anwendbarkeit der SPLITT-Fraktionierung für die Diatomeenextraktion

In dieser Arbeit wurden verschiedene Möglichkeiten zur Extraktion von Diatomeenschalen im Hinblick auf deren Brauchbarkeit für isopenanalytische Untersuchungen diskutiert. Es konnte experimentell nachgewiesen werden, dass die Technik der SPLITT-Fraktionierung zur Anreicherung von Diatomeenschalen für isopenanalytische Studien an Sauerstoff aus Schalen-SiO₂ hervorragend geeignet ist. Die SPLITT-Methodik bietet gegenüber anderen z.Z. genutzten Verfahren entscheidende Vorteile:

- Die SPLITT-Fraktionierung arbeitet im Durchfluss und ist damit kaum abhängig vom Probenvolumen.
- Das Kriterium für die Auftrennung eines Partikelgemischs, die Sinkgeschwindigkeit der Partikel, kann in weiten Grenzen gesteuert werden.
- Die Technik ist relativ einfach
- Die Proben werden nicht oder nur gering kontaminiert, abhängig von Zusätzen zur Suspension, bzw. von Unreinheiten in den verwendeten Flüssigkeiten.
- Der Zeitbedarf für die Extraktion bei großen Korngrößen (> 20 µm) bleibt gering, da die Sinkgeschwindigkeiten hoch sind.
- Sofern sich Diatomeenarten in Schalengröße und -form genügend unterscheiden, kann artspezifisch getrennt werden.

Als Nachteile haben sich herausgestellt:

- Es kann keine Gesamtprobe verarbeitet werden, da der Trennbereich von der Geometrie der SPLITT-Zelle abhängig ist. Das Korngrößenspektrum eines Sediments ist normalerweise größer als der Trennbereich. Es muss vorfraktioniert werden (z.B. Siebung).
- Bei sehr kleinen Korngrößen ist der Zeitbedarf hoch, da bei geringen Sinkgeschwindigkeiten der Partikel geringe Pumpraten einzustellen sind.
- Partikel mit ähnlichen Sinkgeschwindigkeiten können im Normalbetrieb nicht getrennt werden. Hier muss mit Vorschaltung zusätzlicher Siebungen gearbeitet werden, was den Arbeitsaufwand erhöht. Dennoch bleibt das Verfahren brauchbar.

Die Nachteile stehen jedoch in keinem Verhältnis zu der mit diesem Verfahren gewonnenen Qualität an Separierung von Diatomeenschalen. Im allgemeinen stellt sich heraus, dass bei entsprechender Konditionierung in allen Fällen eine Trennung minerogener Anteile möglich ist.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Verfahren vorgestellt und die zugehörige Technik aufgebaut und getestet mit der, im Hinblick auf die Verwendung für isotopengeochemische Untersuchungen, Diatomeenschalen aus limnischen Sedimenten extrahiert werden können. Das Verfahren basiert auf der Trennung von Partikeln über ihre unterschiedlichen Sinkgeschwindigkeiten in einem kontinuierlich fließenden, laminaren Trägerstrom, innerhalb eines extrem flachen Kanals (SPLITT-Fraktionierung).

Um zu einer quantitativ befriedigenden Charakterisierung der jeweiligen Trennergebnisse zu kommen, wurde ein Bildanalyse-Verfahren entwickelt, mit dem die Sedimentsuspensionen aus der SPLITT-Fraktionierung gleichzeitig auf ihre Korngrößenverteilung und den Diatomeenschallengehalt hin analysiert werden können.

Verfahrensbedingt mussten die Extraktionen in Suspension durchgeführt werden. Dies erforderte die Entwicklung einer Methode, welche eine vollständige Suspendierung des Probenmaterials ermöglicht. Diese Aufschlussmethode wurde an verschiedenen Sedimentproben getestet. Es zeigte sich, dass Dauer und Intensität der Behandlung dem Probenmaterial jeweils angepasst werden muss. Die Proben wurden durch Siebung vorfraktioniert.

Für die Trennversuche wurde die maximal zu trennende Partikelgröße bei 80 μm angesetzt. Diese Grenze wurde aus zwei Gründen festgelegt: Einerseits stellt sie annähernd die obere Begrenzung für Trennungen aufgrund der vorhandenen SPLITT-Zellengeometrie dar, zum anderen zeigte sich, dass der weitaus überwiegende Anteil der Diatomeen in den Größenbereich $\leq 80 \mu\text{m}$ fällt.

Für Siebfraktionen von 20 – 80 μm erwies sich die SPLITT-Fraktionierung als schnelle Methode, um Diatomeenschalen vollständig von minerogenen Komponenten zu trennen. Die Aufarbeitung von extrahierten Diatomeenschalen zur Messung der $\delta^{18}\text{O}$ -Werte des Schalenmaterials ist hier völlig unproblematisch.

Bei Siebfraktionen $< 20 \mu\text{m}$ wurde mittels SPLITT-Fraktionierung mit 4 Stufen in 5 Korngrößenfraktionen aufgetrennt, um eine Anreicherung an Diatomeenschalen zu erreichen. Die Diatomeenschalen kamen entsprechend ihrer Größe und Form in Fraktionen vor, in denen sich Mineralkörner gleicher Sinkgeschwindigkeit ablagerten (Minerale mit

korrespondierendem Durchmesser). Durch eine weitere Vorfraktionierung mittels Mikrosiebung bei 10 µm wurde eine Siebfraction erhalten, in der keine korrespondierenden Mineralkorngrößen mehr vorkamen, so dass auch hier eine Extraktion der Diatomeenschalen erreicht werden konnte.

Die SPLITT-Fraktionierung von Sedimentproben verschiedenster Herkunft und damit unterschiedlichster Zusammensetzung der Sediment- zu Diatomeenfraktion ergab ähnliche Ergebnisse. Es folgte jedoch, dass die SPLITT-Fraktionierung im Detail an das Probenmaterial angepasst werden muss. Als Untersuchungsmaterial diente Sediment aus einer Kastengreiferprobe des Holzmaars, Proben aus einer Sedimentfalle in 7 m Wassertiefe im Holzmaar, kompaktiertes Sediment aus einem Kern (Kerntiefe 2916 cm) aus dem Huguang Maar (Südchina) und rezentes Oberflächensediment aus einem alpinem See (Bachsee, Schweiz, Grindelwald).

Es konnte gezeigt werden, dass abhängig von der Größe, Form und dem Grad der Silifizierung der Diatomeenschalen mittels SPLITT-Fraktionierung artspezifisch getrennt werden kann.

In sehr diatomeenarmen Sedimenten können mittels SPLITT-Fraktionierung Diatomeenschalen angereichert werden, was für eine Untersuchung der Artenzusammensetzung von Interesse ist.

Es können geringe Probenmengen verarbeitet werden, wie es bei der Untersuchung von varvierten Sedimenten notwendig ist.

Das Trennverfahren über die hier vorgestellte SPLITT-Zelle wird seit einiger Zeit erfolgreich für die in der Jülicher Arbeitsgruppe anstehenden Trennaufgaben angewandt. Bei den im 14tägigen Rhythmus gezogenen Sedimentfallenproben werden die Diatomeen mittlerweile routinemäßig über die SPLITT-Zellenmethode für Sauerstoffisotopenmessungen angereichert und isoliert.

LITERATURVERZEICHNIS

1. **Andres, U.** (1975): Magnetohydrodynamic and Magnetohydrostatic Separation – a new Prospect for Mineral Separation in the Magnetic Field. *Minerals Science and Engineering*, vol. 7, no. 2.
2. **Andres, U.; O'Reilly, W.** (1994): Selectivity in the magnetic separation of minerals. *Powder Technology*
3. **Batel, W.** (1962): Korngrößen-Meßtechnik. *Arch. f. Tech. Messen*, V 982-4, 111-114.
4. **Bergamaschi, B. A.; Tsamakis, E.; Kiel, R. G.; Eglinton, T. I.; Montlucon, D. B.; Hedges, J. I.** (1997): The effect of grain size and surface area on organic matter, lignin and carbohydrate concentration, and molecular compositions in Peru margin sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 61; 6: 1247-1260.
5. **Bhatty, J. I.** (1986): Clusters Formation during Sedimentation of Dilute Suspensions. *Separation Science and Technology*. 21; 9: 953 - 967.
6. **Biscan, J.; Dragcevic, D.** (1993): Electrokinetics of model mineral suspensions. *Marine Chemistry*. 43; 1-4: 127-135.
7. **Blake, J. R.; Colombero, P. M.; Knight, J. H.** (1979): A One-Dimensional Model of Sedimentation Using Darcy's Law. *Separation Science and Technology*, 14(4), pp. 291-304
8. **Blank, G. S.; Robinson, D. H. & Sullivan, C. W.** (1986): Diatom mineralization of silica acid. VIII. Metabolic requirements and the timing of protein syntheses. *Journal of Phycology*, 22: 382 – 289.
9. **Bold, H. C.; Wynne, M. J.** (1978): Bacillariophyceae. In: *Introduction to the Algae. Structure and reproduction*.
10. **Canter-Lund, H.; Lund, J. W. G.** (1995): Freshwater Algae – their microscopic world explored.
11. **Chanin, M. L.** (1996): New Issues on climate change formings. *European Review* 4 (2): 143 – 164.
12. **Chapman, D. J.** (1913): A contribution to the the theory of electrocapillarity. *Phil. Mag.* 15: 457 - 481.
13. **Chapman, V. J.; Chapman, D. J.** (1973): Bacillariophyta. In: *The Algae*
14. **Contado, C.; Dondi, F.; Beckett, R.; Giddings, J. C.** (1997): Separation of particulate environmental samples by SPLITT fractionation using different operating modes. *Analytica Chimica Acta*. 345: 99 - 110.
15. **Dodge, J. D.** (1973): *The Fine Structure of Algal Cells*.
16. **Donovan, S. K.** (1991): *The Process of Fossilization*.
17. **Duda, P. E. & Hart, R. O.** (1973): *Pattern Classification and Scene Analysis*. John Wiley & Sons, New York.
18. **Eddy, J. A.; Oeschger, H.** (1993): Global changes in the perspective of the past. – Dahlem Workshop Reports, Environmental Sciences Research, Rep. 12. Wiley & Sons Chichester. 383.
19. **Ellwood, M. J.; Hunter, K. A.** (1999): Determination of the Zn/Si ratio in diatom opal: a method for the separation, cleaning and dissolution of diatoms. *Marine Chemistry*. Vol. 66. Issues 3-4. Pages 149-160.
20. **Fischer, T.; Dorn, H.-J.** (1982): *Physikalische Formeln und Daten*. Ernst Klett: Stuttgart.
21. **Frimmel, F. H.; Fritsch, W. O.; Scheck, C. K.** : Photochemische Oxidation von Fluoranthen durch UV- Bestrahlung / Wasserstoffperoxid. 101 –110.
22. **Fuh, C. B.; Chen, S. Y.** (1998): Magnetic split-flow thin fraciation: new technique for separation of magnetically susceptible particles. *Journal of Chromatography A*. 813: 313-324.
23. **Fuh, C. B.; Trujillo, E. M.; Giddings, J. C.** (1995): Hydrodynamic Characterization of SPLITT Fractionation Cells. *Separation Science and Technology*. 30; 20: 3861 - 3876.

