

# Microscopías Avanzadas para la investigación en Veterinaria y Agroalimentación: SEM, TEM y AFM

# PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA SEM & TEM

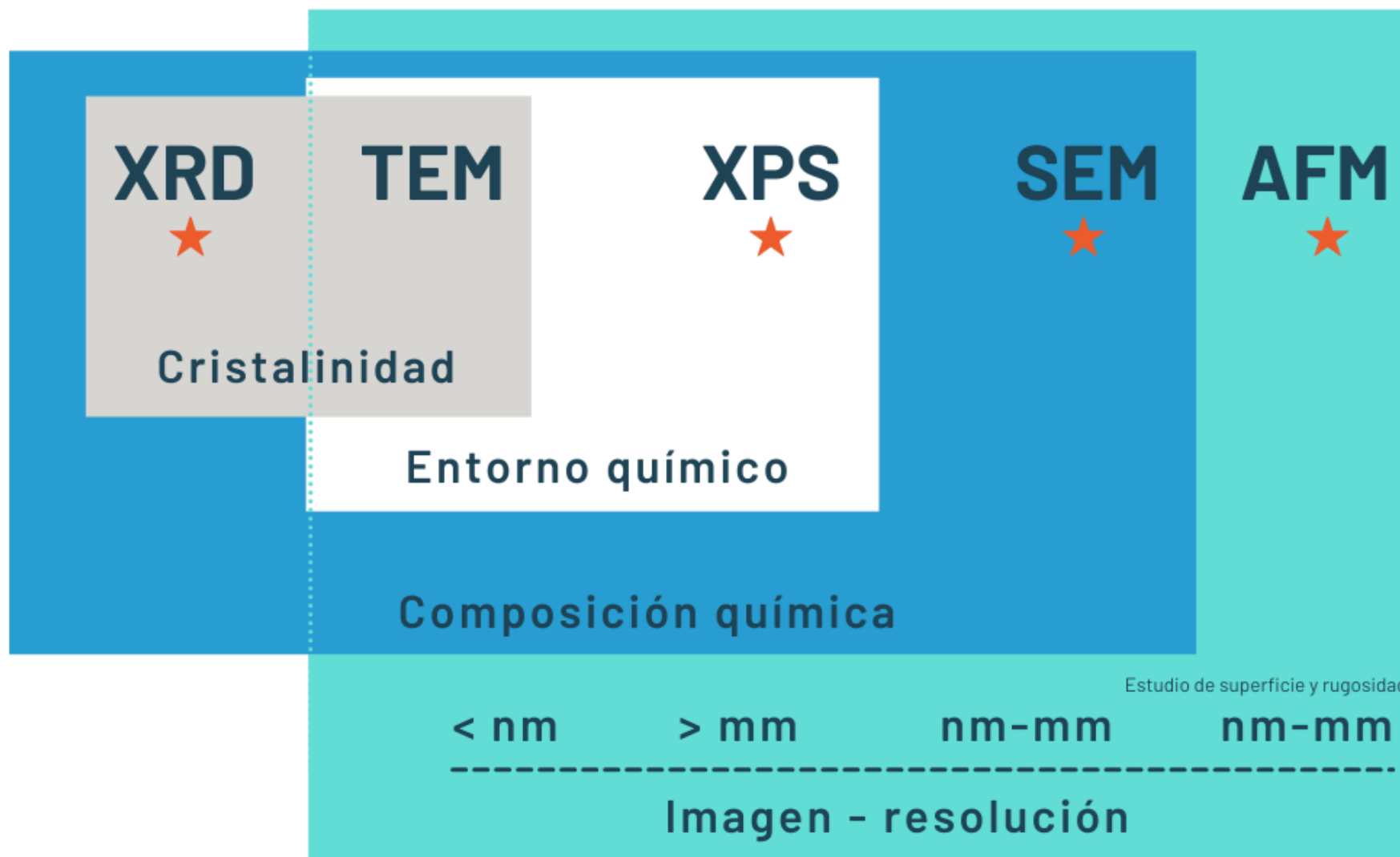
1  
Técnicas de  
Microscopía  
Electrónica

2  
Requisitos de las  
muestras para  
SEM

3  
Ejemplos de  
muestras  
preparadas para  
SEM

4  
Requisitos de  
las muestras  
para TEM

5  
Ejemplos de  
muestras  
preparadas para  
TEM



★ posibilidad de recuperar la muestra, dependiendo de la muestra/ técnica

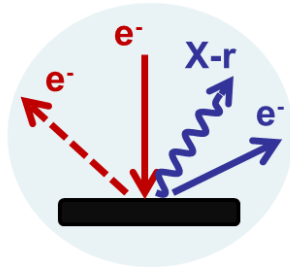
# Importancia de la elección del método de preparación



Células piramidales teñidas con la **tinción de Golgi**. **Micrografía óptica**.

