

## Tesido blando

### Obtención de la muestra..

Debe obtener una porción de tejido blando de aproximadamente 0,3-0,6 mm<sup>3</sup> para ser preparada el mismo día

### Procesamiento de la muestra

Se lava 3 veces por 5 min con solución amortiguadora de fosfato a 0,1 M con pH de 7,4 para fijarla con glutaraldehído al 2,5 o 3% o en paraformaldehído al 2,5% en PBS a 0,1 M por 4 h. ensaye de muestra PBS 0,1 M 3 veces por 10 min. la fijación se realiza entre 1 y 2 h. realiza con tetróxido de osmio al 1% en PBS a 0,1 M.

### Fijación

Se fija con paraformaldehído al 2,5 o 3% y con glutaraldehído al 2,5 o 3%

### Corte

Las fotomicrografías electrónica giran en entorno, los cortes para ME son muchos más delgados (grasos óptimos 50-80 nm) a los cortes para microscopía óptica.

### Inclusión

La inclusión se realiza con óxido de propileno más resina (epón) en una relación de 1:1. la muestra se deja embebida por 16 h. Después de ese lapso, se incluye la muestra en resina, que debe conservarse a una temperatura de 60°C por 24 h. para la obtención de bloque.

### Montaje

Es necesario el empleo de rejillas de oro o cobre para el montaje de los cortes ultrafinos. Las rejillas se resisten con una película de carbono o película plástica delgada de Formvar que sirve de soporte. tal forma que la rejilla sostiene la película, la película a la muestra. montada la muestra, la rejilla debe ser manipulada con suma delicadeza para evitar dañar la preparación.



Sosor Vazquez Lopez 1B

Tejido  
blandos

Obtención de la muestra.

debe obtener una porción de tejido blando de aproximadamente 0,3-0,6 cm<sup>3</sup> Para ser preparada el mismo día

Procesamiento de la muestra

Se lava 3 veces por 5 min con solución amortiguadora de fosfato a 0,1 M con pH de 7,4. para fijarla con glutaraldehído al 2,5% o 3% en paraformaldehído al 2,5% en PBS a 0,1 M por 4 h. enseguida se fija en PBS 0,1 M 3 veces por 10 min. la fijación total entre 1 y 2 h. neutraliza con tetraxido de osmio al 1% en PBS a 0,1 M.

Fijación

Se fija con paraformaldehído al 2,5 o 3% y con glutaraldehído al 2,5 o 3%



## Corte

Las Fotomicrografías electrónica giran en autome, los cortes para ME son muchos más delgados (gresor óptico 50-80 nm) a los cortes para microscopía óptica.



## Montaje

Es necesario el empleo de resinas de oro o Cobalt para el montaje de los cortes ultrafinos. Las resillas se resistan con una película de carbón o película plástica delgada de Formvar que sirve de soporte. tal Formvar que la resilla sostiene la película, la película a la muestra. montada la muestra, la resilla debe ser manipuleada con suma delicadeza para evitar daño la preparación.

## Impulsión muestra

La preparación se realiza con óxido de propileno más resina (epoxi) en una relación de 1:1. La muestra se deja embebida por 16 h. Después de ese lapso, se molde la muestra en resina, que deben conservarse a una temperatura de 60°C por 24 h. para la obtención de bloque.



# Tejido duro

## Obtención de la muestra

En el tejido duro (hueso, corneal, dentina y cemento). Se emplea la MET al final de su procedimiento, la muestra debe ser de 50-100 nm, en el caso de la MEB, el tamaño de la muestra puede ser hasta  $0.3 \text{ cm}^3$  debe encontrarse hidratado para evitar fracturas, las superficies deben estar limpias de todo tejido blando.

## Pulido de la muestra

Se realiza el desgaste de la muestra de 2.0 mm hasta obtener un grosor de 100-120  $\mu\text{m}$ . Se monta el espécimen en un portamuestra y se fija con resina termoplástica ( $300^\circ\text{C}$ ), que debe extenderse de forma homogénea. El portamuestra se coloca en una pulidora orbital, y se pule a través de un sistema liso de diferentes grados de grosor, que van de 1200 a 400.

## Desgaste de la muestra

La muestra se coloca por medio de resina en un portamuestra de acero inoxidable de sistema de preparación de muestra digital. Se coloca sobre esta una solución de pasta de diamante con grano de 6  $\mu\text{m}$  de grosor disperso en Dialab. Este proceso debe ser controlado con la observación en el microscopio fonico. El desgaste debe dejar un grosor en la parte central de la muestra de 195  $\mu\text{m}$ .

## Procesamiento de la muestra

Se prepara un rizador de acetato para formar un rollo de aproximadamente  $10 \times 10 \times 20 \text{ mm}$  para utilizar el poliacrilato de metilo (acrílico - autopolimerizable).