24. **Fuh, C. B.; Myers, Marcus N.; Giddings, J. C.** (1992): Analytical SPLITT Fractionation: Rapid Particle Size Analysis and Measurement of Oversized Particles. *Analytical Chemistry*. 64; 24: 3125-3132.
25. **Giddings, J. C.** (1985): A System Based on Split-Flow Lateral-Transport Thin (SPLITT) Separation Cells for Rapid and Continuous Particle Fractionation. *Separation Science and Technology*. 20; 9 & 10: 749 - 768.
26. **Giddings, J. C.** (1988): Continuous Separation in Split-Flow Thin (SPLITT) Cell: Potential Application to Biological Materials. *Separation Science and Technology*. 23; 8 & 9: 931 - 943.
27. **Giddings, J. C.** (1988): Continuous Separation in Split-Flow Thin (SPLITT) Cells Using Hydrodynamic Lift Forces. *Separation Science and Technology*. 23; 1 - 3: 119 - 131.
28. **Giddings, J. C.** (1992): Optimization of Transport-Driven Continuous SPLITT Fractionation. *Separation Science and Technology*. 27; 11: 1489-1504.
29. **Giddings, J. C.** (1993): Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecular, Colloidal, and Particulate Materials. *Science*. 260: 1456 - 1465.
30. **Giddings, J. C.; Caldwell, K. D.** (1989): Field-Flow Fractionation. In: Rossiter, Bryant W; Hamilton, John F (1989): *Physical Methods of Chemistry*. Volume III B. Determination of Chemical Composition and Molecular Structure – Part B
31. **Giglio, K. D.; Green, D. B.; Hutchinson, B.** (1995): Photocatalytic Deconstruction of an Organic Dye Using TiO₂ and Solar Energy. *Journal of Chemical Education*, 72 (4): 352 – 354.
32. **Grover, N. B.; Naaman, J.; Ben-Sasson, S.; Doljanski, F.** (1969): Electrical Sizing of Particles in Suspensions. I Theory. *Biophysical Journal* 9: 1398 – 1425.
33. **Grover, N. B.; Naaman, J.; Ben-Sasson, S.; Doljanski, F.** (1972): Electrical Sizing of Particles in Suspensions. III Rigid Spheroids and Blood Cells. *Biophysical Journal* 12: 1099 - 1117.
34. **Gupta, S.; Ligrani, Phillip M.; Giddings, J. C.** (1997): Investigations of Performance Characteristics Including Limitations Due to Flow Instabilities in Continuous SPLITT Fractionation. *Separation Science and Technology*. 32; 10: 1629-1655.
35. **Gouy, G.** (1910): Constitution of the electric charge at the surface of an electrolyte. *Journal de Physique* 9: 457 – 467.
36. **Gouy, G.** (1917): Electrocapillarity function. *Ann. Physique* 7: 129 – 184.
37. **Hasle, G. R.; Fryxell, G. A.** (1970): Diatoms: Cleaning and mounting for light and electron microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society*. 89; 4: 469-474.
38. **Hecky, R. E.; Mopper, K.; Kilham, P. & Degens, E. T.** (1973): The amino acid and sugar composition of diatom cell-walls. *Marine Biology* 19: 323 – 331.
39. **Hegewald, E.** (1972): Untersuchungen zum Zetapotential von Planktonalgen. *Arch. Hydrobiol. / Suppl.* 42 (Falkau-Arbeiten 8). 1. Seiten 14-90.
40. **Henry, D. C.** (1931): The cataphoresis of suspended particles. Part I: The equation of cataphoresis. *Proc. Roy. Soc. (London)* A 133.
41. **Hickel, B.; Hickel, W** (1980): Diatomeen. *Leben im Kieselpanzer. bild der wissenschaft. Sonderdruck*. 10.
42. **Hinchey, J. V.; Green, O. R.** (1994): A guide to the extraction of fossil diatoms from lithified or partially consolidated sediments. *Micropaleontology*. 40; 4: 368-372.
43. **Hoefs, J.** (1997): *Stable Isotope Geochemistry*. - 4th Completely Revised, Updated and Enlarged Edition; Springer Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong.
44. **Holleman, A. F.; Wiberg, E.; Wiberg, N.** (1995): *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*. 101. Auflage.

45. **Jackson, G. A.; Maffione, R. E.; Costello, D. K.; Alldredge, A. L.; Logan, B. E.; Dam, H. G.** (1997): Particle size spectra between 1 μ m and 1 cm at Monterey Bay determined using multiple instruments. Deep-Sea Research. Part I: Oceanographic Research Papers. 44; 11: 1739-1767.
46. **Jacobasch, H. J.; Simon, F.; Werner, C.; Bellmann, C.** (1996): Elektrokinetische Meßmethoden: Grundlagen und Anwendungen. Sonderdruck. tm – Technisches Messen. 63; 12: 439 - 446.
47. **Janca, J** (1993): Field-Flow Fractionation: Analytical and Micropreparative Methodology. Mikrochimica Acta. 111: 135 - 162.
48. **Janca, J.; Audebert, R.** (1993): New Concept in Focusing Field-Flow Fractionation and Thin Layer Isopycnic Focusing: Coupling of Primary Electric Field with Secondary Gravitational Force. Mikrochimica Acta. 111: 163 - 175.
49. **Janér, J. H.; Jungner, H.** (1982): A simple method for separation of quartz in TL dating. Pact Journal 6, 214-215
50. **Jaraiz, M. E.; Levenspiel, O.; Fitzgerald, T. J.** (1983): The Uses of Magnetic Fields in the Processing of Solids. Chemical Engineering Science. 38; 1: 107-114.
51. **Jasmund, K.; Lagaly, G.** (1993): Tonminerale und Tone: Struktur, Eigenschaften, Anwendungen und Einsatz in Industrie und Umwelt.
52. **Jiang, Y.; Kummerow, A.; Hansen, M.** (1997): Preparative Particle Separation by Continuous Splitt Fractionation. Journal of Microcolumn Separation. 9; 4: 261 - 273.
53. **Jiang, Y.; Miller, M. E.; Hansen, M. E.; Myers, M. N.; Williams, P. S.** (1999): Fractionation and size analysis of magnetic particles using FFF and SPLITT technologies. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. Volume 194. Issue 1-3. Pages 53-61.
54. **Jones, J. M.** (1961): Method for establishing a liquid column of graded density. Journal of Scientific Instruments. 38: 367-368.
55. **Juillet, A.** (1980): Structure de la silice biogénique: nouvelles données apportées par l'analyse isotopique de l'oxygène. C. R. Acad. Sc. Paris. 290. Série D - 1237: 99-100.
56. **Juillet-Leclerc, A.** (1984): Cleaning Process for Diatomaceous Samples. 8th International Diatom-Symposium 1984. Vol. 8. Pages 733-736.
57. **Juillet-Leclerc, A.; Labeyrie, L.** (1987): Temperature dependence of the oxygen isotopic fractionation between diatom silica and water. Earth and Planetary Sciences Letters. 84: 69-74.
58. **Kawaguchi, H.; Inagaki, A.** (1994): Kinetics of Ferric Ion promoted Photodecomposition of 2-Chlorophenol. Chemosphere 28 (1): 57 – 62.
59. **Keil, R. G.; Tsamakis, E.; Fuh, C. B.; Giddings, J. C.; Hedges, J. I.** (1994): Mineralogical and textural controls on the organic composition of coastal marine sediments; hydrodynamic separation using SPLITT-fractionation. Geochimica et Cosmochimica Acta. 58; 2: 879-893.
60. **Kirk-Othmer** (1994): Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons.
61. **Klaus, D.; Poth, A.; Voß, M.; Morton, C.; Stein, G.; Niemeyer, I.** (1999): Satellitenbilddauswertung mit künstlichen neuronalen Netzen zur Umweltüberwachung: vergleichende Bewertung konventioneller und neuronaler Netzwerkalgorithmien und Entwicklung eines integrierten Verfahrens. – Schriften des Forschungszentrums Jülich; Reihe Umwelt / Environment; Band 15; Hrsg: Forschungszentrum-Jülich GmbH.

62. **Köster, E.** (1964): Granulometrische und morphometrische Meßmethoden an Mineralkörnern, Steinen und sonstigen Stoffen. Enke Verlag Stuttgart. 67 – 72.
63. **Labeyrie, L. D.** (1974): New approach to surface seawater palaeotemperatures using ^{18}O / ^{16}O ratios in silica of diatom frustules. *Nature* 248: 40 – 42.
64. **Labeyrie, L. D.; Juillet, A.** (1982): Oxygen isotopic exchangeability of diatom valve silica; interpretation and consequences for paleoclimatic studies. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 46: 967-975.
65. **Lammers, W. T.** (1964): Density gradient separation of plankton and clay from river water: Theory and applications. *Verhandlungen / Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*. 15; Pages 1021 - 1028.
66. **Lee, R. E.** (1980): Bacillariophyceae. In: *Phycology*.
67. **Levin, S.; Myers, M. N.; Giddings, J. C.** (1989): Continuous Separation of Protein in Electrical Split-Flow Thin (SPLITT) Cell with Equilibrium Operation. *Separation Science and Technology*. 24; 14: 1245 - 1259.
68. **Lund, J. W. G.; Kipling, C.; Le Cren, E. D.** (1958): The Inverted Microscope Method of Estimating Algal Numbers and the Statistical Basis of Estimations by Counting. *Hydrobiologia*. 11; Pages 143-170.
69. **Mann, U.; Müller, G.** (1987): Early diagenesis of biogenic siliceous constituents in silty clays and claystones, Japan Trench. *Neues Jahrbuch Mineralogischer Abhandlungen*. 153; 1: 33-57.
70. **Negendank, J. F. W.; Brauer, A.; Zolitschka, B.** (1990): Die Eifelmaare als erdgeschichtliche Fallen und Quellen zur Rekonstruktion des Paläoenvironments. *Mainzer geowissenschaftliche Mitteilungen*. 19: 235-262.
71. **Newman, A. C. D.** (1987): Mineralogical Society Monograph NO. 6: Chemistry of Clays and Clay Minerals.
72. **Nitzsche, R.; Simon, F.** (1997): Bestimmung des Zetapotentials aus Messungen der elektrophoretischen Mobilität. *Sonderdruck. tm – Technisches Messen*. 64; 3: 106 - 113.
73. **Overpeck, J. T.** (1995): Paleoclimatology and climate System dynamics. *Reviews in Geophysics, Suppl.*: 863 – 871.
74. **Paasche, E.** (1980): Silicon. In: *The Physiological Ecology of Phytoplankton, Studies in Ecology 7*, (Ed. I. Morris): 259 – 284. Oxford: Blackwells.
75. **Pickett-Heaps, J. D.; Tippit, D. H. & Andreozzi, J. A.** (1979): Cell division in the pennate diatom *Pinnularia*. IV. Valve morphogenesis. *Biol. Cellulaire*, 35: 199 – 203.
76. **Ranville, J. F.; Macalady, D. L.; Bishop-LaDonna, M., Bunge, A. L.** (1995): SPLITT Fractionation and Flow Field-Flow Fractionation Methods for the Size Separation and Analysis of Soil Particles. *American Chemical Society / Division of Environmental Chemistry. National Meeting*. 35; 1: 675-677.
77. **Round, F. E.** (1975): *Die Biologie der Algen* (Originaltitel: *The biology of the Algae*).
78. **Round, F. E.** (1984): *The ecology of algae*.
79. **Round, F. E.; Crawford, R. M.** (1989): Phylum Bacillariophyta. In: Margulis, Lynn; Corliss, John O; Melkonian, Michael; Chapman, David J (1989): *Handbook of Protoctista. The structure, cultivation, habitats and life histories of the eukaryotic microorganisms and their descendants exclusive of animals, plant and fungi. A guide to the algae, ciliates, foraminifera, sporozoa, water molds, slime molds and the other protoctists*.
80. **Round, F. E.; Crawford, R. W.; Mann, D. G.** (1990): *The Diatoms. Biology & morphology of the genera*.
81. **Russ, J. C.** (1999): *The Image Processing Handbook*. CRC Press and Springer.

82. **Scharf, B. W.** (1980): Zur Morphometrie und Hydrodynamik der Eifelmaare. Mitteilungen der Pollichia. 68; Pages 101 - 110.
83. **Scharf, B. W.; Stabel, H. H.** (1980): Physikalische und Chemische Eigenschaften des Wassers der Eifelmaare. Mitteilungen der Pollichia. 68; Pages 101 - 110.
84. **Scharf, B.W.** (1987): Limnologische Beschreibung, Nutzung und Unterhaltung von Eifelmaaren. – Ministerium für Umwelt und Gesundheit Rheinland Pfalz, Mainz, 117 S.
85. **Schleser, G. H.** (1999): Verfahren und Vorrichtung zur Freisetzung von Sauerstoffisotopen aus sauerstoffhaltigen Feststoffen. Deutsche Patentanmeldung 19906 732.5 – 43.
86. **Schrader, H. J.** (1973): Proposal for a Standardized Method of Cleaning Diatom-bearing Deep-sea and Land-exposed Marine Sediment. Nova Hedwigia / Beihefte. Lehre. 45: 400-409.
87. **Shemesh, A.; Charles, C. D.; Fairbanks, R. G.** (1992): Oxygen Isotopes in biogenic Silica: Global Changes in Ocean Temperature and Isotopic Composition. Science. 256: 1434-1436.
88. **Shemesh, A.; Mortlock, R. A.; Smith, R. J.; Froehlich, P. N.** (1988): Determination of Ge / Si in Marine Siliceous Microfossils: Separation, Cleaning and Dissolution of Diatoms and Radiolaria. Marine Chemistry. 25: 305-323.
89. **Skipp, G. L.; Brownfield** (1993): Improved density gradient techniques using Sodium Polytungstate and a comparison to the use of other heavy liquids. U.S. Department of the Interior; U.S. Geological Survey. B 61 660 – 91,386
90. **Sournia, A.** (1978): Phytoplankton manual.
91. **Springston, S. R.; Myers, M. N.; Giddings, J. C.** (1987): Continuous Particle Fractionation Based on Gravitational Sedimentation in Split-Flow Thin Cells. Analytical Chemistry. 59; 2: 344-350.
92. **Stern, O.** (1924): Zur Theorie der elektrischen Doppelschicht. Zeitschrift für Elektrochemie 30: 508 – 516.
93. **Sullivan, C. W. & Volcani, B. E.** (1981): Silicon in the cellular metabolism of diatoms. In: Silicon and siliceous structures in biological systems (Ed. T. L. Simpson & B. E. Volcani), 15 – 42. New York: Springer Verlag.
94. **Sullivan, M. J.** (1986): A light and scanning microscopical study of *Eupodiscus radiatus* Bailey (Eupodiscaceae). In: Proceedings of the 8th International Diatom Symposium (Ed. M. Richard), 113 – 123. Koenigstein: O. Koeltz.
95. **Tsuda, T.** (1995): Electric Field Applications in Chromatography, Industrial and Chemical Processes. VCH Verlag. 153 – 169.
96. **Tuhkanen, T. A. & Beltrán, F. J.** (1995): Intermediates of the oxidation of naphthalene in water with the combination of hydrogen peroxide and UV radiation. Chemosphere 30 (8): 1463 – 1475.
97. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry** (1995). VCH Verlag.
98. **van den Hoek, C.; Jahns, H. M.; Mann, D. G.** (1993): Bacillariophyceae. In: Algen. Georg Thieme Verlag.
99. **van Olphen, H.** (1977): Clay Colloid Chemistry: For Clay Technologists, Geologists, and Soil Scientists. Second Edition.
100. **Volcani, B. E.** (1981): Cell wall formation in diatoms: morphogenesis and biochemistry. In: Silicon and Siliceous Structures in Biological Systems (Ed. T. L. Simpson & B. E. Volcani). 157 – 200. New York: Springer Verlag.