Ramón y Cajal redefinió la técnica de Golgi y, con los detalles obtenidos de las imágenes más nítidas, revolucionó la neurociencia: definió la **teoría neuronal** desterrando la teoría reticular, aceptada

# Requisitos de las muestras para SEM



Recubrimiento:  
sputtering de Pd

Recubrimiento:  
evaporación de C

Para imagen de alta resolución

Para análisis químico (EDX)

Si son muestras biológicas (células, tejidos, bacterias)

Imagen con BSE

disco o hilo de diamante, bisturí, fractura criogénica,

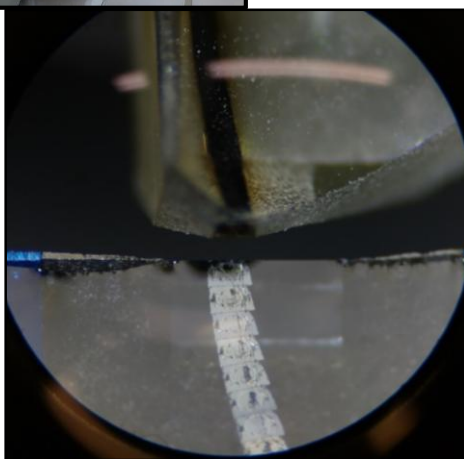


SEM Ambiental  
o Crio-SEM

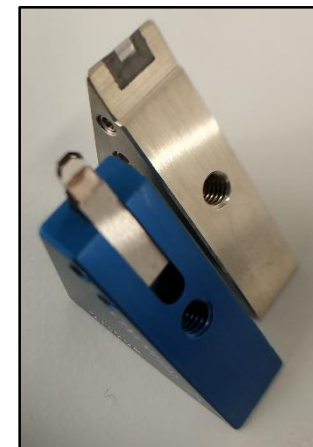
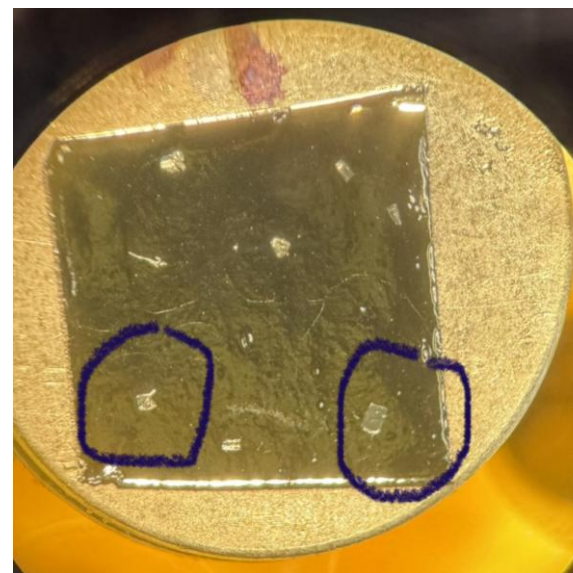
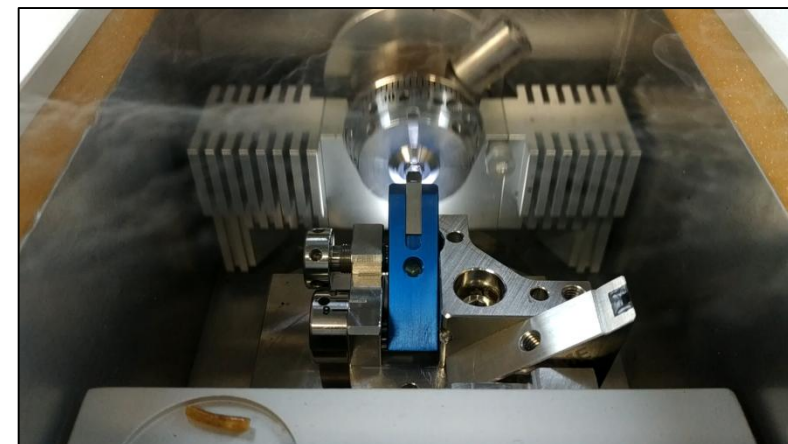
\* Si las muestras están húmedas, son líquidas, no soportan alto vacío, no se pueden recubrir o hay que calentarlas o...

