

PREPARACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE TEJIDOS

BLANDOS

OBTENCIÓN: Se debe obtener una porción de tejido blando de aproximadamente 0,3-0,6mm para ser preparada el mismo día.

PROCESAMIENTO: El tejido se lava 3 veces con solución amortiguadora de fosfatos (PBS), enseguida fijarla con glutaraldehído o paraformaldehído al 2,5%, enjuagar la muestra con PBS y por último deshidratar la muestra con cetona y alcohol (30 - 96%) respectivamente.

FIJACIÓN: Cuando las muestras ya están lavadas, se fija con paraformaldehído al 2,5 o 3% y con glutaraldehído al 2,5 o 3%.

INCLUSIÓN: La preinclusión se realiza con óxido de propileno (Epon) en una relación de 1:1, las muestras se dejan por 16 hrs. Se conserva a una temperatura de 60°C y se deja enfriar formándose la pirámide.

CORTE: Los cortes de ME son de un grosor óptimo de nm y para microscopía óptica debe ser un corte con cuchillos de diamante o de vidrio, el corte debe ser de 100-150nm.

MONTAJE: Es necesario el empleo de rejillas de oro o cobre para el montaje de los cortes ultrafinos para permitir el paso de electrones.

DUROS

OBTENCIÓN: El tejido duro: hueso, esmalte, dentina, y cemento, al inicio no tiene una dimensión específica. La muestra puede ser de 50-100nm, en el caso del MEB la muestra puede ser de hasta 0,5 cm³.

PULIDO DE LA MUESTRA: Se realiza el desgaste de la muestra de 2,0mm hasta 100-120 μm. - Se monta el espécimen en un portamuestras y se fija con resina termoplástica (300°C) - La muestra debe estar lisa y brillante con terminado de espejo.

DESGASTE DE LA MUESTRA: La muestra se coloca por medio de resina en un portamuestras de acero inoxidable - El proceso debe ser vigilado por el microscopio fotónico - El desgaste debe dejar un grosor en la parte central de la muestra de 18 ± 2mm.

RECUBRIMIENTO DE CONDUCCIÓN

Se debe realizar un sombreado de la muestra con un material conductor el cual puede ser de oro, platino u otro metal pero se usa más el carbón. Se coloca la muestra en la base de la evaporadora de carbón, se crea un vacío de 50 militorry y se hace pasar una corriente eléctrica por el filamento.

PROCESAMIENTO: Se prepara un cañón de acetato para formar una columna de 10x10x20mm para vaciar el poliacrilato de metilo. La muestra se coloca en un recortador.

CORTE: La muestra se recorta por medio de una recortadora con un disco de diamante (sin dientes), la recortadora avanza a 1000rpm y la profundidad de los cortes es de 2,0mm aproximadamente.

MONTAJE DE LA MUESTRA: Una vez lista la muestra se desmonta el portamuestras de dypler y se monta en una rejilla de cobre con perforación central mediante resina epóxica catalizable. Se limpia la muestra y se pinta su periferia con pintura de plata.

EROSIÓN IÓNICA: La muestra debe ser erosionada para adelgazar la parte central que es el sitio de observación con MET
• La erosión se realiza en un equipo denominado Ion Mill
• Recubrimiento de conducción