

Hamburger Grün – eine neue Variante „Etzold-Grün“: Neufuchsin-Chrysoidin-Alcianblau-Titangelb (NCAT-Färbung) **Botanik**

Benötigte Chemikalien:

Neufuchsin (CI 42520), Chrysoidin (CI 11270), Alcianblau (CI 74240), Titangelb (CI 19540), denat. Ethanol (kein Brennspritus), Isopropanol 100%ig, Eisessig, ggfs. Xylol

Bemerkung:

Etzold-FCA (<http://www.aeisner.de/methoden/farb70.html>) wurde nun weiter modifiziert, da taugliches Alciangelb für eine Grünfärbung vom Markt verschwunden ist. Wegen der negativ geladenen Sulfonatgruppen im Titangelb ist nur eine sequenzielle Färbung nach Alcianblau möglich! Simultanfärbungen mit Alcianblau und noch mehr mit Astrablau führen zu sofortigen Ausfällungen. Saure Bedingungen sind in wässriger Lösung zu vermeiden, da dann die Löslichkeit von Titangelb rapide abnimmt. Ansonsten ist die Anwendung sehr einfach und gelingt reproduzierbar mit hoher Trennschärfe zu lignifizierten Bereichen.

Literatur: NWV Hamburg

Arbeitsablauf:

- Entparaffinierte Schnitte gründlich in Aqua dest. spülen
- Neufuchsin-Chrysoidin-Farblösung 5-8 min. gelegentlich schwenken
- kurz abspülen in Aqua dest.
- in zwei Portionen Ethanol 30%ig abspülen (je 30 s)
- in Ethanol 70%ig differenzieren (ca. 30-120 s)
- in zwei Portionen Ethanol 30%ig abspülen (je 30 s)
der Rest der überschüssigen Farbstoffe geht ab
- Alcianblau-Färbelösung 2 min mit einmaligem Erwärmen auf ca. 60°C
- gut abspülen in Aqua dest.
- Titangelb-Färbelösung 2 min
- gut abspülen in Aqua dest.
- Entwässern in 3-4 Portionen abs. Isopropanol (je 1 min)
- je nach Einschlussmittel über Xylol oder gleich in Euparal einschließen

Ansätze:

- **Neufuchsin-Chrysoidin-Farblösung:** 10 mg Neufuchsin und 20 mg Chrysoidin werden in 98 ml dest. Wasser und 2 ml Eisessig gelöst und filtriert, dann mit einigen Kristallen Thymol versetzt. Der Ansatz ist 0.01%ig bezogen auf Neufuchsin und 0.02% bezogen auf Chrysoidin

Variation: möglicherweise ist der Ansatz nach Aeisner zu gering gewählt, daher alternativ färben mit: 50 mg Neufuchsin und 100 mg Chrysoidin werden in 98 ml dest. Wasser und 2 ml Eisessig gelöst und filtriert, dann mit einigen Kristallen Thymol versetzt. Der Ansatz ist 0.05%ig bezogen auf Neufuchsin und 0.1% bezogen auf Chrysoidin

- **Alcianblau-Farblösung:** 0.2%ige Lösung in sterilem Wasser mit 2% Eisessig filtrieren, Zugabe von wenigen Kristallen Thymol
- **Titangelb-Farblösung:** 0.5%ige Lösung von Titangelb in sterilem Wasser 2-3 h bei ca. 45°C rühren, über Nacht auf Raumtemperatur abkühlen lassen und filtrieren. Anschließend kann das Volumen durch Zugabe von 10% sterilem Wasser verdünnt werden, um Ausfällungen infolge von Temperaturerniedrigungen vorzubeugen. Optional: Zugabe von wenigen Kristallen Thymol. Ansatz ohne Eisessig!

Hamburger Grün – eine neue Variante „Etzold-Grün“, modifiziert: Neufuchsin-Chrysoidin-Alcianblau-Titangelb (NCAT-Färbung) Botanik

Benötigte Chemikalien:

Neufuchsin (CI 42520), Chrysoidin (CI 11270), Alcianblau (CI 74240), Titangelb (CI 19540), denat. Ethanol (kein Brennspritus), Isopropanol 100%ig, Eisessig, ggfs. Xylol

Bemerkung:

Etzold-FCA (<http://www.aeisner.de/methoden/farb70.html>) wurde nun weiter modifiziert, da taugliches Alciangelb vom Markt verschwunden ist. Wegen der negativ geladenen Sulfonatgruppen im Titangelb ist nur eine sequenzielle Färbung nach Alcianblau möglich! Simultanfärbungen mit Alcianblau und noch mehr mit Astrablau führen zu sofortigen Ausfällungen. Saure Bedingungen sind in wässriger Lösung zu vermeiden, da dann die Löslichkeit von Titangelb rapide abnimmt. Ansonsten ist die Anwendung sehr einfach und gelingt reproduzierbar mit hoher Trennschärfe zu lignifizierten Bereichen.

Jörg Weiß vom MKB optimierte die Färbung mit großem Erfolg hinsichtlich der Sequenz Neufuchsin gefolgt von Chrysoidin mit unterschiedlichen Zeiten sowie Erwärmen und Verwendung höherer Konzentrationen als im Original-FCA-Rezept angegeben!