# Corte ultrafinos de muestras para SEM: (crio)-ultramicrotomo

Módulo  
para  
corte a  
rt con  
muestra  
embebida  
en  
resina



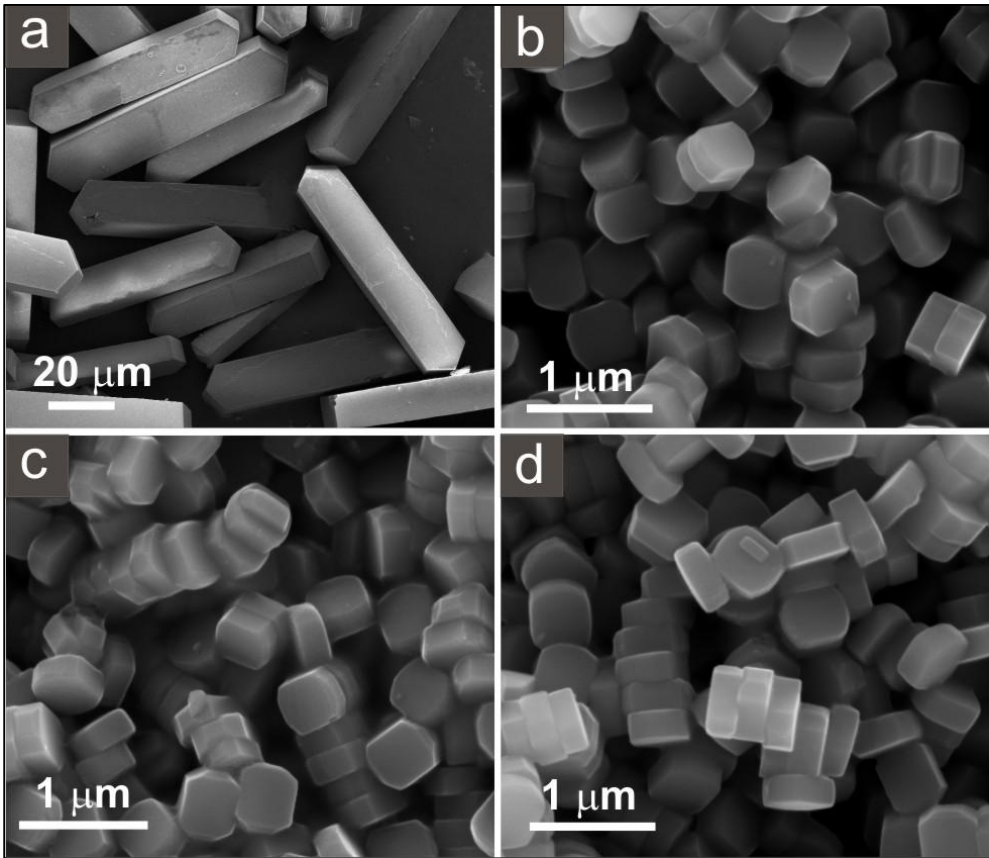
Módulo para cortar  
en frío:  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  
 $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$



# SECADO CONTROLADO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS O MATERIALES POROSOS

<b>Característica</b>	<b>Secado por punto crítico (CPD)</b>	<b>Secado con HMDS</b>
<i>Medio de secado</i>	CO <sub>2</sub> en condiciones super-críticas	Evaporación del HMDS
<i>Tensión superficial</i>	Nula	Baja, pero existente
<i>Equipamiento</i>	Cámara de punto crítico	Recipientes simples, campana
<i>Resultado morfológico</i>	Excelente	Bueno a muy bueno
<i>Coste y complejidad</i>	Alto	Bajo

# SEM: Material inorgánico y biológico



## zeolitas

Recubrimiento

con Pd

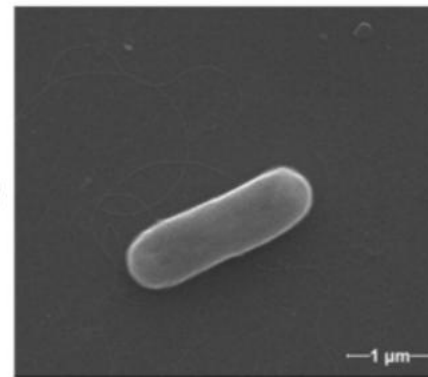
Fijación+ (postfijación Os) +Deshidratación + (Secado controlado) +

Recubrimiento con Pd

*E. coli*



*B. subtilis*

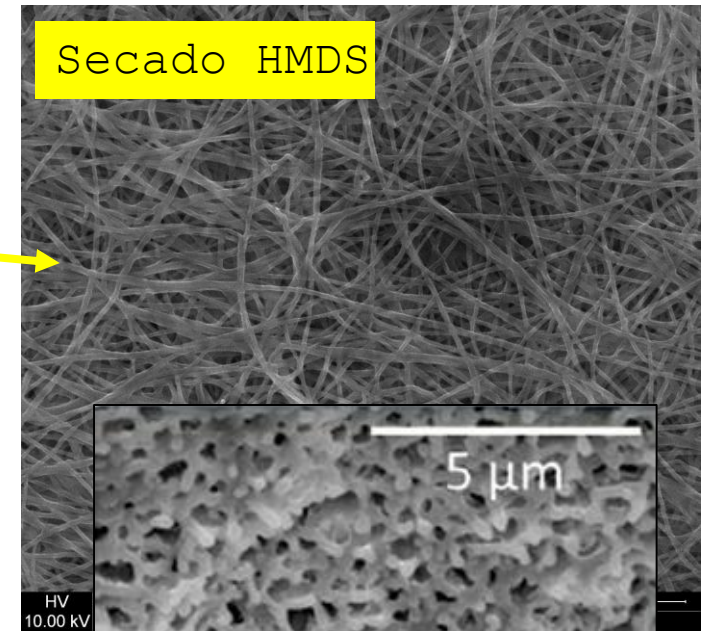


## bacterias

Valls, A., Andreu, J. J., Falomir, E., Luis, S. V., Atrián-Blasco, E., Mitchell, S. G., & Altava, B. (2020). Imidazole and imidazolium antibacterial drugs derived from amino acids. *Pharmaceuticals*, 13(12), 482.

