

EL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO UN INSTRUMENTO ÚTIL PARA LA CIENCIA.

Araceli Adabache Ortíz, Marcelo Silva Briano y Ricardo Galván de la Rosa.

Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Básicas. Departamento de Biología. Laboratorio de Microscopio Electrónico de Barrido. Edificio 202. Av. Universidad 940. Ciudad Universitaria. C. P. 20100. Aguascalientes, Ags.

Tel: 01 (449) 9107400 ext. 347. Fax: 01 (449) 9108401.

Biol. Araceli Adabache Ortiz E-mail: adabache02@yahoo.com.mx

Dr Marcelo Silva Briano. E-mail: msilva@correo.uaa.mx

INTRODUCCIÓN:

El microscopio electrónico de barrido (MEB) es un instrumento para obtener fotografías tridimensionales debido a que tiene una alta resolución y una gran profundidad de campo. En las fotografías se puede apreciar la ultraestructura de muestras microscópicas detallando de manera extraordinaria, sus características morfológicas y topográficas. También se puede observar cualquier tipo de espécimen o de materiales orgánicos (crustáceos, plantas, parásitos, hongos, invertebrados, plancton, protozoarios, bacterias, tejidos, músculo, células, neuronas, cabello y pelo) y materiales inorgánicos (industria petroquímica, biodeterioro de obras y artes, pintura, papel, enlatados, balística, material geológico, material de electrónica y computación, metales, aleaciones, plásticos, vidrios, etc.); **(Hayat, M. 1981)(M.L. López 2003).**

Un instrumento que se ha desarrollado para el análisis de muestras a través del microscopio electrónico de barrido es el analizador EDS (espectrómetro de dispersión de energía) de rayos X el cual identifica la distribución cuantitativa y cualitativa de elementos químicos que se encuentran presentes en la muestra, mostrando gráficas e imágenes relacionadas con esa distribución. Es pertinente señalar que el analizador EDS de rayos x identifica y evalúa el contenido de elementos químicos desde el carbono al uranio en superficies planas o secciones finas de las muestras en todo tipo de material (biológico e inerte). **(Víctor Poblete P.M. Pilleux C. Etal 2001).**

Además de la obtención de un espectro químico en un punto concreto de la muestra, existen dos formas gráficas de obtener información de la señal de rayos X: a) los perfiles de línea que permiten identificar gráficamente la variación de la concentración de uno o varios elementos entre dos puntos; y b) los mapas de RX que sirven para ver gráficamente la distribución de los elementos en la zona seleccionada, asignando un color diferente a cada uno. Los mapas de RX también ofrecen imágenes semicuantitativas de la concentración de los elementos mediante la densidad de puntos de un determinado color en la zona. **(Oxford Instrument microanalysis group 1997).**

OBJETIVOS:

Dar a conocer la importancia y aplicaciones del MEB y el analizador EDS de Rx en el análisis de las propiedades macroscópicas y microscópicas de cualquier tipo de material.

Brindar apoyo a la comunidad científica para avanzar en el desarrollo de la ciencia de los materiales y ciencias biológicas, así como para contribuir en la solución de problemas de tipo tecnológico.

TÉCNICA DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

En general, la preparación de las muestras es sencilla y los requisitos que deben cumplirse son: fijación, deshidratación y secado; además, la superficie debe ser conductora de la corriente eléctrica. Este último requisito se cumple en los metales pero no en las muestras biológicas, por lo que éstas se recubren con una capa de carbón o de oro, según las condiciones en las que se trabaje la muestra y el objetivo del estudio, es decir, para ser analizadas por EDS o para ser vistas al microscopio. Antes de tratar las muestras se debe tomar en cuenta el material a ser observado y guiarse por los parámetros específicos para cada muestra.

FUNCIONAMIENTO DEL EQUIPO:

El MEB está compuesto por tres detectores que se clasifican en imágenes de electrones secundarios, imágenes de electrones de retrodispersión y analizador EDS de rayos x, los cuales están instalados dentro de la cámara de vacío. La muestra se coloca en el portamuestras de la cámara de vacío del microscopio, en donde es escaneada por medio de un haz de luz de electrones, convirtiendo las señales eléctricas en una imagen tridimensional que se observa en el monitor de las computadoras.