Literatur: [NWV Hamburg](#), [Modifikation Jörg Weiß, MKB](#)

Arbeitsablauf:

- Entparaffinierte Schnitte gründlich in Aqua dest. spülen
- Neufuchsin-Farblösung 5-8 min., gelegentlich schwenken
- abspülen in Aqua dest., bis keine Farbe mehr abgeht
- Chrysoidin-Farblösung 2 min mit einmaligem leichten Erwärmen bis kurz vor dem Siedepunkt
- abspülen in Aqua dest., bis keine Farbe mehr abgeht
- in zwei Portionen Ethanol 30%ig abspülen (je 30 s)
- in Ethanol 70%ig differenzieren (ca. 60-120 s)
- in zwei Portionen Ethanol 30%ig abspülen (je 30 s), der Rest der überschüssigen Farbstoffe geht ab
- Alcianblau-Färbelösung 2-3 min
- gut abspülen in Aqua dest., bis keine Farbe mehr abgeht
- Titangelb-Färbelösung 2 min
- gut abspülen in Aqua dest., bis keine Farbe mehr abgeht
- Entwässern in 3-4 Portionen abs. Isopropanol (je 1 min)
- je nach Einschlussmittel über Xylol oder gleich in Euparal einschließen

Ansätze:

- **0.1%ige Neufuchsin-Farblösung:** 100 mg Neufuchsin werden in 98 ml dest. Wasser und 2 ml Eisessig gelöst und filtriert, dann mit einigen Kristallen Thymol versetzt
- **1%ige Chrysoidin-Farblösung:** 300 mg Chrysoidin werden in 30 ml dest. Wasser gelöst und filtriert, dann mit einigen Kristallen Thymol versetzt
- **Alcianblau-Farblösung:** 0.2%ige Lösung in sterilem Wasser mit 2% Eisessig filtrieren, Zugabe von wenigen Kristallen Thymol
- **Titangelb-Farblösung:** 0.5%ige Lösung von Titangelb in sterilem Wasser 2-3 h bei ca. 45°C rühren, über Nacht auf Raumtemperatur abkühlen lassen und filtrieren. Anschließend kann das Volumen durch Zugabe von 10% sterilem Wasser verdünnt werden, um Ausfällungen infolge von Temperaturerniedrigungen vorzubeugen. Optional: Zugabe von wenigen Kristallen Thymol. Ansatz ohne Eisessig!

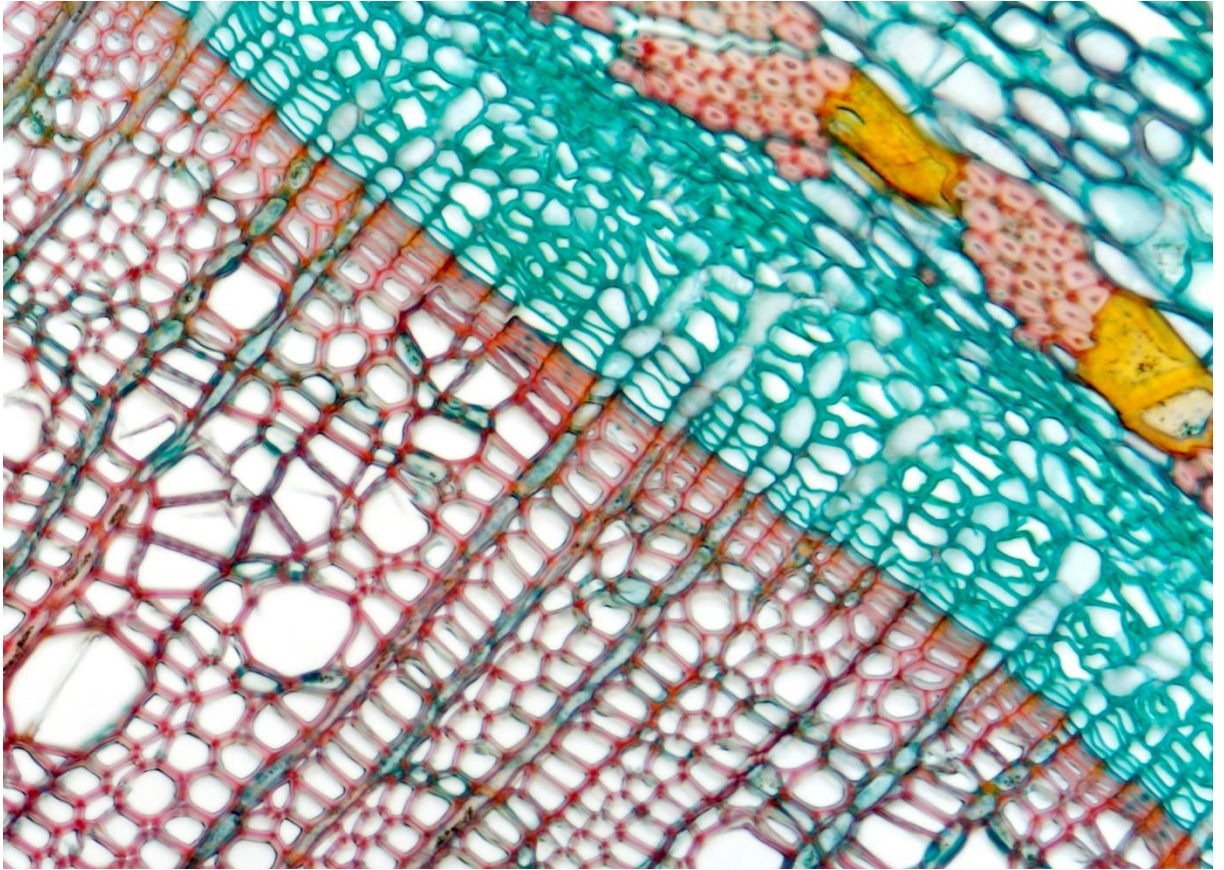


Abb. 1: Radialschnitt eines frischen Haselnusszweiges 25 μm , sequenziell gefärbt mit Neufuchsin/Chrysoidin, Alcianblau und zum Schluss mit Titangelb. Zeiss PlanApo 10x am Phomi III, Tubusfaktor 2.0, Euparal