

# Protocole d'extraction des diatomées

Par Xavier Crosta

- 1- Faire sécher le sédiment à l'étuve (60°C environ).
- 2- Mettre le sédiment sec dans un bêcher, et le recouvrir d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (afin de détruire la matière organique et de favoriser la séparation des valves de diatomées).
- 3- Faire chauffer au bain-marie (65°C) jusqu'à absence d'effervescence. Rajouter H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> si nécessaire.
- 4- Rincer à l'eau distillée par centrifugation (5mn à 2000 tr/mn) jusqu'à pH neutre.
- 5- Sécher à l'étuve (60°C environ).
- 6- Ajouter HCl 10% jusqu'à absence de réaction (afin de détruire les carbonates). On peut augmenter la concentration de HCl à 30% si la réaction persiste avec une concentration de 10%.
- 7- Laver à l'eau distillée par centrifugation (5mn à 2000tr/mn) jusqu'à pH neutre.
- 8- Diluer dans 50ml, ou 100ml, d'eau distillée suivant la quantité de sédiment restant (et de diatomées supposées).
- 9- Homogénéiser la solution obtenue sans créer de gyre (sinon on obtient une stratification des diatomées en fonction de leur poids), et pipeter au centre de la solution avec une pipette de 150µm.
- 10- Déposer 1 ou plusieurs gouttes de la solution, suivant la concentration de celle-ci, sur une lamelle préalablement disposée dans une boîte de pétri et recouverte d'une fine couche d'eau + une goutte de lessive liquide (de marque Calgon en France).
  - La lamelle doit être collée au fond de la boîte. Pour cela, déposer une goutte d'eau distillée au fond de la boîte et poser délicatement la lamelle dessus.
  - La couche d'eau et la lessive liquide permettent une meilleure dispersion des valves de diatomées.
- 11- Afin de favoriser la dispersion des valves de diatomées, remplir immédiatement la boîte de pétri d'eau distillée en un mouvement tournant.

**Remarques:** (1) Chaque échantillon fait l'objet de 3 répliquats (au cas où un problème survienne dans une des boîtes de pétri.

(2) Les étapes 9 à 11 doivent être faites à la suite pour un échantillon (3 boîtes) avant de passer à l'échantillon suivant. Ceci afin d'éviter une sédimentation préférentielle des diatomées les plus lourdes.

12- Afin de favoriser l'évacuation de l'eau distillée, déposer un bout de laine de faible diamètre dans la boîte de pétri sans qu'il touche la lamelle. Il ne faut pas que le débit soit trop fort pour ne pas créer de courant déplaçant les diatomées. Pour cela, compter une nuit de décantation.

13- Une fois sèche, monter entre lames et lamelles avec du NAPHRAX (ou HYRAX). Pour cela, déposer 3 lames par échantillons sur une plaque chauffante (250°C environ). Mettre 2 ou 3 gouttes de liquide de montage sur les lames, et les porter à ébullition. Ensuite, déposer les lamelles sur les lames jusqu'à que le liquide soit bien réparti. Sortir les lames et les déposer sur une surface froide pour permettre la coagulation du liquide de montage.