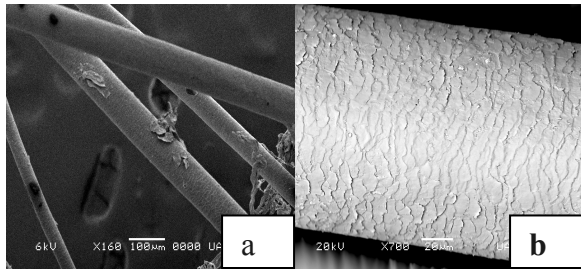
MICROANÁLISIS DE RAYOS X POR DISPERSIÓN DE ENERGÍA:

En el analizador EDS de rayos X del MEB se realizan diversos análisis representados con histogramas e imágenes de distribución de los elementos químicos presentes en la muestra. La formación de un espectro EDS de Rayos x se obtiene mediante un software (INCA) que recoge durante un determinado tiempo (minutos) los fotones emitidos por la muestra, clasificándolos según su energía. El espectro se presenta como un histograma en donde el eje de las X tiene unidades de energía (Kiloelectrovolts) y el eje de las Y el Número de cuentas o intensidad. En el espectro se realiza de forma automática la identificación y el análisis cualitativo y cuantitativo de los diferentes elementos a través de picos en la campana de Gauss observados en el histograma. En una muestra se elige uno o varios sitios de interés para ver si toda la muestra contiene los mismos elementos o hay variación de estos en un cm^2 .

RESULTADOS:

Por el poder de resolución y la gran profundidad de campo del microscopio electrónico de barrido y del analizador EDS de Rayos X, el trabajo realizado en nuestro laboratorio confirma que estos métodos de análisis tienen cada vez mayor importancia y aplicaciones en las diversas disciplinas de la ciencia:

- A) Ciencias de los materiales. Caracterización morfológica y analítica de materiales naturales, minerales o sintéticos, estudio de superficies, textura y segregación, fractura y fallas, crecimiento de granos e irregularidades de piezas
- B) Materiales biológicos. Estructura y ultra estructura de células, tejidos, organelos y órganos vegetales y animales (invertebrados y vertebrados), patologías de humano, animales y vegetales, estudios forenses (búsqueda de partículas, tejidos, hilos, pelo y semen) e inmunocitocalización de macromoléculas.

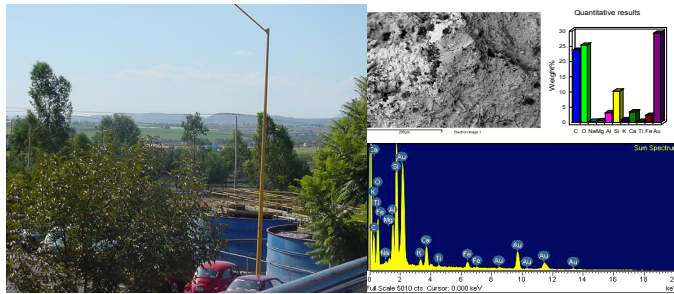


* En seguida se muestran imágenes de cabello tomadas con electrones secundarios (a) y con electrones de retrodispersión (b):

Las imágenes obtenidas con electrones secundarios son de gran utilidad para estudios topográficos ya que sus trayectorias son curvas, de modo que la imagen aparece con sombras suaves y difusas; en un segundo plano se observan las depresiones o áreas escondidas (producen menos electrones detectables). Estos hechos deben considerarse al analizar las imágenes obtenidas. Además, en las imágenes obtenidas con electrones de retrodispersión se observan variaciones de contraste muy marcadas, con efectos de luz y sombra bien definidos, debido a la diferencias en la estructura atómica de la muestra

ANALIZADOR EDS.DE RAYOS X

Una vez obtenido el espectro, se identifican los elementos en los picos de un histograma espectral de un punto elegido de la muestra. Un ejemplo clásico son los resultados de una muestra de lodos biológicos en un histograma



espectral, en el cual se clasificaron los elementos según su energía; los ejes de las X son unidades de energía (Kiloelectrovolts) y el eje de las Y es el número de cuentas o intensidad. Cada elemento presentó una distribución definida en la que se determinó la composición de la superficie o secciones finas de las muestras de forma precisa.

El gran poder de resolución (3 nm) y la profundidad de campo (1000 nm) permiten la aplicación del microscopio electrónico de barrido en diversas disciplinas del ámbito científico (ciencias biológicas, médicas, geológicas, metalúrgicas, biotecnología y ciencia de los materiales).

El concepto de resolución de la imagen de secundarios es complicado pero está relacionado con la capacidad de aumentos del microscopio manteniendo una buena definición de imagen.

EL MEB se considera el mejor método de análisis adaptado a la morfología y superficie de cualquier tipo de muestra.

El detector de rayos x del microscopio realiza microanálisis cuantitativo y cualitativo de elementos químicos

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- **Dykstra, M. 1992.** Biological electron microscopy: theory, techniques and troubleshooting. Plenum Press.
- **Hayat, M. (1981).** Fixation for electron microscopy, Academic Press,
- **M. L. López. (2003) Serie Científica Avanzada:** El microscopio Electrónico. Centro de Extensión Biomédica Facultad de Medicina Universidad de Chile.

- **Oxford Instrument microanalysis group (1997)** Link ISIS operator's guide. Oxford instruments (UK) Limited microanalysis group. Vol. I. Pp 1-14.England, UK
- **Víctor Poblete P.M. Pilleux C. Etal (2001)** Ciencia De Los Materiales "Microscopia Electrónica De Barrido" Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas.