



Hettich Zentrifugen in der Umweltanalytik Diatomeenpräparation zur Gewässeranalyse

Im Rahmen der EU-Wasserrahmenrichtlinie müssen die Gewässer bis 2015 eine definierte Qualität aufweisen. Bei biologischen Labortests kommen Zentrifugen vielfältig zum Einsatz. Ein Beispiel hierzu ist die Diatomeenpräparation.

Vorgehensweise*):

Die Wasserprobe wird zunächst durch Zentrifugation angereichert.

Zentrifugationsparameter für die Anreicherung bzw. Reinigung:

RCF:	625 (entspricht ca. 2.000 min ⁻¹ , je nach Rotor)
Laufzeit:	10 min
Volumen:	50 ml oder größer
Temperatur:	Raumtemperatur

Überstand vorsichtig abkippen und Pellet mit H₂O₂ 30%ig versetzen (Vol. 30 ml) und mehrere Stunden einwirken lassen (am besten über Nacht). Dadurch werden die Kieselsäureskelette der Diatomeen gereinigt und sind somit klarer erkennbar.

Das H₂O₂ wird dann durch Waschen wieder entfernt, denn es ist sehr reaktiv (ätzend, reizend und korrodierend). Auch hierbei wird zentrifugiert, die Zentrifugationsparameter sind wie oben aufgeführt. Es wird 4 Mal mit Aqua destillata gewaschen.

Achtung: Geschlossene Gefäße aus Kunststoff verwenden und darauf achten, dass kein H₂O₂ mit den Metallteilen der Zentrifuge in Berührung kommt (möglichst auch nicht dampfförmiges H₂O₂)! Sicherheitsvorschriften im Umgang mit H₂O₂ berücksichtigen!

Nach dem vierten Waschgang wird der Überstand bis auf einen kleinen Resttropfen abgekippt. Das Pellet wird kräftig aufgeschüttelt und ein Tropfen der so gewonnenen Diatomeen-Suspension auf ein Deckglas getropft. Dieser Tropfen wird an der Luft getrocknet und anschließend „über Kopf“ eingedeckt.

Alternative**):

Anwendung des Hettich Zyto-Zubehörs

Um ein relativ großes Volumen (max. 8 ml) verarbeiten zu können, sodass ein dichteres Sediment erzielt wird, empfehlen wir die Anwendung unseres Zyto-Zubehörs. Nach dem vierten Waschschritt wird ein größeres Volumen im Röhrchen belassen (z.B. 10 ml). Dann wird ein Zyto-Einsatz montiert, bestehend aus einem beschrifteten handelsüblichen Objektträger, einer Spannplatte und einer Zytokammer. In die Zytokammer wird nun die angereicherte Probe gefüllt und dann der Einsatz in das entsprechende Gehänge gesetzt. Achtung: Stets zwei gegenüber liegende Gehänge beschicken!

Durch die nun folgende Zentrifugation werden die suspendierten Partikel, die sich in der Probe befinden, auf den Objektträger sedimentiert. Nach der Zentrifugation wird der Überstand abgekippt und der Zyto-Einsatz auseinandergebaut. Nun befindet sich ein rundes, 240 mm² großes feuchtes Sediment auf dem Objektträger, das überwiegend aus Diatomeen besteht. Dieses wird nun luftgetrocknet. Das Sediment befindet sich stets an der gleichen Stelle auf einem Objektträger und hat die gleiche Größe; dadurch wird das Ergebnis reproduzierbarer und ist leichter auszuwerten.

Zentrifugationsparameter

RCF:	225 (entspricht ca. 1.200 min ⁻¹ , je nach Rotor)
Laufzeit:	5 min
Volumen:	8 ml
Temperatur:	Raumtemperatur

Um Verdunstungsartefakte in Form von Kristallen o. ä. auf dem Objektträger zu vermeiden, empfiehlt es sich, die feuchten Zellsedimente auf einer Heizplatte zu trocknen.

*1) nach Lüttig & Friends GbR, Die Biologinnen, Berlin

**2) eigene Methodenentwicklung

Die meisten Zentrifugen von Hettich können für die beschriebene Anwendung verwendet werden. Als Vorschlag haben wir ein gängiges Modell gewählt, mit dem beide Vorgehensweisen praktiziert werden können.

Bestellinformationen

Zentrifuge	Bestell-Nr.
ROTOFIX 32 A	1206

Zubehöerauswahl (für die Vorgehensweise nach Lüttig & Friends)	Bestell-Nr.
4-fach-Ausschwingrotor	1624
Gehänge für Röhrchen bis zu 100 ml Fassungsvermögen	1381
Deckel mit Bioabdichtung für Gehänge 1381	1382
Adapter für konische 50 ml Röhrchen mit Schraubverschluss	1384

**Wenn ein anderes Probengefäß zentrifugiert werden soll,
ist ein anderer Adapter erforderlich. Wir beraten Sie gern!**

Zubehöerauswahl (für die alternative Vorgehensweise mit Hettich Zyto-Zubehör)	Bestell-Nr.
4-fach-Ausschwingrotor	1624
Gehänge für Zyto-Einsatz, passend in Rotor 1624	1660
Spannplatte mit Ring zur Aufnahme eines Objektträgers, passend in Gehänge 1660	1662
Zytokammer für ein Probenvolumen von 8 ml	1666