101. **von Grafenstein, U.; Erlenkeuser, H.; Rutter, J.; Trimborn, P.; Alefs, J.** (1996): A 200 year mid-European air temperature record preserved in lake sediments: an extension of the $\delta^{18}\text{O}_{\text{p-air}}$ temperature relation into the past. *Geochim. et Cosmochim. Acta* 60 (21): 4025 – 4036.
102. **Wagner, H.; Kuhn, R.; Hoffstetter, S** (1989): Theorie der elektrischen Wanderung. In: Praxis der elektrophoretischen Trennmethode. (Ed. H. Wagner & E. Blasius). Springer Verlag. 1 – 20.
103. **Zborowski, M.; Williams, P. S.; Sun, L.; Moore, L. R.; Chalmers, J. J.** (1997): Cylindrical Splitt and Quadrupole Magnetic field in application to Continuous-Flow Magnetic Cell Sorting. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 20; 16 & 17: 2887 - 2905.
104. **Zhang, J.; Williams, P. S.; Myers, M. N.; Giddings, J. C.** (1994): Separation of Cells and Cell-Sized Particles by Continuous SPLITT Fractionation using Hydrodynamic Lift Forces. *Separation Science and Technology*. 29; 18: 2493-2522.
105. **Zolitschka, B.** (1990): Spätquartäre geschichtete Seesedimente ausgewählter Eifelmaare. Paläolimnologische Untersuchungen als Beitrag zur spät- und postglazialen Klima- und Besiedlungsgeschichte. Dissertation im Fach Geologie, Universität Trier.

Bedienungsanleitungen & Benutzerhandbücher:

106. Bedienungsanleitung Zentrifugen C 4.12, CR 4.12, G 4.12, GR 4.12; Jouan GmbH.
107. Benutzerhandbuch KS400 Imaging System, Version 3.0.
108. Instrument Manual for Series SF1000 SPLITT Particle Separator, FFFractionation, LLC, Utah, USA.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABB. 1 FRUSTULUM EINER NAVICULOIDEN DIATOME (EXPLOSIONSZEICHNUNG).	11
ABB. 2 WACHSTUM EINER DIATOMEENZELLE WÄHREND DES ZELLZYKLUS.	12
ABB. 3 PARTIKELTRENNUNG IM MAGNETFELD.	16
ABB. 4 ABHÄNGIGKEIT DER SINKGESCHWINDIGKEIT v VON DER DICHT UND GRÖÖE EINES PARTIKELS.	28
ABB. 5 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES SEDIMENTATIONSVORGANGS IM BECHERGLAS, MIT NUR ZWEI PARTIKELGRÖÖEN UND GLEICHE DICHT.	29
ABB. 6 SPLITT-ZELLE ZUR TRENNUNG VON PARTIKELGEMISCHEN IM SCHEMATISCHEN AUFRISS – NICHT PROPORTIONAL DARGESTELLT.	31
ABB. 7 SPLITT-ZELLE IM SCHNITT – SCHEMATISCHE DARSTELLUNG, NICHT PROPORTIONAL.	31
ABB. 8 PARTIKEL B ERREICHT AUSGANG B, PARTIKEL A NICHT.	33
ABB. 9 SIMULATION EINER SPLITT-FRAKTIONIERUNG ALS TEST FÜR DIE ZUVERLÄSSIGKEIT DER BILDANALYTISCHEN AUSWERTUNG.	49
ABB. 10 VERGLEICH ZWISCHEN AUTOMATISCHER UND INTERAKTIVER MESSUNG DER PARTIKELGRÖÖEN INNERHALB DERSELBEN PROBE, ALS TEST FÜR DIE VERGLEICHBARKEIT VON AUTOMATISCHER UND INTERAKTIVER GRÖÖENMESSUNG.	51
ABB. 11 VERGLEICH VON DATEN AUS EINER „COULTER-MESSUNG“ (VOLUMINA), DER AUS DEN „COULTER“- DATEN ERRECHNETEN PARTIKELGRÖÖEN UND DEN PARTIKELGRÖÖEN (FERETMAX) AUS DER BILDANALYSE DERSELBEN PROBE.	52
ABB. 12 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES VERSUCHSAUFBAUS ZUR SPLITT-FRAKTIONIERUNG.	53
ABB. 13 QUERSCHNITT DURCH EINE BLASENFALLE.	55
ABB. 14 ÄNDERUNG DES TRENNVERMÖGENS DER SPLITT-ZELLE BEI VARIATION DER EINGANGSFLIEÖRATEN. ..	56
ABB. 15 ÄNDERUNG DES TRENNVERMÖGENS DER SPLITT-ZELLE BEI VARIATION DER EINGANGSFLIEÖRATEN. ..	57
ABB. 16 ÄNDERUNG DES TRENNVERMÖGENS DER SPLITT-ZELLE BEI VARIATION DER AUSGANGSFLIEÖRATEN. .	58
ABB. 17 ÄNDERUNG DES TRENNVERMÖGENS DER SPLITT-ZELLE BEI VARIATION DER AUSGANGSFLIEÖRATEN. MIT HÖHERER FLIEÖRATE DER TRANSPORTREGION $\dot{V}(t)$ VERBESSERT SICH DIE AUFLÖSUNG UND VERGRÖÖERT SICH DER TRENNDURCHMESSER (FALL S2).	59
ABB. 18 TRENNUNGSVERMÖGEN DER SPLITT-ZELLE IM FFDSF –MODUS, D.H. ES WIRD (FAST) AUSSCHLIEÖßLICH PROBENSUSPENSION IN DIE SPLITT-ZELLE GEPUMPT.	60
ABB. 19 ERGEBNISSE EINER MEHRSTUFIGEN SPLITT-FRAKTIONIERUNG ANHAND DER MINERALVERTEILUNG (OHNE DIATOMEENSCHALEN).	62
ABB. 20 CHARAKTERISTIK DER PARTIKELUMVERTEILUNGEN BEI DER MEHRSTUFIGEN SPLITT-FRAKTIONIERUNG.	65
ABB. 21 ERGEBNIS DER MEHRSTUFIGEN SPLITT-FRAKTIONIERUNG FÜR VERSCHIEDENER DIATOMEENSCHALENFORMEN.	66
ABB. 22 ERGEBNIS DES OPTIMIERUNGSVERFAHRENS FÜR DIE 4-STUFIGE SPLITT-FRAKTIONIERUNG DER PROBE J2_3I.	69
ABB. 23 ERGEBNIS DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG EINER SIEBFRAKTION 10 – 20 μm IN ZWEI STUFEN.	70

ABB. 24 SPLITT-FRAKTIONIERUNG EINER SIEBFRAKTION 20 – 80 μm . (SIEHE AUCH ANHANG D.2.4, ABB. 58, ABB. 59)	73
ABB. 25 SPLITT-FRAKTIONIERUNG EINES SEDIMENTFALLEN-MATERIALS (7 M WASSERTIEFE) – SIEBFRAKTION 20 – 80 μm	74
ABB. 26 SPLITT-FRAKTIONIERUNG EINES SEDIMENTFALLEN-MATERIALS IN 2 STUFEN (7 M WASSERTIEFE) – SIEBFRAKTION < 20 μm	75
ABB. 27 SPLITT-FRAKTIONIERUNG EINES SEDIMENTFALLEN-MATERIALS (7 M WASSERTIEFE) – SIEBFRAKTION 20 – 80 μm	76
ABB. 28 SPLITT-FRAKTIONIERUNG IN ZWEI STUFEN EINES KOMPAKTIERTEN SEDIMENTS AUS DEM HUGUANG MAAR (CHINA) – SIEBFRAKTION < 20 μm	78
ABB. 29 SPLITT-FRAKTIONIERUNG IN ZWEI STUFEN EINES SEDIMENTS AUS DEM BACHSEE (SCHWEIZ) – SIEBFRAKTION < 20 μm	80
ABB. 30 BLINDVERSUCH MIT H_2O DEION. UND AGEPON (2 μL AUF 1000 μL).	84
ABB. 31 ÄNDERUNG DES $\delta^{18}\text{O}$ -WERT EINER MISCHPROBE GEGENÜBER EINER REINEN DIATOMEENPROBE IN [‰], BEI VARIATION DER DIFFERENZ ZWISCHEN DEN δ -WERTEN VON DIATOMEEN UND MINERAL.	96
ABB. 32 DARSTELLUNG DER ARBEITSWEISE EINER TIEFPASS-FILTERMATRIZE.	115
ABB. 33 DARSTELLUNG DER ARBEITSWEISE EINER SIGMA-FILTERMATRIZE.	115
ABB. 34 DARSTELLUNG DER ARBEITSWEISE EINER FILTERMATRIZE FÜR DIE DELINEATION.	117
ABB. 35 DIE ABBILDUNG EINES PARTIKELS UND DIE BILDVERARBEITUNG ZU EINEM MESSOBJEKT, KÖNNEN INSBESONDERE BEI KLEINEN OBJEKTEN ZU DEUTLICHEN UNTERSCHIEDEN FÜHREN.	122
ABB. 36 HÄUFIGKEITEN DER PIXELMUSTER IM DATENSATZ DER BILDANALYSE VON PROBE J2_31 (ABSZISSE LOGARITHMISCH).	123
ABB. 37 ABSCHÄTZUNG DES FEHLERS, DER DURCH DIE INTERAKTIVE ÄNDERUNG DES SCHWELLENWERTS BEI DER BILDVERARBEITUNG ENTSTEHT.	127
ABB. 38 AUSGANGSSUSPENSION: SIEBFRAKTION 20 – 80 μm EINES KERNMATERIALS AUS DEM HOLZMAAR (EIFEL).	134
ABB. 39 DIATOMEENSCHALENPRÄPARAT, MINERALKÖRNER SIND ABGETRENNT (SPLITT-FRAKTION A DER SIEBFRAKTION 20 – 80 μm).	135
ABB. 40 ABGETRENNT MINERALKÖRNER. (SPLITT-FRAKTION B DER SIEBFRAKTION 20 – 80 μm).	135
ABB. 41 AUSGANGSSUSPENSION: SIEBFRAKTION 10 – 20 μm EINES KERNMATERIALS AUS DEM HOLZMAAR (EIFEL).	136
ABB. 42 DIATOMEENSCHALENPRÄPARAT, MINERALKÖRNER SIND ABGETRENNT (SPLITT-FRAKTION A DER SIEBFRAKTION 10 – 20 μm).	137
ABB. 43 ABGETRENNT MINERALKÖRNER. (SPLITT-FRAKTION B DER SIEBFRAKTION 10 – 20 μm).	137
ABB. 44 AUSGANGSSUSPENSION: SIEBFRAKTION 5 – 10 μm EINES KERNMATERIALS AUS DEM HOLZMAAR (EIFEL).	138
ABB. 45 DIATOMEENSCHALENPRÄPARAT, MINERALKÖRNER SIND NACH EINEM TRENNUNGSSCHRITT WEITESTGEHEND ABGETRENNT.	139
ABB. 46 ABGETRENNT MINERALKÖRNER. (SPLITT-FRAKTION B DER SIEBFRAKTION 5 – 10 μm).	139
ABB. 47 RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHME DER SPLITT-FRAKTION A, SIEBFRAKTION 5 – 10 μm , KERN HZM 4A2U 347.	140