## Corte

La muestra se recorta por medio de una recortadora con disco de diamante (sin diente). La muestra debe estar paralela al diamante; el disco se asegura y se hace avanzar según la velocidad del giro, aproximadamente es de 1000 rpm. La profundidad de los cortes es cerca a los 2,0 mm.

## Montaje de la muestra...

Se monta en una reseta de cobre con perforación central oval, mediante resina epoxi autopolimerizable. Se limpia la muestra y se pinta su periferia con pintura de plata para ME, (la pintura convierte a la muestra en conductor eléctrico).

## Recubrimiento de conducción

Tanto para la MET como para la MEB, se debe realizar un sombreado de la muestra con un material conductor, el cual puede ser de oro, platino, sin embargo el carbono. Se coloca la muestra en la base de la cámara yador de carbono, aplicando filamentos impregnados con carbono. Se crea un vacío de 50 militorr y se hace pasar una corriente eléctrica por el filamento. La fina película de carbono que cubre la muestra permite el paso de electrones durante su observación mediante el MET.

## Erosión iónica de la muestra

En este paso es un gran importancia realizada debido a que la muestra debe ser erosionada para adelgazar la parte central que es el sitio de la observación con MET. La erosión se realiza en un equipo denominado ion mill (molino de iones).

Una vez colocada la muestra, se cierra el equipo para obtener el vacío de Torr, se posiciona la muestra dentro de la cámara y se activa la rotación del espécimen, el proceso de rotación es lento para el desgaste homogéneo de la muestra por medio de electrones y tiene un tiempo variable. La erosión en una muestra de diente se realiza a  $0,83 \text{ nm/h}$ .



# Tesido duro

## Obtención de la muestra

En el tejido duro (hueso, esmalte, dentina y cemento). Se emplea la MGT al final de su procesamiento, la muestra debe ser de 50-100 nm, en el caso de la MEB, el tamaño de la muestra puede ser hasta  $0,5 \text{ cm}^3$ . debe encontrarse hidratado para evitar fracturas, las superficies deben estar limpia de todo tejido blando.

## Pulido de la muestra

Se realiza el desgaste de la muestra de 2,0 mm hasta obtener un grosor de 100-120  $\mu\text{m}$ . Se monta el espécimen en un portamuestra y se fija con resina termoplástica ( $300^\circ\text{C}$ ), que debe extenderse de forma homogénea. El portamuestra se coloca en una pulidora orbital, y se pule a través de un sistema lijo de diferentes grados de grosor, que van de 1200 a 400.

## Desgaste de la muestra

La muestra se coloca por medio de resina en un portamuestra de acero inoxidable de sistema de preparación de muestra digital. Se coloca sobre esta una solución de pasta de diamante con grano de 6  $\mu\text{m}$  de grosor disperso en Dialob. Este proceso debe ser controlado con la observación en el microscopio fonico. El desgaste debe dejar un grosor en la parte central de la muestra de 18  $\pm 2 \mu\text{m}$ .

## Procesamiento de la muestra

Se prepara un cañon de acetato para formar un columna de aproximadamente  $10 \times 10 \times 20 \text{ mm}$  para vaciar el poliacrilato de metilo (acrilico - autopolimerizable).

## Corte

La muestra se recorta por medio de una recortadora con disco de diamante (8m diámetro). La muestra debe estar paralela al diamante; el disco se asegura y se hace avanzar según la velocidad del giro, aproximadamente es de 1000 rpm. La profundidad de los cortes es cerca a los 2,0 mm.

## Montaje de la muestra..

Se monta en una rejilla de cobre con perforación central oval, mediante resina epoxica catalizable. Se limpia la muestra y se pinta su periferia con pintura de plata para ME, (la pintura convierte a la muestra en conductor eléctrico)



## Recubrimiento de Conducción

Tanto para la MET como para la MEB, se debe realizar un sombreado de la muestra con un material conductor, el cual puede ser de oro, platino, sin embargo más el carbono. Se coloca la muestra en la base de la cámara de carbono, aplicando filamentos impregnados con carbono. Se crea un vacío de 50 militorr + se hace pasar una corriente eléctrica por el filamento. Un filamento de carbono que cubre la muestra permite el paso de electrones durante su observación mediante el MET.

## Erosión iónica de la muestra

En este paso es un gran importancia + cuidado debido a que la muestra debe ser erosionada para adelgazar la parte central que es el sitio de la observación con MET. La erosión se realiza en un equipo denominado ion mill (molino de iones)

Una vez colocada la muestra, se cierra el equipo para obtener el vacío de Torr, se posiciona la muestra dentro de la cámara + se activa la rotación del espécimen, el proceso de rotación es lento para el desgaste homogéneo de la muestra por medio de electrones + tiene un tiempo variable. La erosión en una muestra de diente se realiza a 0,83 mm/h.