

Jahr 1989	Mitteilungen der Mikro AG Stuttgart e. V.	Heft 8
----------------------	--	-------------------

Polyvinylalkohol als Einschlussmittel für Dauerpräparate

Dr. Felix Schumm

1. Einleitung

Um gefärbte Mikrotomschnitte dauerhaft zu präparieren, schließt man sie in der Regel in durchsichtige Kunstharze wie Malinol etc. ein. Diese Kunststoffe sind allerdings alle nicht wasserverträglich, und daher muß in dem zu konservierenden Schnitt das Wasser zuvor durch ein Lösungsmittel des Kunstharzes ersetzt werden. Meist nimmt man Xylol, Methylbenzoat oder Terpeneol. Würde man den Schnitt direkt aus Wasser in den Kunststoff überführen, so würde sich eine Art Emulsion aus Wasser und Kunststoff bilden, und man könnte das Objekt unter dem Schwarm der im Präparat entstandenen kleinen Wassertröpfchen nicht mehr erkennen. Schlecht entwässerte Präparate zeigen manchmal solche Trübungsstellen.

Zur Schnellpräparation dicker, ungefärbter Handschnitte oder kleiner Totalobjekte, die man nicht entwässern möchte, verwendet man daher wasserhaltige Einschlussmittel wie Glyceringelatine, Gummi-, Zucker- oder Polyvinylalkohollösungen. Leider halten sich in diesen Mitteln jedoch gängige Färbungen nicht und bluten meist bald aus. Für viele, insbesondere botanisch-systematische Zwecke oder Massenware sind diese Einschlussmittel trotzdem sehr hilfreich. Die Mittel sind leicht zu verarbeiten und der Präparationsaufwand sehr gering.

2. Polyvinylalkohol als Einschlussmittel

Polyvinylalkohol ist als weißes wasserlösliches Pulver im Handel erhältlich. Löst man den Alkohol in Wasser auf und mischt anschließend Glycerin bei, so entsteht beim Eindunsten einer solchen Lösung eine durchsichtige geleeartige Masse von ähnlicher Konsistenz wie Glyceringelatine. Die üblichen Rezepte enthalten außerdem noch Milchsäure und manchmal auch Phenol (= "Polyvinyl-Lactophenol" zum Einschluss von Milben. Für botanische Zwecke völlig ungeeignet!) als Aufhellungsmittel, um die Präparate durchscheinender zu machen.

2.1 Gemisch nach Gray und Wess

Polyvinylalkohol	2 g
70% Aceton	7 ccm
Glycerin	5 ccm
Milchsäure	5 ccm
Wasser	10 ccm

Herstellungsvorschrift (aus Gerlach, 1969):

Man verreibt zunächst 2 g Polyvinylalkohol mit 7 ml Aceton zu einer homogenen Paste und verrührt dann diese mit einem Gemisch aus 5 ml Aqua dest., 5 ml Glycerin und 5 ml Milchsäure. Hierzu gibt man tropfenweise 5 ml Aqua dest. und erhält dann eine stark getrübbte Lösung. Diese wird dann ca 10 Minuten auf einem kochenden Wasserbad erhitzt, bis sie vollkommen klar geworden ist und keine Flocken des Polyvinylalkohols mehr sichtbar sind.

3. Eigene Erfahrungen mit dem Polyvinylalkohol der Fa. Chroma:

3.1. Der Acetonzusatz ist von fraglichem Wert!

Wenn man versucht, den Alkohol mit Aceton zu verreiben, stellt man fest, dass er sich in Aceton gar nicht oder nur sehr schlecht löst. Man erhält bestenfalls eine Suspension. Es ist mir daher nicht klar geworden, was für eine Aufgabe das Aceton übernehmen soll. Leider kenne ich die Originalveröffentlichung und die Begründung für den Sinn des Acetons nicht. Ich kann darüber nur Vermutungen anstellen. Mit Aceton trocknet das Einschlussmittel wesentlich rascher als ohne. Diesem Vorteil stehen jedoch erhebliche Nachteile gegenüber: Acetonhaltige Gemische zeigen beim Eintrocknen einen ungeheuren und raschen Volumenschwund, so dass sich, wenn man nicht sehr aufpasst, hässliche Luftblasen vom Deckglasrand in das Dauerpräparat einziehen und dieses ggf. völlig zerstören.

Zarte Objekte (z.B. Algen, Moosblättchen) zeigen, wenn man sie aus Wasser in das acetonhaltige Einbettungsmedium überträgt, hässlichste Schrumpfungen wie bei einem direkten Einschluss in konzentrierter Glyceringelatine. Nach meiner Ansicht ist es am besten, auf den Acetonzusatz völlig zu verzichten. Zudem lässt sich die Herstellung des Gemisches wesentlich vereinfachen:

Jahr 1989	Mitteilungen der Mikro AG Stuttgart e. V.	Heft 8
----------------------	--	-------------------

3.2. Mein Rezept

Ca. 2 g Polyvinylalkohol in 10-15 ml heißem Aqua dest. auflösen (in kaltem Wasser braucht es sonst recht lange) und dann 5 ml Milchsäure und 5 ml Glycerin hinzufügen.

Bei stark zu Schrumpfungen neigenden Objekten kann man die Lösung auch noch stärker mit Wasser verdünnen. Sie zeigt dann beim Eintrocknen natürlich einen stärkeren Volumenschwund, so dass man unter Umständen nach einem halben Tag am Deckglasrand noch weiteres Einschlussmittel hinzufügen muss. Ich verwende meist Lösungen honigartiger Konsistenz.

3.3. Anwendungsbeispiel: Dauerpräparate von Moosblättchen

Die Moosblättchen werden in Wasser untersucht. Wenn man aus dem Präparat ein Dauerpräparat machen will, tropft man an den Rändern des Deckglases einen kräftigen Streifen Einschlussmittel auf und lässt den Objektträger einige Tage horizontal liegen. Das Einschlussmittel wird so von selbst unter das Deckglas gesaugt, und das überschüssige Wasser verdunstet. Mit einem Skalpell ist das überschüssige Einschlussmittel leicht zu entfernen. Es empfiehlt sich eine Umrandung mit farblosem Nagellack.

3.4. Färbungen in Gray-Wess

Durch den hohen Milchsäureanteil sind Färbungen nicht haltbar. Man kann jedoch dem Einschlussmittel selbst saure Anilinfarben zusetzen. Zur Präparation von Ascuspilzen und Flechten verwende ich eine Lösung, der ich etwas Säurefuchsin und Anilinblau beigemischt habe. Im Laufe von einer Stunde bis einigen Tagen entwickeln sich oft interessante Doppelfärbungen (z.B. Sporen rot, Paraphysen blau). Die geringe Eigenfärbung des Einschlussmittels stört nicht. Die Intensität des Farbkontrastes ändert sich jedoch mit der Zeit, so dass man günstige Färbungsstufen am besten photographisch festhält

Polyvinylalkohol ist erhältlich bei der Fa. Chroma, Küferstr.2, 7316 Köngen, Tel:07024/83646.

Literatur:

Gerlach, D. (1969) - Botanische Mikrotechnik, Stuttgart
Krauter, D. (1959) - Mikroskopie im Alltag, Stuttgart