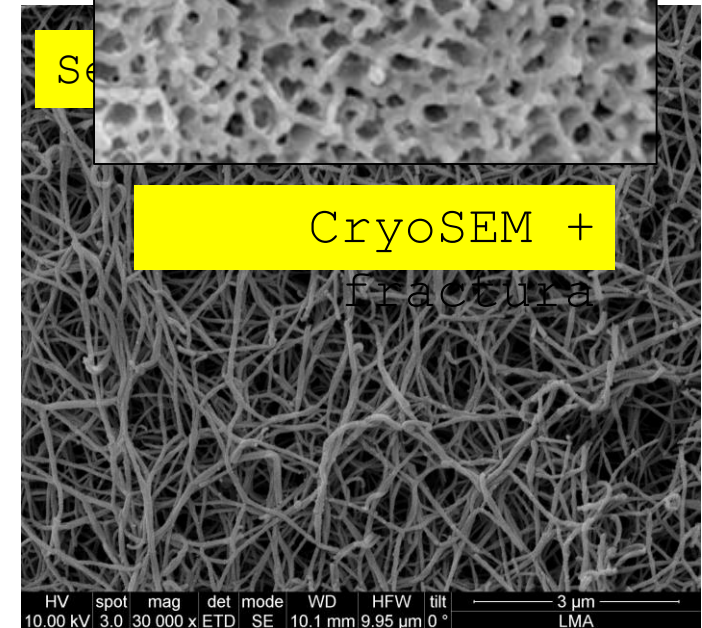
## Hidrogeles

Secado HMDS



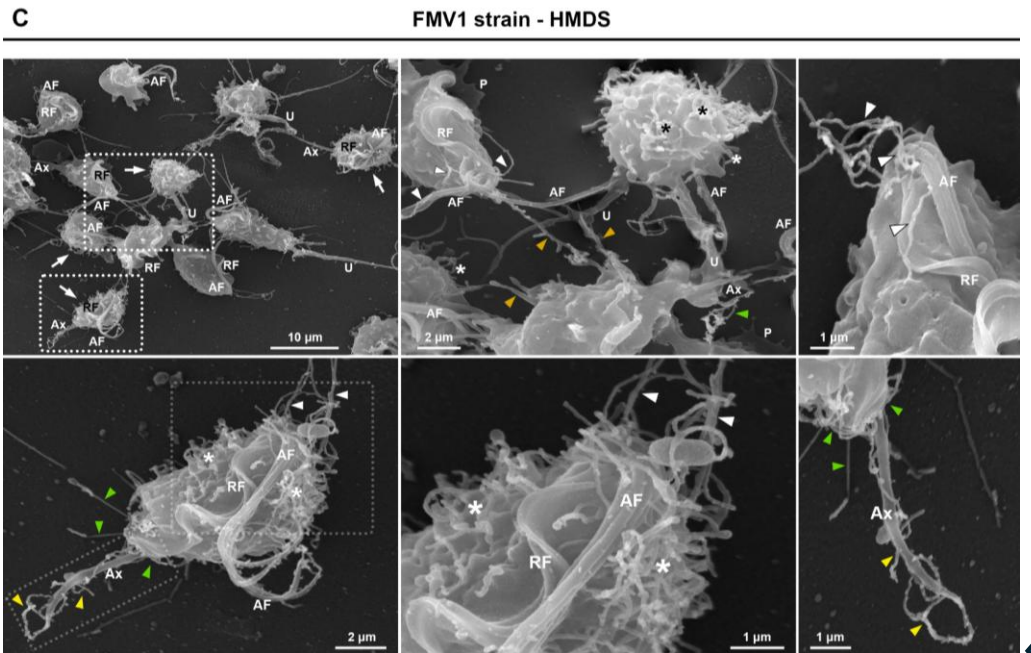
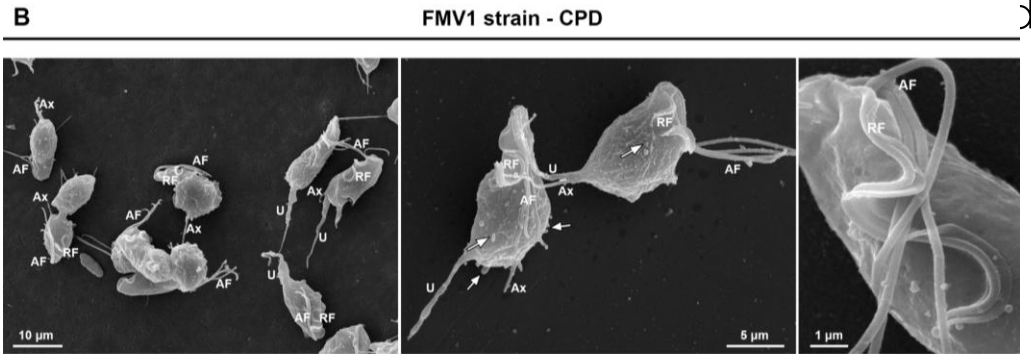
Secado

CryoSEM +  
fractura



Mallon, E. E., Jeon, M. Y., Navarro, M., Bhan, A., & Tsapatsis, M. (2013). Probing the relationship between silicalite-1 defects and polyol adsorption properties. *Langmuir*, 29(22), 6546-6555.

