

# Erstellen eines Paraffinblocks

## Vorbemerkung:

Bei der Paraffineinbettung spielt die Wahl der richtigen Paraffinsorte eine wichtige Rolle. Paraffin unterscheidet sich nach seinem Schmelzpunkt.

Das Medium (Paraffin) muss mindestens die Härte des Schnittobjektes besitzen. Paraffinschmelzpunkte liegen bei 42°, 48°, 52°, 58°, 60°, 63°, wobei man mit dem 42er einen weichen Block und mit höheren Schmelzpunkten jeweils einen härteren Block erhält. Die gebräuchlichste Sorte ist sicherlich das 58°-Paraffin.

Ich habe das Paraffin „Paraplast Plus“ von Leica Biosystems. Der Schmelzpunkt liegt bei 56° C. Ein niedriger Schmelzpunkt schont das Gewebe und liefert ein flüssiges Paraffin schon bei 60°C.

Der Moos-Pflanzenstamm (Widertonmoos) wird auf ca. 2 cm lange Stücke geschnitten und in Fixierflüssigkeit (AFE) gelegt. Verwendung von Schnappdeckelgläsern.

## Entwässern:

Bevor man Objekte (Moos-Pflanzenstämme) in Paraffin einbettet, müssen sie entwässert werden.

Die Objekte lagen mindestens für 24 Stunden in der Fixierflüssigkeit (AFE). Anschließend kommen sie für ca. 24 Stunden in 50%-Ethanol, danach für ca. 24 Stunden in 70%-Ethanol, danach für ca. 24 Stunden in 96%-Ethanol und abschließend für ca. 24 Stunden in 100%-Isopropanol.

## Infiltrieren:

Die Objekte kommen für ca. 24 Stunden in ein Xylolbad.

Als Schmelztiegel verwende ich alte Kaffeemilch-Becherchen. Für den Transport der Objekte (Moos-Pflanzenstämme) wird eine vorgewärmte Pinzette benutzt.

Als nächstes wird eine Mischung aus 50% Xylol und 50% geschmolzenem Paraffin hergestellt. Im Wärmeschrank (bei Einschaltpunkt 64°C und Ausschaltpunkt 65°C) werden die Objekte für ca. 5 Stunden in dieser Mischung belassen. Hysterese 61,4°C bis 66°C. Als nächstes wird eine Mischung aus 20% Xylol und 80% geschmolzenem Paraffin hergestellt. Im Wärmeschrank werden die Objekte für ca. 5 Stunden in dieser Mischung belassen. Erst jetzt werden die Objekte für ca. 5 Stunden in Reinparaffin übertragen.

# Erstellen eines Paraffinblocks

## Gießen des Blocks:

Es wird eine Stunde vor dem Guß eine ausreichende Menge Paraplast plus geschmolzen. Im Wärmeschrank bei E=64°C und A=65°C. Ebenso wird das Paraffin des Infiltrationsgefäßes mit den Moosstämmen geschmolzen.

Erste Möglichkeit:

Ich verwende Formen die ich aus Aluminiumfolie geformt habe. Die Innenwände der Form bestreiche ich mit Glycerin und lege diese auf ein Metallblech.

Alternativ: (nicht durchgeführt)

Ich verwende verstellbare Einbettungsrahmchen um die Größe des Paraffinblockes festzulegen. Die Innenwände der Rähmchen bestreiche ich mit Glycerin. Je zwei Rähmchen werden mit einer Zwinge auf die Größe gehalten und liegen auf einem Holzbrett.

In die Form wird flüssiges Paraffin gegossen.

Mit einer angewärmten Pinzette entnimmt man dem Infiltrationsgefäß (Kaffeemilch-Becherchen) die Objekte (Moos.Pflanzenstämme) und überträgt diese in die mit Paraffin gefüllte Form.

Das muss sehr schnell gehen, damit das am Objekt haftende Paraffin nicht erstarrt.

Die oder das Objekt werden so in die Form gelegt, wie sie nachher geschnitten werden sollen.

Sobald alle Objekte übertragen sind, bläst man auf die Oberfläche des Paraffins, bis sich eine dicke Haut gebildet hat.

Anschließend wird die Form in kaltes Wasser getaucht, bis das Paraffin vollständig erstarrt ist. Nach 30 Minuten löst sich meistens der Block und schwimmt an der Wasseroberfläche.

Bei verstellbaren Einbettungsrahmchen löst man nach dem Erstarren die Winkel, so dass der Block sofort frei wird.

Der Paraffinblock muss vor allen Dingen schnell erstarren, da sich sonst in der Blockmitte ein Nabel bildet.

## Aufblocken des Paraffinblocks:

Der Paraffinblock wird so zurechtgeschnitten (schneiden mit einer PUK-Säge, nicht mit einem Messer), dass das eingebettete Objekt ringsum noch eine Paraffinummantelung von mindestens 4 mm behält.

Dann schmilzt man, mit einem Feuerzeug, auf einem Holzklötzchen (die Größe ist passend für den Schraubstock des Mikrotoms) eine kleine Menge Paraffin und gleichzeitig wird mit einem warmen Messer der Boden des Paraffinblockes erwärmt. Der Paraffinblock wird auf das Holzklötzchen aufgesetzt und angedrückt, so dass sich Block und Holzunterlage fest miteinander verbinden

Der Paraffinblock wird dann, bei Bedarf, auf die Größe des Holzklötzchen zurecht geschnitten (PUK-Säge). Die Schnittflächen werden mit einem warmen Messer geglättet.