ABB. 48 RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHME DER SPLITT-FRAKTION A, SIEBFRAKTION 5 – 10 µM, KERN HZM 92/2B 10'/12CM.....	140
ABB. 49 LINKS: PROBE UA4 $\bar{V}(A') > \bar{V}(B')$ RECHTS: PROBE UB4.....	141
ABB. 50 LINKS: PROBE UA6 $\bar{V}(A') < \bar{V}(B')$ RECHTS: PROBE UB6.....	141
ABB. 51 AUSGANGSSUSPENSION: PROBE J2_3I (SIEBFRAKTION < 20 µM, REZENTES SEDIMENT AUS DEM HOLZMAAR (EIFEL))	142
ABB. 52 LINKS: PROBE J2_3A RECHTS: PROBE J2_3B.....	142
ABB. 53 LINKS: PROBE J2_3A1A RECHTS: PROBE J2_3A1B	142
ABB. 54 LINKS: PROBE J2_3A1A1A RECHTS: PROBE J2_3A1A1B.....	143
ABB. 55 LINKS: PROBE J2_3A1A1A1A RECHTS: PROBE J2_3A1A1A1B	143
ABB. 56 AUSGANGSSUSPENSION: SIEBFRAKTION (SIEBFRAKTION 10 – 20 µM)	144
ABB. 57 LINKS: PROBE SPLITTA1A RECHTS: PROBE SPLITTA1B	144
ABB. 58 AUSGANGSSUSPENSION: PROBE J1+ (SIEBFRAKTION 20 – 80 µM)	145
ABB. 59 LINKS: PROBE J1.6A RECHTS: PROBE J1.6B.....	145
ABB. 60 LINKS: PROBE ZS7M990907A RECHTS: PROBE ZS7M990907B	145
ABB. 61 AUSGANGSSUSPENSION: PROBE ZS7M990921 (SIEBFRAKTION < 20 µM).....	146
ABB. 62 ABTRENnung GRÖßERER MINERALKÖRNER MIT FRAKTION B (RECHTES BILD). LINKS: PROBE ZS7MA RECHTS: PROBE ZS7MB	146
ABB. 63 ABTRENnung DER TONMINERALE MIT FRAKTION A (LINKES BILD) UND ANREICHERUNG DER DIATOMEEN IN B (RECHTS). LINKS: PROBE ZS7MA1A RECHTS: PROBE ZS7MA1B.....	146
ABB. 64 LINKS: PROBE ZS7M+A RECHTS: PROBE ZS7M+B.....	147
ABB. 65 AUSGANGSSUSPENSION: PROBE HUG (SIEBFRAKTION < 20 µM).....	148
ABB. 66 LINKS: PROBE HUGA RECHTS: PROBE HUGB	148
ABB. 67 ABTRENnung DER TONMINERALE MIT FRAKTION A (LINKES BILD) UND ANREICHERUNG DER DIATOMEEN IN B (RECHTS). LINKS: PROBE HUGA1A RECHTS: PROBE HUGA1B	148
ABB. 68 AUSGANGSSUSPENSION: PROBE BAC (SIEBFRAKTION < 20 µM).....	149
ABB. 69 LINKS: PROBE BACA RECHTS: PROBE BACB.....	149
ABB. 70 LINKS: PROBE BACA1A RECHTS: PROBE BACA1B.....	149

TABELLENVERZEICHNIS

TAB. 1	VERSUCHSSCHEMA ZUR ÜBERPRÜFUNG DES ABBAUS ORGANISCHER SUBSTANZ UNTER UV-BESTRAHLUNG UND H ₂ O ₂ .	24
TAB. 2	FLIEßRATEN DER NACHEINANDER DURCHFÜHRTEN SPLITT-FRAKTIONIERUNGEN.	61
TAB. 3	EXPERIMENTELLE ERMITTLUNG DES TRENNDURCHMESSERS IM VERGLEICH ZUM THEORETISCH ERMITTELTEN.	63
TAB. 4	ERSTELLUNG EINES MODELLS FÜR DIE UMVERTEILUNG VON PARTIKEL WÄHREND SPLITT-FRAKTIONIERUNG.	67
TAB. 5	OPTIMIEREN DER UMVERTEILUNG DURCH DAS ANPASSEN DER MODELLFRAKTIONEN AN DIE BILDAUSWERTEDATEN.	67
TAB. 6	DIATOMEENGEHALTE DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG DER SIEBFRAKTION 10 – 20 µM UNTER ANGABE DER FLIEßRATEN.	71
TAB. 7	DIATOMEENGEHALTE DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG FÜR DIE SIEBFRAKTION 20 – 80 µM UNTER ANGABE DER VERWENDETEN FLIEßRATEN.	72
TAB. 8	DIATOMEENGEHALTE DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG FÜR DIE SIEBFRAKTION < 20 µM (ZS7M990921) UND ANGABE DER FLIEßRATEN.	75
TAB. 9	DIATOMEENGEHALTE UND FLIEßRATEN FÜR DIE SPLITT-FRAKTIONIERUNG DER SIEBFRAKTION 20 - 80 µM (ZS7M990921).	76
TAB. 10	FLIEßRATEN UND DIATOMEENGEHALTE DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG DER PROBE HUG_F-15-U_2916.	78
TAB. 11	DIATOMEENGEHALTE DER SPLITT-FRAKTIONIERUNG DER PROBE BAC_0-1 UNTER ANGABE DER FLIEßRATEN.	80
TAB. 12	VERTEILUNGSSCHEMA FÜR DIE ERZEUGTEN 10000 ZUFALLSZAHLEN AUF DIE GRÖßENKLASSEN, ALS TEST FÜR DIE ZUVERLÄSSIGKEIT DER BILDANALYTISCHEN AUSWERTUNG DER SPLITT-FRAKTIONEN.	120
TAB. 13	UMVERTEILUNGSSCHEMA DER AUSGANGSMENGE IN DIE FRAKTIONEN A UND B, ALS TEST FÜR DIE ZUVERLÄSSIGKEIT DER BILDANALYTISCHEN AUSWERTUNG DER SPLITT-FRAKTIONEN.	121
TAB. 14	HÄUFIGKEITEN DER PIXELMUSTER IN PROBE J2_3I. AUSZUG DER ERSTEN 7 MUSTER AUS DEM DATENSATZ.	122
TAB. 15	VERTEILUNG DER HÄUFIGKEITEN DER PARTIKELGRÖßEN (FERETMAX) IN 19 KLASSEN, FÜR DIE MESSUNG VON DREI BILDSEERIEN DERSELBEN PROBE J2_3I, ALS TEST FÜR DIE ZUVERLÄSSIGKEIT DER BILDAUSWERTUNG.	125
TAB. 16	VERTEILUNG DER HÄUFIGKEITEN DER PARTIKELGRÖßEN (FERETMAX) IN 19 KLASSEN, FÜR VIER WIEDERHOLUNGSMESSUNGEN DERSELBEN BILDSERIE VON PROBE J2_3I UND DIE STANDARDABWEICHUNGEN, ALS TEST FÜR DIE ZUVERLÄSSIGKEIT DER BILDAUSWERTUNG.	126
TAB. 17	WIEDERHOLUNGSZÄHLUNG VON DIATOMEENSCHALEN EINER SPLITT-FRAKTION A, DER SIEBFRAKTION 20 – 80 µM, ALS TEST FÜR DIE ZUVERLÄSSIGKEIT DER INTERAKTIVEN SCHALENZÄHLUNG.	127
TAB. 18	VERGLEICH ZWISCHEN INTERAKTIVER UND AUTOMATISCHER VERMESSUNG VON OBJEKTEN UNTERSCHIEDLICHER GRÖßE UND FORM, ALS TEST FÜR DIE VERGLEICHBARKEIT VON INTERAKTIVER UND AUTOMATISCHER VERMESSUNG.	128

TAB. 19 VERGLEICH DER AUS DEN BILDANALYSEDATEN ERRECHNETEN GESAMTMASSEN FÜR QUARZ ($\rho = 2,6 \text{ g/cm}^3$), MIT VERSCHIEDENEN PARTIKELGEOMETRIEN.	130
TAB. 20 ÄNDERUNG DER GESAMTMASSEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN WERTEN FÜR DIE BERECHNUNG DER ABSOLUTEN PARTIKELZAHL IN DEN SUSPENSIONEN.....	131
TAB. 21 GESAMTMASSEN OHNE DIE PARTIKEL $< 10 \text{ }\mu\text{m}$	131
TAB. 22 GESAMTMASSEN OHNE DIE PARTIKEL $\geq 15 \text{ }\mu\text{m}$	132

ANHANG

ANHANG A

A.1 Bildverarbeitung

Ein Bild besteht aus zwei Arten binärer Regionen, nämlich den „Löchern“ mit schwarzen Pixeln (Grauwert = 0) und den „Objekten“ mit Pixeln die einen Grauwert $\neq 0$ aufweisen (im Schwarzweißbild ist dann der Grauwert = 255). Welche Pixel sich zu einer einzelnen Region gruppieren, hängt von der Art der Pixelverknüpfung ab. In einer 4er-Nachbarschaft berühren sich die Pixel nur an den Seiten. In einer 8er-Nachbarschaft werden Pixel, die sich an den Seiten oder den Ecken berühren, zu einer Region zusammengefasst (*Benutzerhandbuch KS400 Imaging System, Version 3.0*).

A.1.1 Verbesserung der Bildqualität

Der erste Schritt bei der Bildverarbeitung ist eine Verbesserung der Bildqualität. Eine ungleichmäßige Helligkeitsverteilung im Bild und das Rauschen sollen korrigiert oder zumindest vermindert werden. Das Rauschen entsteht während der Bildaufnahme; das Bildsignal unterliegt leichten Schwankungen, d.h. zwei eng benachbarte Punkte können sich, trotz gleicher Objekthelligkeit, bei ihrer Abbildung als Bildpixel etwas voneinander unterscheiden. Filter können das Rauschen glätten.

Tiefpass-Filterung (*lowpass*): Die Grauwerte (der Begriff „Grauwert“ steht folgend auch stellvertretend für die Intensitäten der Farbkanäle) jedes Pixels des gefilterten Bildes werden mit Hilfe einer Pixelmatrize, aus den gemittelten Grauwerten des Ausgangsbilds errechnet (*Duda & Hart, 1973*)

$$(48) \quad f_{\text{lowpass}}(x, y) = \frac{1}{(2b+1)(2h+1)} \sum_{m=-b}^b \sum_{n=-h}^h f(x+m, y+n)$$

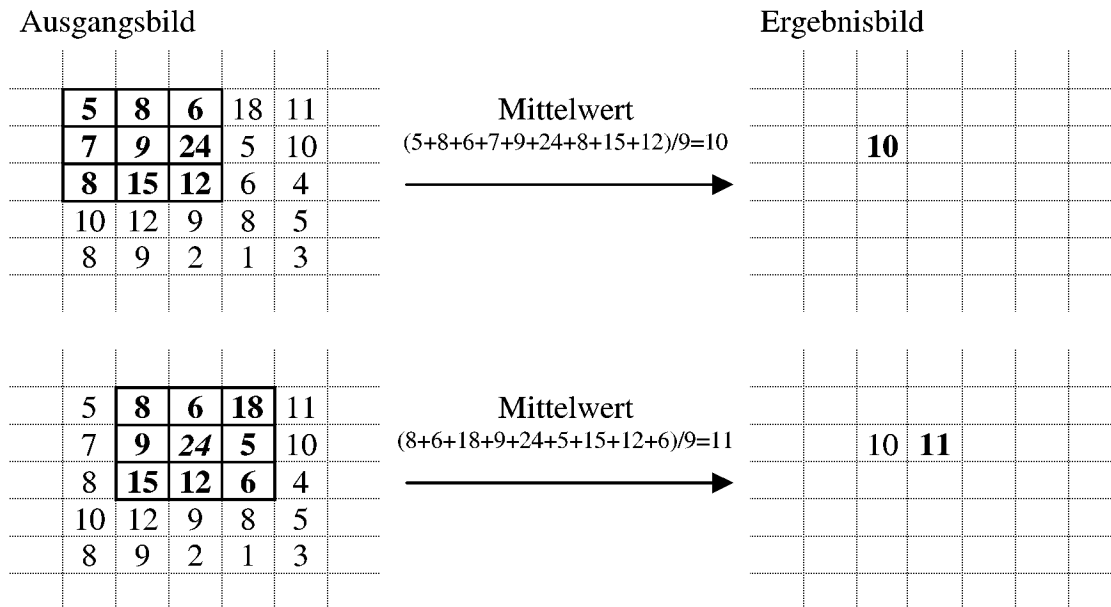
$f(x, y)$ = Grauwert eines Pixels an der Stelle x, y

b, h = Breite und Höhe der Filtermatrize

Das Rauschen im Bild wird vermindert, lokale Maxima werden eingeebnet, die Kanten von Regionen verschwimmen, der Dynamikbereich wird stark reduziert.

Abb. 32 Darstellung der Arbeitsweise einer Tiefpass-Filtermatrize.

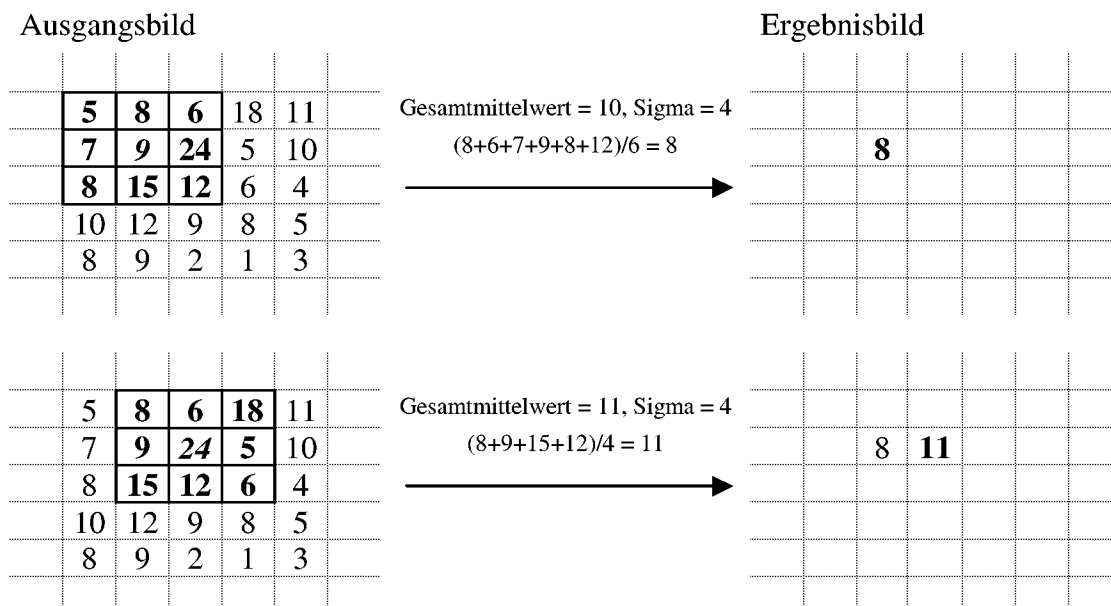
Aus der Berechnung der Matrize (Ausgangsbild), ergibt sich für das Zentralpixel der Matrize ein neuer Wert (Ergebnisbild). Die Filtermatrize wandert pixelweise über das gesamte Ausgangsbild.



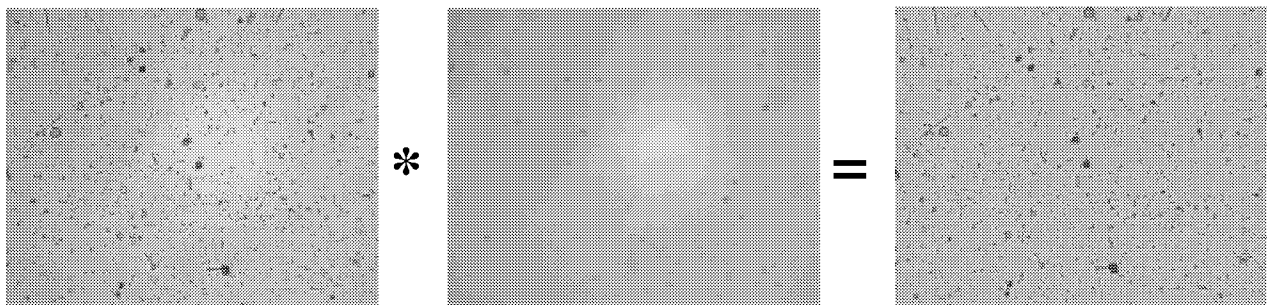
Sigma-Filterung: Die Grauwerte jedes Pixels des Ausgangsbildes werden durch das Mittel jener Nachbapixel ersetzt, deren Grauwert in dem Intervall $\pm$ Sigma um den Mittelwert der Gesamtmatrize liegt. Das Rauschen im Bild wird vermindert, feine Strukturen bleiben erhalten.

Abb. 33 Darstellung der Arbeitsweise einer Sigma-Filtermatrize.

Aus der Berechnung der Matrize im Ausgangsbild, ergibt sich für das Zentralpixel der Matrize des Ergebnisbildes ein neuer Wert. Die Filtermatrize wandert pixelweise über das gesamte Ausgangsbild.



Schattierungskorrektur: Eine ungleichmäßige Helligkeitsverteilung (shading - Schattierung) im Bild tritt auf, wenn z.B. das Aufnahmefeld nicht gleichmäßig ausgeleuchtet wird, Staubpartikel im optischen System Schatten erzeugen oder der Kamerasensor eine inhomogene Empfindlichkeit aufweist. Zur Schattierungskorrektur wird das Ausgangsbild mit einem Referenzbild pixelweise gewichtet. Referenzbild wird z.B. mit einem leeren Objektträger aufgenommen. Bei der additiven Korrektur wird die Bildhelligkeit beeinflusst, bei der multiplikativen Korrektur der Kontrast. Das Ergebnisbild kann durch Addition eines konstanten Grauwerts in der Helligkeit korrigiert werden, falls das Ergebnisbild zu hell oder zu dunkel ist. Negative Werte werden auf 0 gesetzt, Werte > 255 werden auf 255 gesetzt.

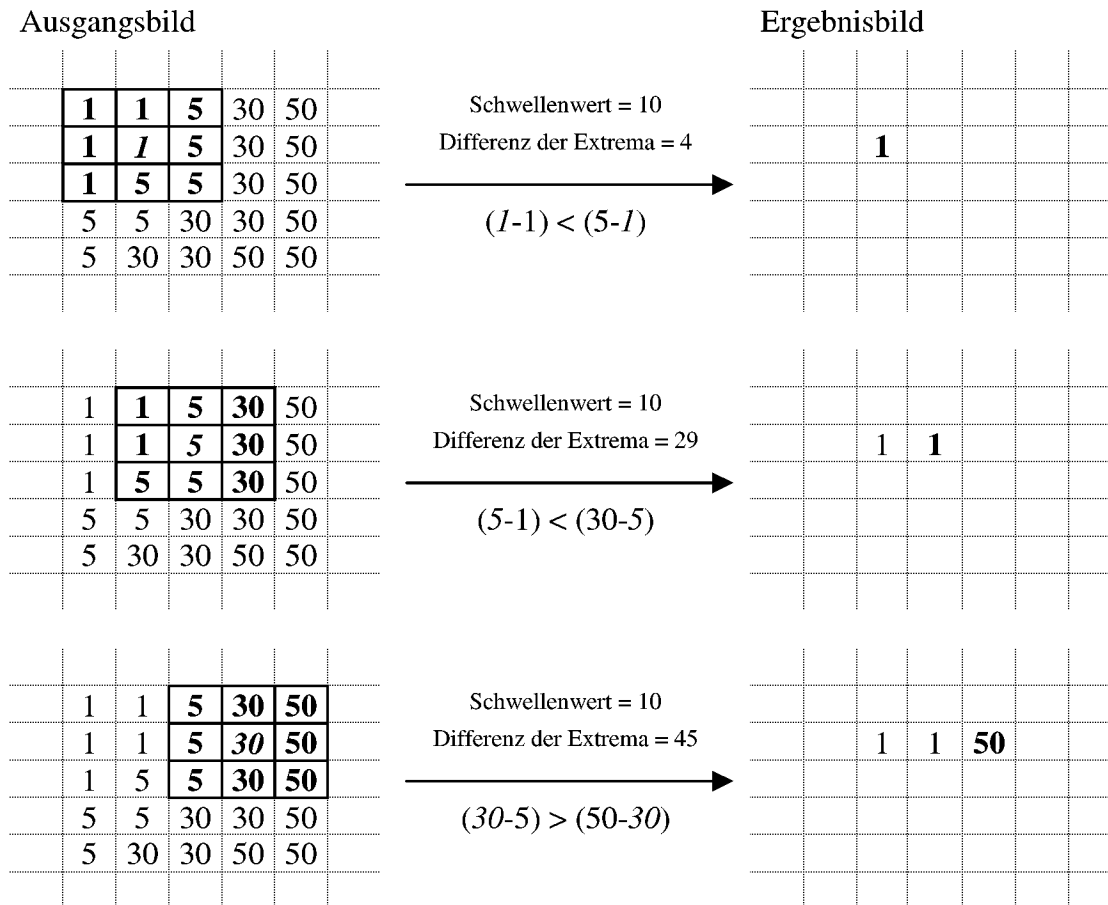


A.1.2 Informationsverstärkung

Delineation: Objektkanten werden von optischen Systemen meist nicht scharf abgebildet, sondern es entstehen Übergänge mit fallenden oder steigenden Grauwerten. Beim Herausarbeiten der zu vermessenden Objekte (Segmentierung) können unscharfe Kanten sogenannte Halo-Effekte erzeugen – es entstehen Ringe um die Objekte. Mittels Delineation werden Kanten verstärkt. Dazu werden innerhalb einer Matrize der maximale und minimale Grauwert betrachtet. Liegt die Differenz aus diesen beiden Werten unterhalb eines vorgegebenen Schwellenwerts, wird der Grauwert des Zentralpixels der Matrize in das Ergebnisbild übernommen. Wird der Schwellenwert überschritten, erhält das Zentralpixel entweder den Minimalwert oder den Maximalwert. Liegt der Grauwert des Zentralpixels näher am Maximalwert, dann wird dieser übernommen, andernfalls der Minimalwert. Die Matrizengröße sollte der Breite der unscharfen Kanten entsprechen.

Abb. 34 Darstellung der Arbeitsweise einer Filtermatrize für die Delineation.

Mit Hilfe der Filtermatrize im Ausgangsbild wird für das Zentralpixel der Matrize ein Grauwert errechnet, der dem Ergebnisbild zugewiesen wird. Die Matrize wandert Pixel für Pixel fortschreitend über das Ausgangsbild.



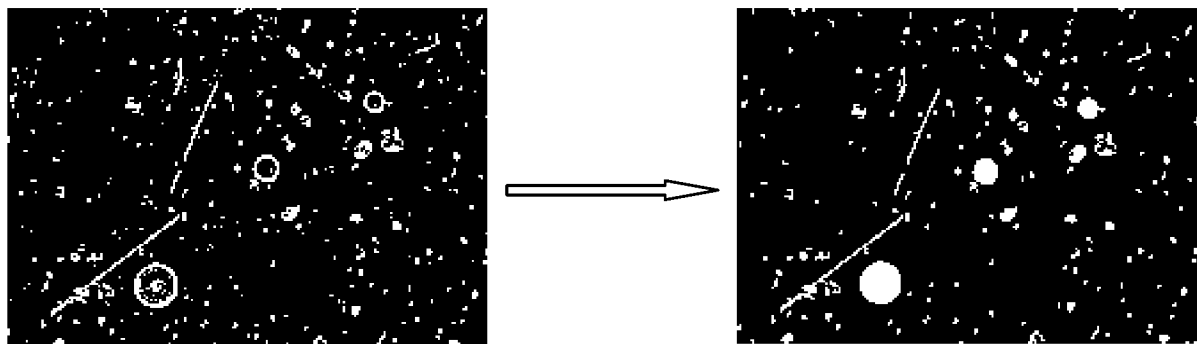
Zylinder-Filterung (top hat): Die Zylinder-Filterung hebt punktförmige Regionen maximaler Grauwerte hervor. Zur Veranschaulichung der Wirkungsweise des Zylinder-Filters, wird die Filtermatrize als Zylinder dargestellt, der auf Oberfläche der als Höhenkonturen dargestellten Grauwerte aufsitzt. Nur Spitzen die den Hutdeckel „durchstechen“ werden übernommen. Es wird die Differenz zwischen dem maximalen Grauwert des äußeren Matrizenbereichs („Hutkrempe“) und dem maximalen Grauwert des inneren Matrizenbereichs („Hutkopf“) ermittelt. Überschreitet die Differenz einen Schwellenwert (die Höhe des Zylinders), behält das Zentralpixel seinen Grauwert, andernfalls wird ihm der minimale Grauwert des äußeren Matrizenbereichs zugewiesen. Die Zylinder-Filterung kann jeweils am Ergebnisbild mehrfach wiederholt werden. Anschließend wird das Ergebnisbild vom Ausgangsbild subtrahiert.

A.1.3 Extraktion der Objekte

Binärbildumwandlung / Schwellenwert (*threshold*): Aus dem Echtfarbbild, bzw. Grauwertbild muss ein Binärbild erzeugt werden, da mit der benutzten Software nur in Binärbildern Objekte identifiziert werden können. Dazu werden ein unterer und ein oberer Schwellenwert festgelegt, die den Farbwertebereich des jeweiligen Farbauszugs (rot, grün, blau) bestimmen, der erhalten werden soll. Im Binärbild wird dieser Bereich auf den Grauwert 255 (weiß) gesetzt. Alle anderen Farbwerte werden auf 0 (schwarz) gesetzt.

Binärbildoperationen: Das Binärbild enthält oft Objekte, die nicht vermessen werden sollen, z.B. Artefakte aus der Bildfilterung oder zu kleine Objekte. Mit der Funktion *binscrap* werden Objekte gelöscht, deren Fläche in einem vorgewähltem Intervall liegen.

Die *binfill*-Funktion füllt Löcher in den Objekten, die durch vorherige Filteroperationen entstanden sein können. Nach der Füllung etwaiger Löcher, können die Flächen der Objekte korrekt bestimmt werden.

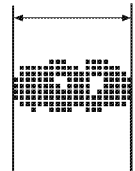


A.1.4 Vermessung der Objekte

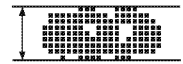
Die Vermessung der Objekte wurde halbautomatisch, in mehreren Schritten vorgenommen, wobei interaktiv zwischen Mineral und Diatomeenschale entschieden werden musste. Zuerst wurden alle Objekte $> 15 \mu\text{m}$ zurückgewiesen, da sich herausstellte, dass ab etwa dieser Größe die Partikel nicht mehr korrekt im Binärbild abgebildet wurden. Dies lag z.B. daran, dass die abgebildeten Mineralkörner unterschiedliche Helligkeitswerte auf ihrer Oberfläche aufwiesen und nach der Bildverarbeitung nicht mehr als ein zusammenhängendes Objekt auftraten. Weiter wurden interaktiv alle Diatomeenschalen von der automatischen Vermessung ausgeschlossen, da die Diatomeen einesteils meist nicht als zusammenhängende

Objekte erfasst wurden und zum anderen nicht automatisch zwischen Diatomee und Mineral unterschieden wurde. Das Bild wurde auf dem Bildschirm angezeigt und alle als Objekte erkannten Diatomeenschalen per Hand mit dem Cursor markiert. Weiter wurden alle großen, nicht erfassten Mineralkörner von Hand vermessen und so der maximale Durchmesser bestimmt. Anschließend wurden alle verbliebenen Objekte automatisch vermessen. Gemessen wurden folgende Merkmale (*Benutzerhandbuch KS400 Imaging System, Vers. 3.0*):

- FERETMAX: Der maximale Feret eines Objekts wird über den maximalen Abstand zweier, das Objekt berührende Tangenten bestimmt.



- FERETMIN: Der minimale Feret eines Objekts wird über den minimalen Abstand zweier, das Objekt berührende Tangenten bestimmt.



- AREA: Fläche des Objekts
- FCIRCLE: FCIRCLE ist eine Formfaktor, der die Nähe zur Kreisform eines Objekts wiedergibt.
$$FCIRCLE = 4 \cdot \pi \cdot \frac{\text{Fläche des gefüllten Objekts}}{(\text{Umfang nach Crofton})^2}$$

Zuletzt wurden die Diatomeenschalen, auf gleiche Weise wie die großen Mineralkörner, interaktiv vermessen und in drei Formklassen unterteilt (runde, lange, andersförmige).

ANHANG B

B.1 Simulation einer SPLITT-Fraktionierung

Für die Simulation wurden 10 000 Partikel auf die 10 Größenklassen verteilt. Dazu wurde eine Menge von 10 000 gleichverteilten Zufallszahlen zwischen 0 und 1 erzeugt (Tabellenfunktion ZUFALLSZAHN()). Die Startwerte der Größenklassen wurden aus der Partikelgrößenmessung erhalten, z.B. 46 % für Klasse 2 - 4 μm , 34 % für Klasse 4 - 6 μm usw.. Die Zufallszahlen wurden ihrem Wert entsprechend in die Größenklassen verteilt (Tab. 12).

Tab. 12

Verteilungsschema für die erzeugten 10000 Zufallszahlen auf die Größenklassen, als Test für die Zuverlässigkeit der bildanalytischen Auswertung der SPLITT-Fraktionen.

ANFANGSMENGE				
Zufallszahl	Klasse 2 - 4 μm	Klasse 4 - 6 μm	usw.	Klasse > 19 μm
<i>Erzeugen einer Zufallszahl zwischen 0 und 1</i>	<i>1 Zuweisen wenn die Zufallszahl in das Intervall 0 bis 0,46 fällt</i>	<i>1 Zuweisen wenn die Zufallszahl in das Intervall 0,46 bis (0,46 + 0,34) fällt</i>	<i>usw.</i>	<i>1 Zuweisen wenn die Zufallszahl in das Intervall (0,46 + ... + 0,01) bis 1 fällt</i>
0,324335	1	0	usw.	0
0,629347	0	1	usw.	0
0,998764	0	0	usw.	1
...	...	...	...	...

Die simulierten Partikel wurden im Anschluss in zwei Fraktionen umverteilt. Das Umverteilungsschema wurde vorgegeben. Dazu wurde jeder Klasse eine Wahrscheinlichkeit zugewiesen, mit der ein Partikel aus der Ausgangsmenge in Fraktion a hinüber geht, z.B. 95 % für Klasse 2 - 4 μm , 92 % für Klasse 4 - 6 μm usw. (Tab. 13). Fraktion b wurde die Differenz von Ausgangsmenge und Fraktion a zugewiesen.

Tab. 13

Umverteilungsschema der Ausgangsmenge in die Fraktionen a und b, als Test für die Zuverlässigkeit der bildanalytischen Auswertung der SPLITT-Fraktionen.

FRAKTION A				
Zufallszahl	Klasse 2 - 4 μm	Klasse 4 - 6 μm	usw.	Klasse > 19 μm
<i>Erzeugen einer Zufallszahl zwischen 0 und 1</i>	<i>Zuweisen der Zahl aus der Anfangsmenge, wenn die Zufallszahl in das Intervall 0 bis 0,95 fällt</i>	<i>Zuweisen der Zahl aus der Anfangsmenge, wenn die Zufallszahl in das Intervall 0 bis 0,92 fällt</i>	<i>usw.</i>	<i>Zuweisen der Zahl aus der Anfangsmenge, wenn die Zufallszahl in das Intervall 0 bis 0,001 fällt</i>
0,457104	1	0	usw.	0
0,723891	0	1	usw.	0
0,132469	1	0	usw.	0
...	...	...	...	...

FRAKTION B			
Klasse 2 - 4 μm	Klasse 4 - 6 μm	usw.	Klasse > 19 μm
<i>Zuweisen der Differenz zwischen Ausgangsmenge und Fraktion a</i>	<i>Zuweisen der Differenz zwischen Ausgangsmenge und Fraktion a</i>	<i>usw.</i>	<i>Zuweisen der Differenz zwischen Ausgangsmenge und Fraktion a</i>
0	0	usw.	0
0	0	usw.	0
0	0	usw.	1
...	...	...	...

Die Wahrscheinlichkeiten für die Umverteilung in den einzelnen Klassen wurden zunächst anhand von Literaturdaten (*Fuh et al.*, 1995; *Giddings*, 1988; *Springston et al.*, 1987) geschätzt. Im nächsten Schritt wurden Wahrscheinlichkeiten für die Umverteilung aus Versuchen zur SPLITT-Fraktionierung errechnet (Kapitel 1.1.1.1). Aus diesen Werten wurde eine idealisierte Umverteilung erstellt und eingesetzt.

B.2 Häufigkeiten der Pixelmuster in der Bildauswertung

Für die Untersuchung bestimmter Pixelmuster standen in den Datensätzen folgende Messgrößen zur Verfügung: Feretmax [μm], Feretmin [μm], FCircle, Fläche [μm^2]. In voranstehender Ordnung wurden die Werte der Messgrößen aufsteigend sortiert und aus den Flächen die Pixelzahlen errechnet. Zur Auswertung kamen nur die automatisch gemessenen Objekte < 15 μm . Der „von Hand“ gemessene Teil (Kapitel 0) wurde nicht berücksichtigt, da hier nur der Maximaldurchmesser (Feretmax) repräsentativ ist. In Tab. 14 ist ein Auszug der ersten 7 Muster eines Datensatzes aufgeführt. Es zeigt sich, dass kompakte Muster häufiger sind als langgestreckte, bzw. verästelte Formen. Dies liegt zum einem darin begründet, dass

die Mehrheit der mineralischen Partikel eher kompakte Formen aufweist als gestreckte. Zum anderen werden durch den Prozess der Bildverarbeitung kompakte Muster u.U. bevorzugt. Die Wahl der Parameter während der Bildverarbeitung kann insbesondere bei kleinen Objekten zu deutlichen Unterschieden bei der Messung führen (Abb. 35).

Abb. 35

Die Abbildung eines Partikels und die Bildverarbeitung zu einem Messobjekt, können insbesondere bei kleinen Objekten zu deutlichen Unterschieden führen.

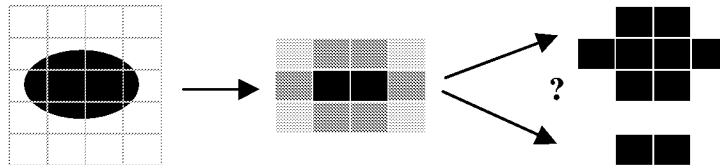
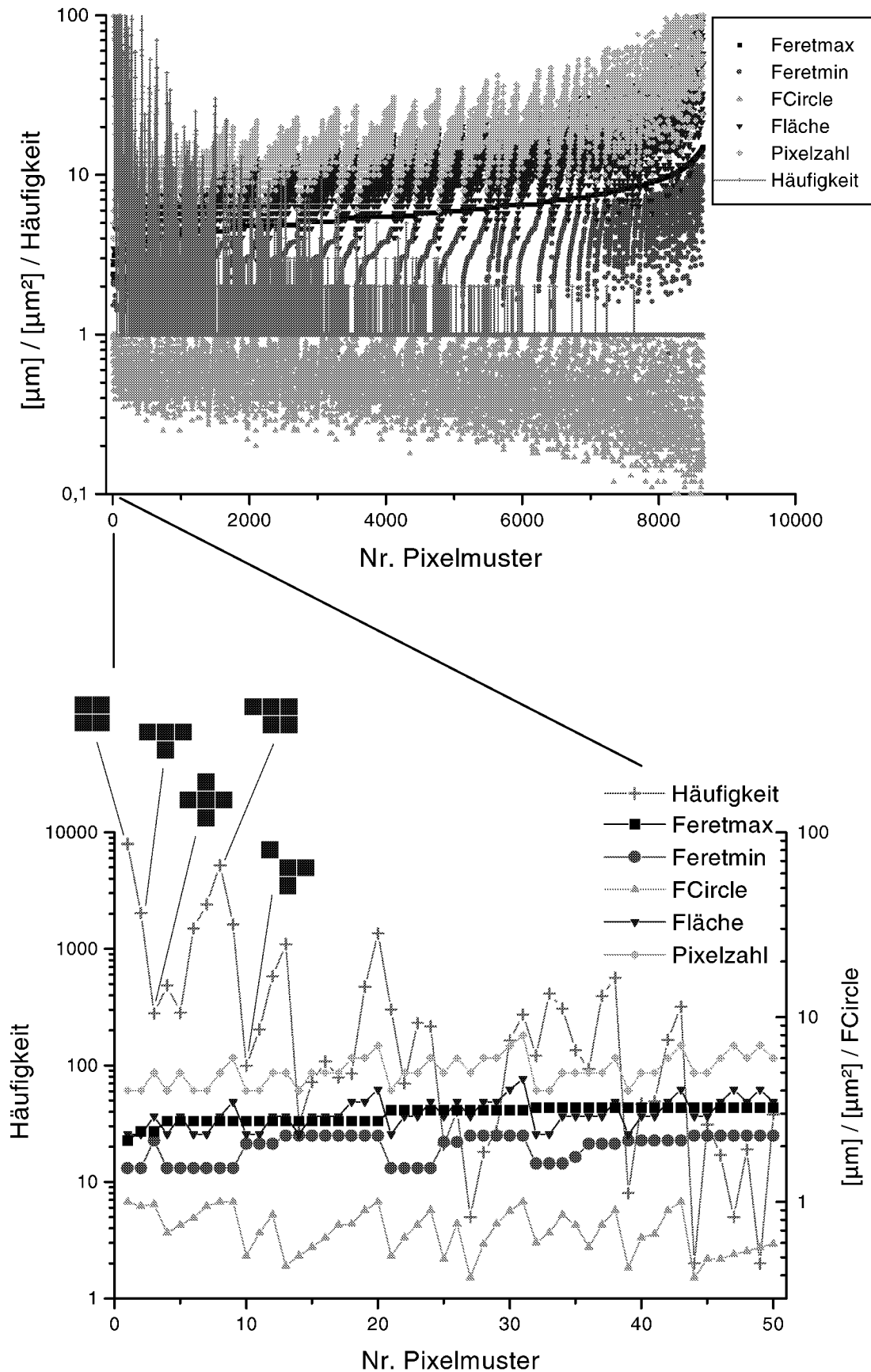


Abb. 36 zeigt die Häufigkeitsverteilung aller im Datensatz J2_3i vorkommenden Kombinationen der Kenndaten. Trotz der großen Anzahl der Datenpunkte wurde diese Art der Abbildung gewählt, um einen Überblick große Zahl der gemessenen Kenndaten zu zeigen. Die Kombinationen der Kenndaten repräsentieren bestimmte Pixelmuster. Die sägezahnartige Struktur rührt von der aufsteigenden Sortierung der Kenndaten (Feretmax, ...) her. In einem Auszug aus der Gesamtverteilung sind Abb. 36 einige der häufigsten Pixelmuster veranschaulicht. Das kompakteste Muster aus 4 Pixel kommt rund 8000 mal vor, dagegen eine Linie aus 6 Pixel nur 22 mal (nicht abgebildet).