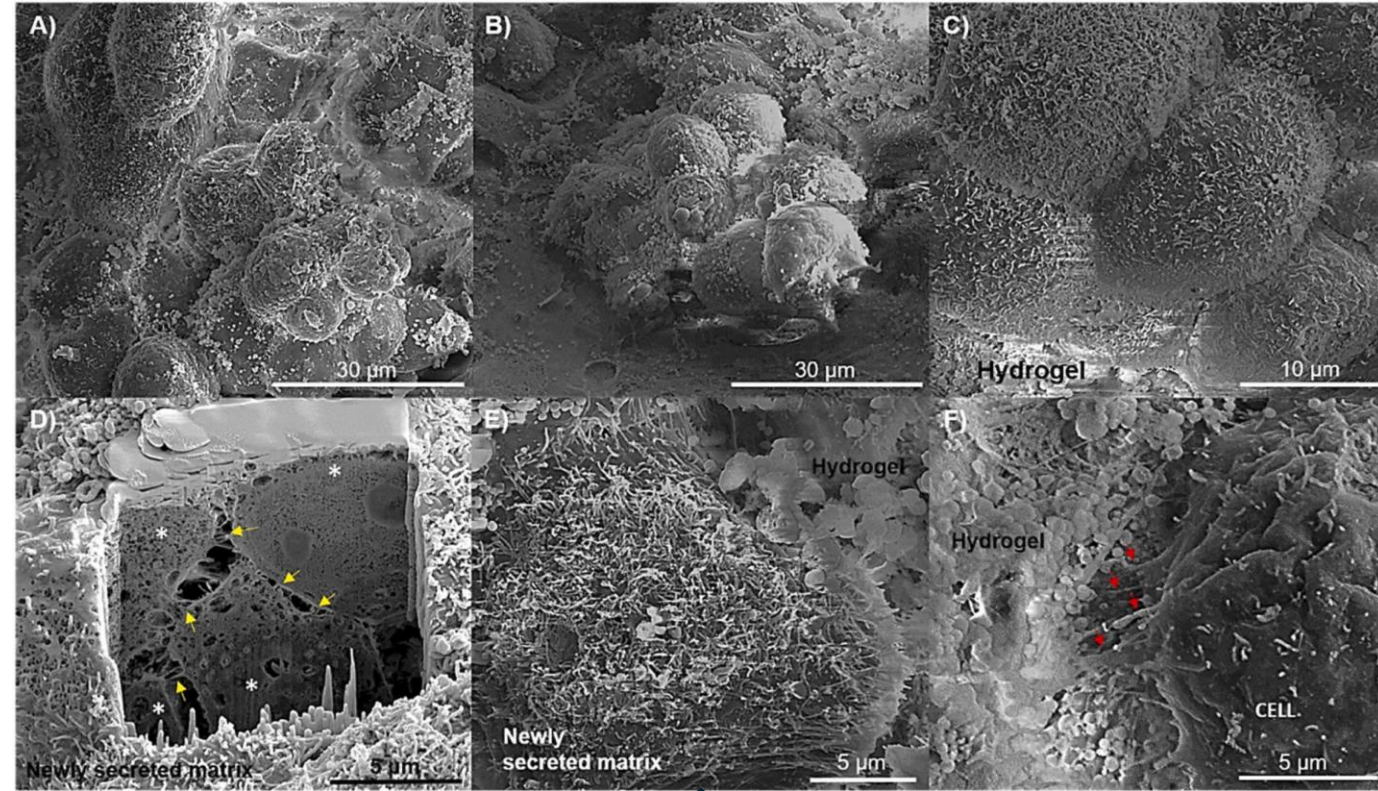
Fijación+ (postfijación Os)+Deshidratación + Secado



**Células epiteliales**

cryo-FIB-SEM

cross-sectioning



## Agregados celulares formados en un hidrogel

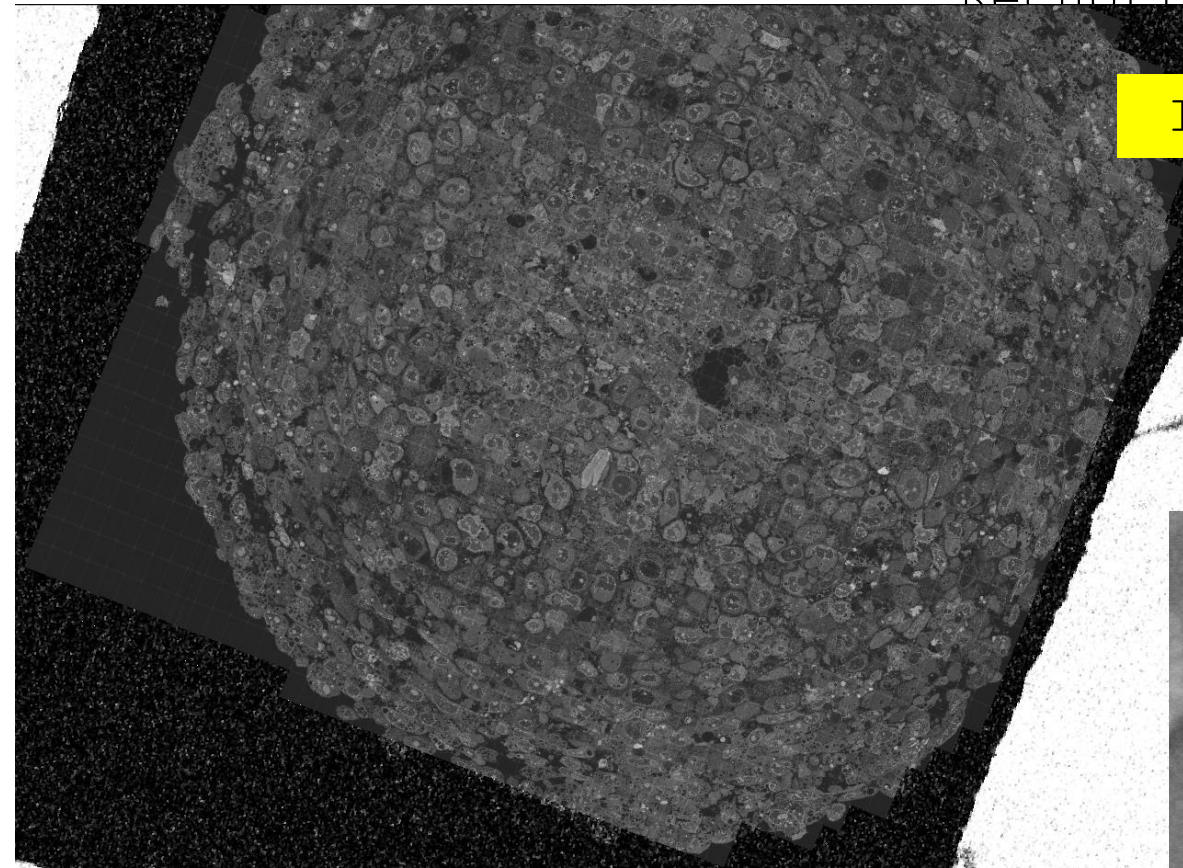
Pele, K. G., Calderón-Villalba, A., Amaveda, H., Mora, M., Zhang-Zhou, J., Pérez, M. Á., ... & García-Gareta, E. (2025). Novel hydrogel-based cancer-on-a-chip models for growth of 3D multi-cellular structures and investigation of early angiogenesis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 253, 114736.

dos Santos Melo, T., Miranda-Magalhães, A., Celia Bressan Queiroz de Figueiredo, R., & Pereira-Neves, A. *Plos one*, 20(10), e0333745. 2025

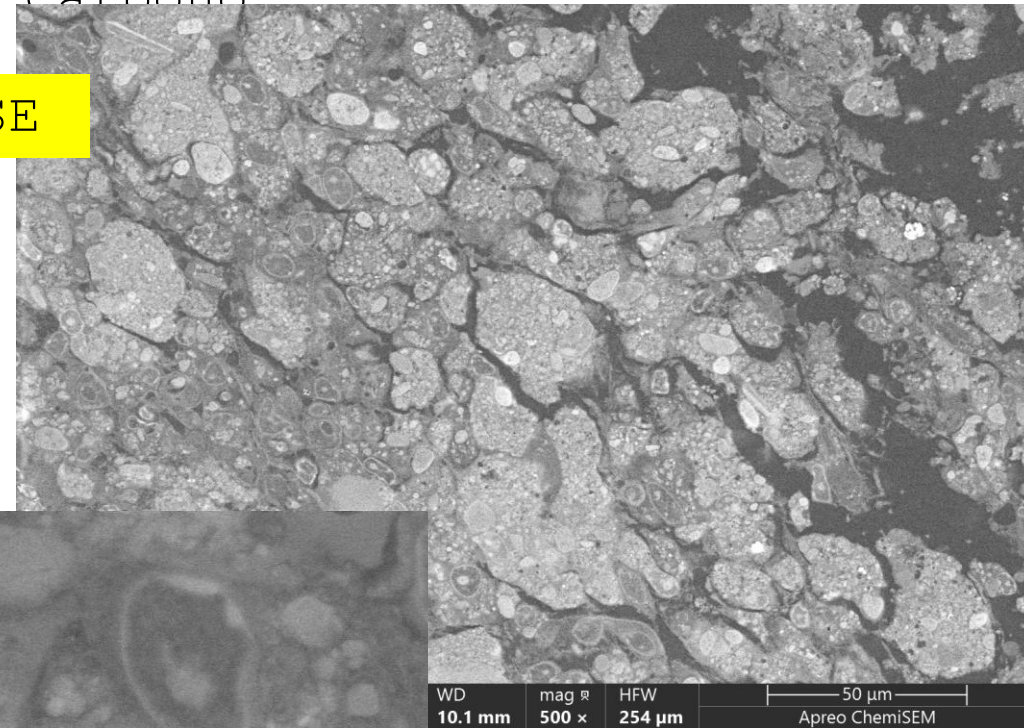
# SEM de Células

Fijación+postfijación  
Os+Deshidratación Inclusión en  
resina + secciones semifinas +  
Recubrimiento con Carbono