Tab. 14

Häufigkeiten der Pixelmuster in Probe J2_3i. Auszug der ersten 7 Muster aus dem Datensatz. Für FCircle gilt, je näher FCircle bei 1 liegt, desto kreisförmiger ist das Muster.

Feretmax [μm]	Feretmin [μm]	FCircle	Fläche [μm^2]	Pixelzahl	Häufigkeit
2,15	1,52	1,00	2,32	4	7958
2,41	1,52	0,95	2,32	4	2035
2,41	2,15	0,97	2,90	5	279
2,74	1,52	0,68	2,32	4	487
2,74	1,52	0,75	2,90	5	282
2,74	1,52	0,82	2,32	4	1502
2,74	1,52	0,95	2,32	4	2419
...	...	...	...	...	...

**Abb. 36**

Häufigkeiten der Pixelmuster im Datensatz der Bildanalyse von Probe J2_3i (Abszisse logarithmisch). In der oberen Abbildung wird gezeigt, dass in einem großen Messdatensatz (hier 54 956 Partikel) eine große Anzahl von Kombinationen der gemessenen Parameter vorkommen, die bestimmte Pixelmuster repräsentieren (hier 8 649 Kombinationen). Die untere Abbildung zeigt einen Ausschnitt aus dem Datensatz und Beispiele für die häufigsten Pixelmuster.

B.3 *Abschätzung der Fehler bei der Bildanalyse*

Um die Frage zu klären, ob interaktive und automatische Messung gleiche Ergebnisse liefern, wurden Objekte mit einem Grafikprogramm erstellt und anschließend sowohl interaktiv als auch automatisch vermessen. Das Ergebnis zeugt von einer guten Übereinstimmung der gemessenen Größen (Tab. 18). Schließlich wurde eine Serie von Bildern vermessen, bei denen die Schwellenwerte (*thresholds*, Anhang A.1.3) während der Bildverarbeitung entweder fix gewählt oder interaktiv verändert wurden (Abb. 37). Der fixe Schwellenwert wurde so vorgewählt, dass möglichst viele Objekte erfasst wurden (subjektiv beurteilt), der Hintergrund aber ausgeschlossen blieb. Der Anteil an Artefakten kann hier höher sein. Alle Objekte einschließlich Diatomeenschalen wurden erfasst. Die Partikelzahlen aus der interaktiven Messung liegen durchweg niedriger, wobei die Differenz von Größenklasse zu Größenklasse etwa gleich groß ist. Anders bei der Messung mit fixem Schwellenwert und interaktivem Ausschluss der Diatomeenschalen. Hier sollte sich vor allem die Anzahl der mittelgroßen bis großen Partikel verändern, also in dem Größenbereich, in dem sich auch die Schalen finden. Die Testmessung zeigt wie erwartet diesen Zusammenhang. Bei der interaktiven Messung der Diatomeenschalen ergab sich ein weiteres Problem damit, dass es dem Auge des Betrachters überlassen blieb, welches Objekt als Diatomeenschale identifiziert und gemessen wurde. Es wurden auch größere Bruchstücke bei der Zählung berücksichtigt. Je nachdem wie eng die Grenzen gesteckt sind, nach denen der Betrachter ein Objekt als Schale berücksichtigt, können die Messungen stark Schwanken (Tab. 17).

Tab. 15

Verteilung der Häufigkeiten der Partikelgrößen (Feretmax) in 19 Klassen, für die Messung von drei Bildserien derselben Probe J2_3i, als Test für die Zuverlässigkeit der Bildauswertung.

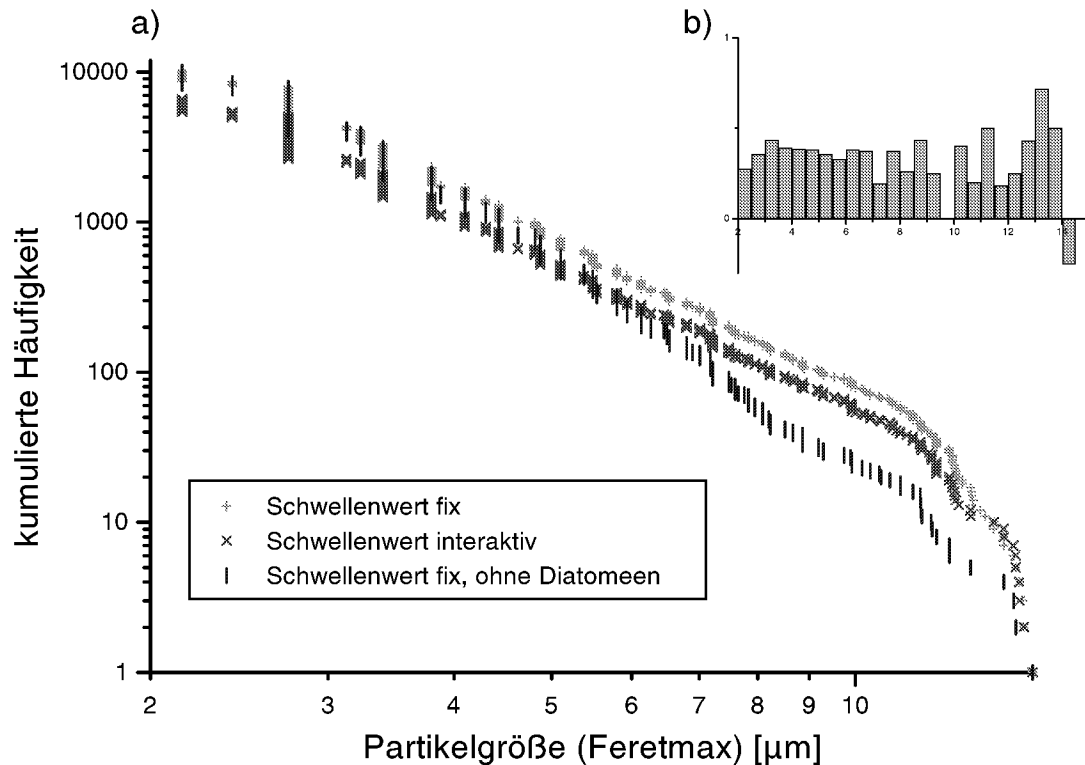
Klasse [µm]	gezählte Partikel			Standardabweichung	vom Mittelwert [%]
	J2_3i	J2_3ii	J2_3iii		
2	25987	25682	26806	474,5948	2%
3	20340	19301	20393	502,74734	3%
4	4913	4629	4809	117,31818	2%
5	1984	1821	1933	68,080018	4%
6	855	800	844	23,762716	3%
7	394	352	381	17,556259	5%
8	202	200	193	3,8586123	2%
9	133	145	93	22,231109	18%
10	87	84	64	10,208929	13%
11	21	13	15	3,3993463	21%
12	9	14	6	3,2998316	34%
13	7	11	12	2,1602469	22%
14	6	6	13	3,2998316	40%
15	7	3	3	1,8856181	44%
16	2	5	5	1,4142136	35%
17	0	2	3	1,2472191	75%
18	2	2	4	0,942809	35%
19	2	0	0	0,942809	141%
20	1	1	0	0,4714045	71%
< 30	54952	53071	55577	1065,0416	2%
Minerale 100%	54956	53073	55580	1065,6	2%
Diatomeen 100%	1099	1044	1000	40,5	4%
runde	458	410	378	32,876875	8%
lange	302	258	243	25,037749	9%
andere	339	376	379	18,190352	5%

Tab. 16

Verteilung der Häufigkeiten der Partikelgrößen (Feretmax) in 19 Klassen, für vier Wiederholungsmessungen derselben Bildserie von Probe J2_3i und die Standardabweichungen, als Test für die Zuverlässigkeit der Bildauswertung.

Die Reproduzierbarkeit ist schlechter als erwartet. Dies ist auf die interaktive Änderung des Schwellenwerts während der Bildverarbeitung zurückzuführen.

Klasse [µm]	gezählte Partikel				Standardabweichung	vom Mittelwert [%]
	J2_3i	J2_3i-2	J2_3i-3	J2_3i-4		
2	25987	25428	26514	25626	412,9	2%
3	20340	19648	21052	19247	687,9	3%
4	4913	4618	4856	4203	279,5	6%
5	1984	1726	1753	1383	214,5	13%
6	855	638	631	466	138,2	21%
7	394	302	277	198	69,9	24%
8	202	158	145	110	32,9	21%
9	133	85	76	63	26,4	30%
10	87	60	45	45	17,2	29%
11	21	8	7	6	6,1	58%
12	9	5	11	7	2,2	28%
13	7	8	5	9	1,5	20%
14	6	3	5	5	1,1	23%
15	7	1	4	4	2,1	53%
16	2	3	5	1	1,5	54%
17	0	3	2	2	1,1	62%
18	2	2	3	1	0,7	35%
19	2	0	1	2	0,8	66%
20	1	2	1	1	0,4	35%
< 30	54952	52698	55393	51379	1642,3	3%
Minerale 100%	54956	52700	55395	51383	1642,1	3%
Diatomeen 100%	1099	1028	1074	1268	90,7	8%
runde	458	445	457	518	28,5	6%
lange	302	199	217	274	41,7	17%
andere	339	384	400	476	49,4	12%

**Abb. 37**

Abschätzung des Fehlers, der durch die interaktive Änderung des Schwellenwerts bei der Bildverarbeitung entsteht.

a) Vergleich zwischen Messungen aller Partikel (inkl. Diatomeen) mit festgewähltem Schwellenwert (*threshold*) und interaktiv während der Messung gewähltem Schwellenwert, bzw. festem Schwellenwert bei interaktiv abgewählten Diatomeenschalen.

b) Differenz zwischen Schwellenwert fix – Schwellenwert interaktiv, relativ zu Schwellenwert fix. (lineare Achsen).

(Doppelt logarithmische Darstellung der kumulierten Häufigkeiten der Partikelgrößen (Probe J2_3i))

Tab. 17

Wiederholungszählung von Diatomeenschalen einer SPLITT-Fraktion a, der Siebfraction 20 – 80 μm , als Test für die Zuverlässigkeit der interaktiven Schalenzählung.

In Zählung 1 wurden nur eindeutig als Schalen identifizierte Objekte und große Schalenbruchstücke vermessen, wie in dieser Arbeit üblicherweise vorgegangen wurde.

In Zählung 2 wurden zusätzlich alle Objekte berücksichtigt, die nicht sicher als Schale zu identifizieren waren und alle kleine Schalenbruchstücke.

Diatomeen- schalenform	gezählte Schalen		Differenz
	Zählung 1	Zählung 2	
andere	130	170	40
lange	266	312	46
runde	7	6	1
gesamt	403	488	85

Tab. 18

Vergleich zwischen interaktiver und automatischer Vermessung von Objekten unterschiedlicher Größe und Form, als Test für die Vergleichbarkeit von interaktiver und automatischer Vermessung.

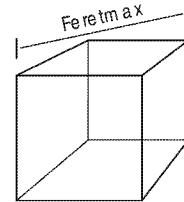
Ooid interaktiv				Ooid automatisch				Vergleich interaktiv / automatisch	
Feretmax [µm]	Mittel- wert	Stabw.	vom Mittel [%]	Feretmax [µm]	Mittel- wert	Stabw.	vom Mittel [%]	Stabw.	vom Mittel [%]
7,95 8,09 8,23	8,09	0,11	1,4%	8,20 8,23 8,23	8,22	0,01	0,2%	0,10	1,3%
19,02 19,08 19,38	19,16	0,16	0,8%	19,55 19,75 19,84	19,71	0,12	0,6%	0,31	1,6%
37,33 38,20 38,77	38,10	0,59	1,6%	38,78 38,84 39,00	38,87	0,09	0,2%	0,57	1,5%
75,61 76,10 76,95	76,22	0,55	0,7%	76,71 76,71 77,04	76,82	0,16	0,2%	0,51	0,7%

Rechteck interaktiv				Rechteck automatisch				Vergleich interaktiv / automatisch	
	Mittel- wert	Stabw.	Stabw % vom Mittel		Mittel- wert	Stabw.	Stabw % vom Mittel	Stabw.	Stabw % vom Mittel
10,75 10,89 11,89 12,03	11,60	0,51	4,4%	11,30 11,61 11,81 11,91	11,78	0,12	1,1%	0,46	4,0%
26,63 26,88 28,07 28,16	27,70	0,58	2,1%	28,68 28,92 28,92 29,34	29,06	0,20	0,7%	0,92	3,3%
53,19 53,27 54,46 54,52	54,08	0,58	1,1%	57,58 57,62 58,07 58,26	57,98	0,27	0,5%	2,07	3,7%
107,30 107,57 108,28 108,36	108,07	0,36	0,3%	114,82 115,04 115,15 115,25	115,15	0,09	0,1%	3,61	3,2%

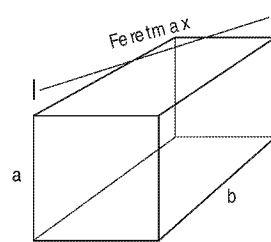
B.4 Vergleich Bildanalyse / „Coulter Counter“

Die gemessenen Korngrößen müssen in Volumina überführt werden, um eine Abschätzung der Partikelmassen vornehmen zu können, dazu wurden verschiedene Geometrien verwendet: Würfel, Quader, Platte, Kugel, Rotationsellipsoid.

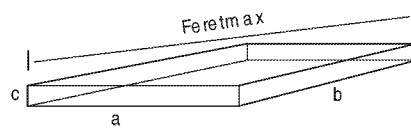
$$V_{\text{Würfel}} = \left(\frac{\text{Feret max}}{\sqrt{2}} \right)^3$$



$$V_{\text{Quader}} = \frac{\text{Feret max}^3}{k_a^2} \cdot \sqrt{1 - \frac{1}{k_a^2}}$$



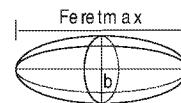
$$V_{\text{Platte}} = \frac{\text{Feret max}^3}{k_a \cdot k_c} \cdot \sqrt{1 - \frac{1}{k_a^2}}$$



$$V_{\text{Kugel}} = \frac{1}{6} \cdot \pi \cdot \text{Feret max}^3$$



$$V_{\text{Ellipsoid}} = \frac{2}{3} \cdot \pi \cdot \frac{\text{Feret max}^3}{k_b^2}$$



k_a, k_b, k_c = Faktor für die Seitenverhältnisse der Seite a, b und c, bzgl. des Feretmax.

Die Korngrößenverteilung wurde der quantitativen Messung der Siebfraction $< 20 \mu\text{m}$ (Probe J2_3iSED) entnommen. Es wurde vorausgesetzt, dass die Partikel die Dichte von Quarz ($\rho = 2,6 \text{ g/cm}^3$) aufweisen. Zuerst wurde das Volumen eines Partikels einer Größenklasse errechnet, dann mit der absoluten Häufigkeit der Größenklasse multipliziert. Die absolute

Häufigkeit der Partikel wurde entsprechend der verwendeten Teilmengen und Verdünnungen errechnet:

$$(49) \quad Z_n = z_n \cdot \frac{V_{\text{gesamt}}}{V_{\text{Mikroskop}}} \cdot \frac{V_{\text{Teilprobe}} + V_{\text{H}_2\text{O}}}{V_{\text{Teilprobe}}} \cdot \frac{r_{\text{Lochmaske}}^2 \cdot \pi}{\text{Bildgröße} \cdot A_{\text{Pixel}} \cdot n_{\text{Bild}}}$$

Z_n = Gesamtzahl der Partikel in Klasse n

z_n = gezählte Partikelzahl in Klasse n

V_{gesamt} = Gesamtvolumen der Suspension

$V_{\text{Mikroskop}}$ = mikroskopiertes Volumen

$V_{\text{Teilprobe}}$ = Volumen der Teilprobe aus der Suspension

$V_{\text{H}_2\text{O}}$ = Volumen des zur Verdünnung zugesetzten Wassers

$r_{\text{Lochmaske}}$ = Radius der Lochmaske des Objektträgers

Bildgröße = x Pixel * y Pixel

A_{Pixel} = Fläche eines Pixels

n_{Bild} = Anzahl der aufgenommenen Bilder

Das Ergebnis ist Tab. 19 zu entnehmen. Die Gesamtmassen liegen alle um etwa eine Größenordnung zu hoch, mit Ausnahme der Gesamtmasse bei Plattengeometrie, die aber für die meisten Mineralkörner unrealistisch ist.

Tab. 19

Vergleich der aus den Bildanalysedaten errechneten Gesamtmassen für Quarz ($\rho = 2,6 \text{ g/cm}^3$), mit verschiedenen Partikelgeometrien.

Partikelzahl Probe J2_3iSED: 2,37789E+11, Probenmenge J2: 3,71 g,
verwendete Teilmenge J2_3 (geschätzt): ca. 1 g

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid
Seitenverhältnis		ka = 2	ka = 2		kb = 4
			kc = 100		
Gesamtvolumen [cm ³]	7,62	4,67	0,09	11,29	2,82
Gesamtmasse (Qz) [g]	19,81	12,13	0,24	29,34	7,34

Zum Vergleich wurde dieselbe Probe mit einem „Coulter Counter“ gemessen, um eine Volumenverteilung zu erhalten. Die Häufigkeiten der Volumenklassen wurden auf ein Gesamtvolumen aufsummiert und mit der Dichte von Quarz multipliziert.

ANHANG C

C.1 Fehlerabschätzung für die Berechnung der Partikelmassen aus der Längenmessung

Zur Untersuchung möglicher Fehlerquellen bei der Berechnung der Partikelmassen aus der Längenmessung mittels Bildauswertung wurden folgende Annahmen überprüft:

a) Die Verdünnung wurde falsch berechnet.

Selbst eine grobe Veränderung der Werte für die Berechnung der absoluten Partikelzahlen in den Suspensionen (Probenvolumen, Verdünnung etc.) erbrachte eine Änderung der aus den absoluten Partikelzahlen (Kap.3.1.4) errechneten Gesamtmasse, um nur etwa eine Größenordnung (Tab. 20).

Tab. 20

Änderung der Gesamtmassen mit unterschiedlichen Werten für die Berechnung der absoluten Partikelzahl in den Suspensionen.

Die Volumenmodelle blieben unverändert.

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid	Werte zur Berechnung der absoluten Partikelzahl	
Gesamtmasse (Quarz) [g]	19,81	12,13	0,24	29,34	7,34	Ø Lochmaske Objektträger	7 mm
						Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	5 µl
						Verdünnung	7-fach
						Gesamtvolumen der Suspension	400 ml
Gesamtmasse (Quarz) [g]	3,87	2,37	0,05	5,73	1,43	Ø Lochmaske Objektträger	5 mm
						Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	7 µl
						Verdünnung	5-fach
						Gesamtvolumen der Suspension	300 ml

Allein aus einer falschen quantitativen Berechnung lässt sich der hohe Wert für die Gesamtmasse nicht erklären.

b) Es wurden zu viele kleine Partikel gemessen.

Vernachlässigt man alle Partikel < 10 µm, sieht das Ergebnis wie folgt aus (Tab. 21):

Tab. 21

Gesamtmassen ohne die Partikel < 10 µm.

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid	Werte zur Berechnung der absoluten Partikelzahl	
Gesamtmasse (Qz) [g]	5,98	3,66	0,07	8,85	2,21	Ø Lochmaske Objektträger	7 mm
						Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	5 µl
						Verdünnung	7-fach
						Gesamtvolumen der Suspension	400 ml

Es ist augenscheinlich, dass allein eine Überschätzung der Partikelzahlen kleiner Korngrößen nicht der Grund sein kann.

c) Es wurden zu viele große Partikel gemessen

Werden alle Partikel $\geq 15 \mu\text{m}$ vernachlässigt, zeigt sich nur eine geringfügige Änderung der Massen (Tab. 22).

Tab. 22

Gesamtmassen ohne die Partikel $\geq 15 \mu\text{m}$.

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid	Werte zur Berechnung der absoluten Partikelzahl	
Gesamtmasse (Qz) [g]	17,43	10,68	0,21	25,82	6,45	Ø Lochmaske Objektträger	7 mm
						Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	5 µl
						Verdünnung	7-fach
						Gesamtvolumen der Suspension	400 ml

Selbst wenn nur der Bereich zwischen 10 und 15 μm berücksichtigt wird, sind die ermittelten Gesamtmassen um etwa eine Größenordnung zu groß.

ANHANG C

C.1 Fehlerabschätzung für die Berechnung der Partikelmassen aus der Längenmessung

Zur Untersuchung möglicher Fehlerquellen bei der Berechnung der Partikelmassen aus der Längenmessung mittels Bildauswertung wurden folgende Annahmen überprüft:

a) Die Verdünnung wurde falsch berechnet.

Selbst ein grobe Veränderung der Werte für die Berechnung der absoluten Partikelzahlen in den Suspensionen (Probenvolumen, Verdünnung etc.) erbrachte eine Änderung der aus den absoluten Partikelzahlen (Kap.3.1.4) errechneten Gesamtmasse, um nur etwa eine Größenordnung (Tab. 20).

Tab. 20

Änderung der Gesamtmassen mit unterschiedlichen Werten für die Berechnung der absoluten Partikelzahl in den Suspensionen.

Die Volumenmodelle blieben unverändert.

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid
Gesamtmasse (Quarz) [g]	19,81	12,13	0,24	29,34	7,34

Gesamtmasse (Quarz) [g]	3,87	2,37	0,05	5,73	1,43
-------------------------	------	------	------	------	------

Werte zur Berechnung der absoluten Partikelzahl	
Ø Lochmaske Objektträger	7 mm
Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	5 µl
Verdünnung	7-fach
Gesamtvolumen der Suspension	400 ml

Ø Lochmaske Objektträger	5 mm
Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	7 µl
Verdünnung	5-fach
Gesamtvolumen der Suspension	300 ml

Allein aus einer falschen quantitativen Berechnung lässt sich der hohe Wert für die Gesamtmasse nicht erklären.

b) Es wurden zu viele kleine Partikel gemessen.

Vernachlässigt man alle Partikel < 10 µm, sieht das Ergebnis wie folgt aus (Tab. 21):

Tab. 21

Gesamtmassen ohne die Partikel < 10 µm.

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid
Gesamtmasse (Qz) [g]	5,98	3,66	0,07	8,85	2,21

Werte zur Berechnung der absoluten Partikelzahl	
Ø Lochmaske Objektträger	7 mm
Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	5 µl
Verdünnung	7-fach
Gesamtvolumen der Suspension	400 ml

Es ist augenscheinlich, dass allein eine Überschätzung der Partikelzahlen kleiner Korngrößen nicht der Grund sein kann.

c) Es wurden zu viele große Partikel gemessen

Werden alle Partikel $\geq 15 \mu\text{m}$ vernachlässigt, zeigt sich nur eine geringfügige Änderung der Massen (Tab. 22).

Tab. 22

Gesamtmassen ohne die Partikel $\geq 15 \mu\text{m}$.

	Würfel	Quader	Platte	Kugel	Ellipsoid	Werte zur Berechnung der absoluten Partikelzahl	
Gesamtmasse (Qz) [g]	17,43	10,68	0,21	25,82	6,45	Ø Lochmaske Objektträger	7 mm
						Pipet. Teilvolumen zur Mikroskopie	5 µl
						Verdünnung	7-fach
						Gesamtvolumen der Suspension	400 ml

Selbst wenn nur der Bereich zwischen 10 und 15 μm berücksichtigt wird, sind die ermittelten Gesamtmassen um etwa eine Größenordnung zu groß.

Forschungszentrum Jülich



Jül-3968
Februar 2002
ISSN 0944-2952

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. H. Schleser, Leiter der Projektgruppe Isotopengeochemie und Paläoklima am Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre (ICG-4) und Herrn Prof. Dr. J. F. W. Negendank gilt mein besonderer Dank für die Bereitstellung des Themas und die Betreuung bzw. wissenschaftliche Unterstützung im Rahmen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. W. Hubberten sei für die Übernahme des Gutachtens gedankt.

Herrn Dr. H. Vos gilt mein großer Dank für die mathematische Betreuung und zahlreichen Hilfestellungen.

Für die Unterstützung und die vielen Anregungen, die zu dieser Arbeit beigetragen haben danke ich Herrn Dr. A. Lücke.

Herrn Dr. R. Wilhelm sei recht herzlich gedankt für die Hilfe bei der Entwicklung der Bildverarbeitungs-Technik.

Unserem Techniker Herrn W. Knörchen möchte ich für seine technische Hilfe und Unterstützung danken.

Herrn Dr. H. Jungner vom Radiokarbon-Datierungslabor der Universität Helsinki gilt mein Dank für die Anregungen zur Partikeltrennung mittels magnetischer Methoden.

Herrn Dr. E. Hegewald sei gedankt für die Hilfestellung bei der Bestimmung der Diatomeenarten.

Für die Bereitstellung der Sedimentfallen-Proben aus dem Holzmaar danke ich Herrn Dipl. Geogr. R. Moschen. Die Probe aus dem schweizer Bachsee wurde von Frau S. Hausmann vom Geobotanischen Institut der Universität Bern zur Verfügung gestellt. Die Probe aus dem Huguang Maar (China) wurde mir von Dr. J. Mingham überlassen. Dafür herzlichen Dank.

Den KollegInnen des ICG-4, insbesondere der Projektgruppe Isotopengeochemie und Paläoklima sei für ihre Unterstützung, Diskussionsfreudigkeit und die freundliche Aufnahme gedankt. In diesem Sinne sei auch den KollegInnen des ICG-6 gedankt.

Sari und allen meinen Freunden danke ich für die schöne Zeit.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mir diesen Lebensweg ermöglicht haben.