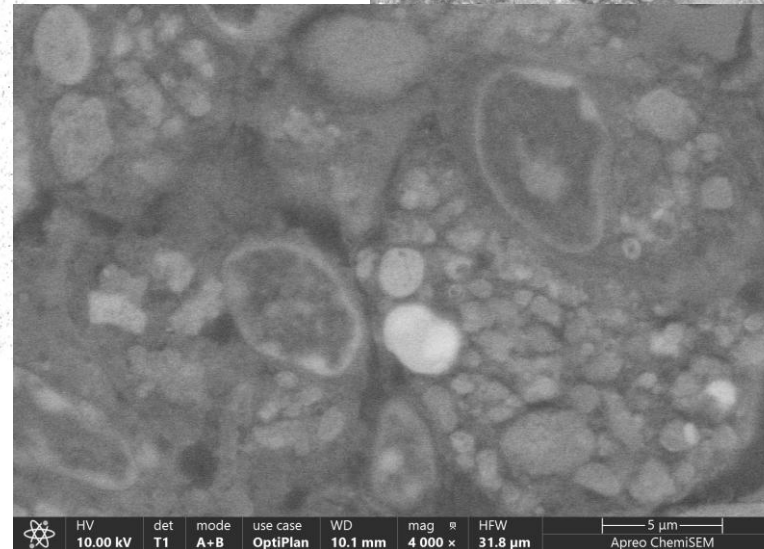
Imágenes BSE



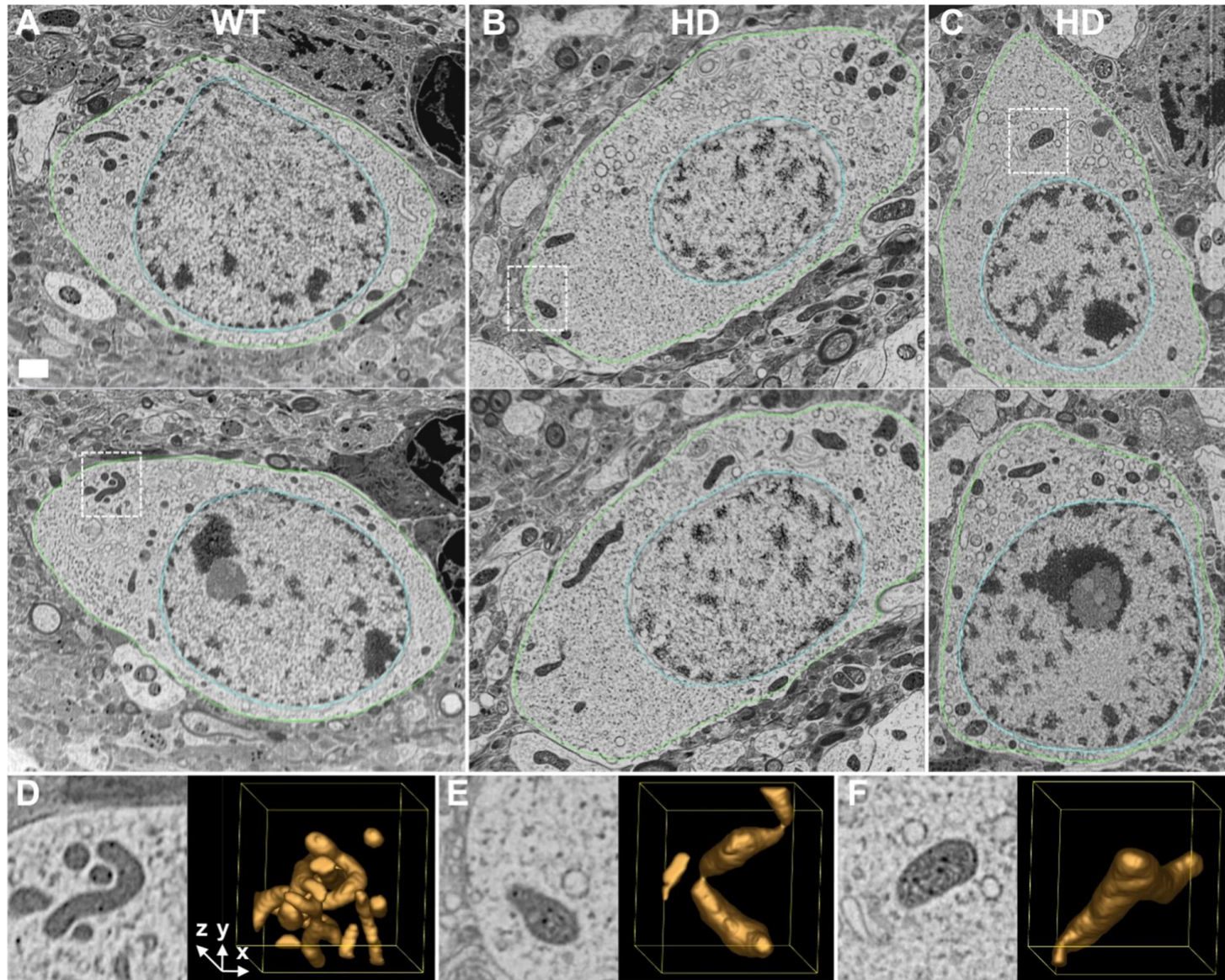
**Corte de esferoide**



**Corte de un tejido**



# SEM de Células

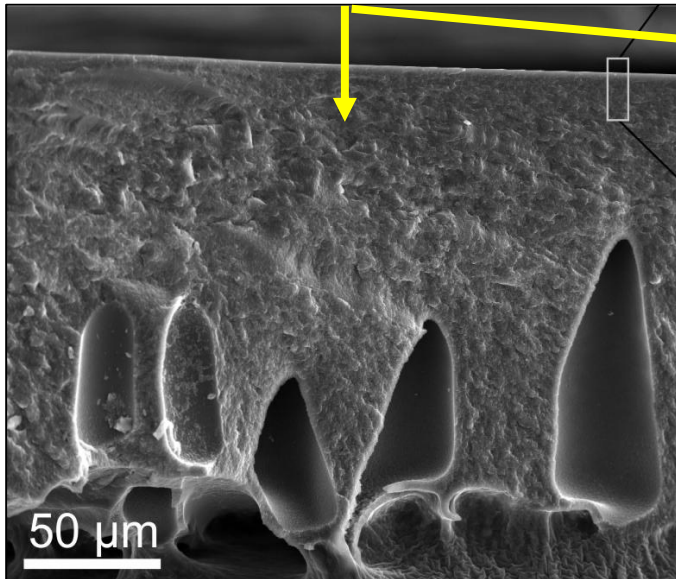


FIB-SEM  
cross-section  
ing en un  
bloque de  
resina y  
reconstrucci  
ón  
tridimension  
al

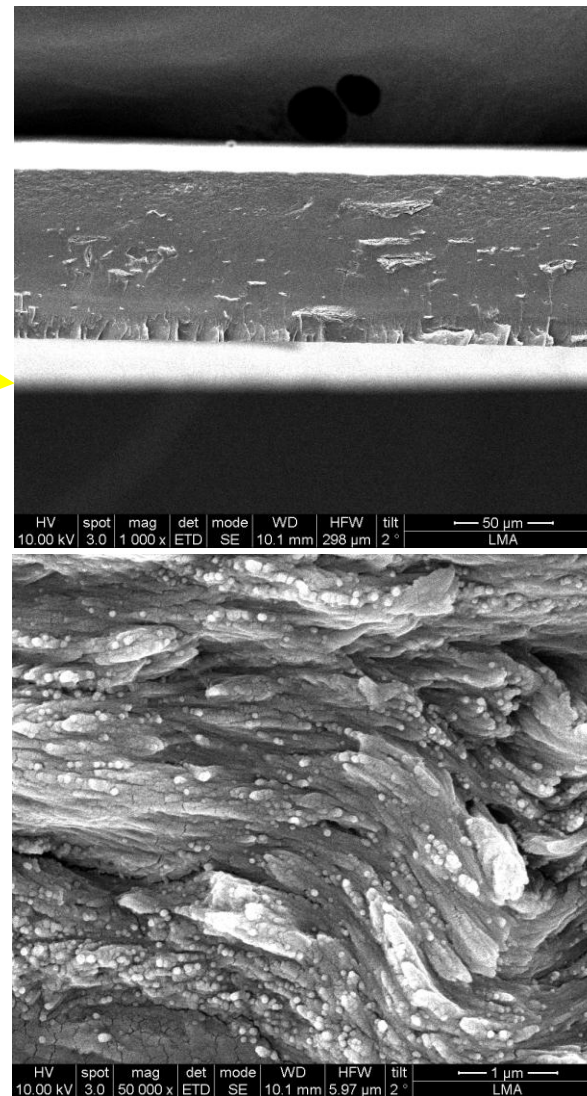
Martin-Solana, E., Casado-Zueras, L., Torres, T. E., Goya, G. F., Fernandez-Fernandez, M. R., & Fernandez, J. J. (2024). Disruption of the mitochondrial network in a mouse model of Huntington's disease visualized by in-tissue multiscale 3D electron microscopy. *Acta Neuropathologica Communications*, 12(1), 88.

# Corte tangencial

FRACTURA EN NITRÓGENO  
LÍQUIDO + Recubrimiento

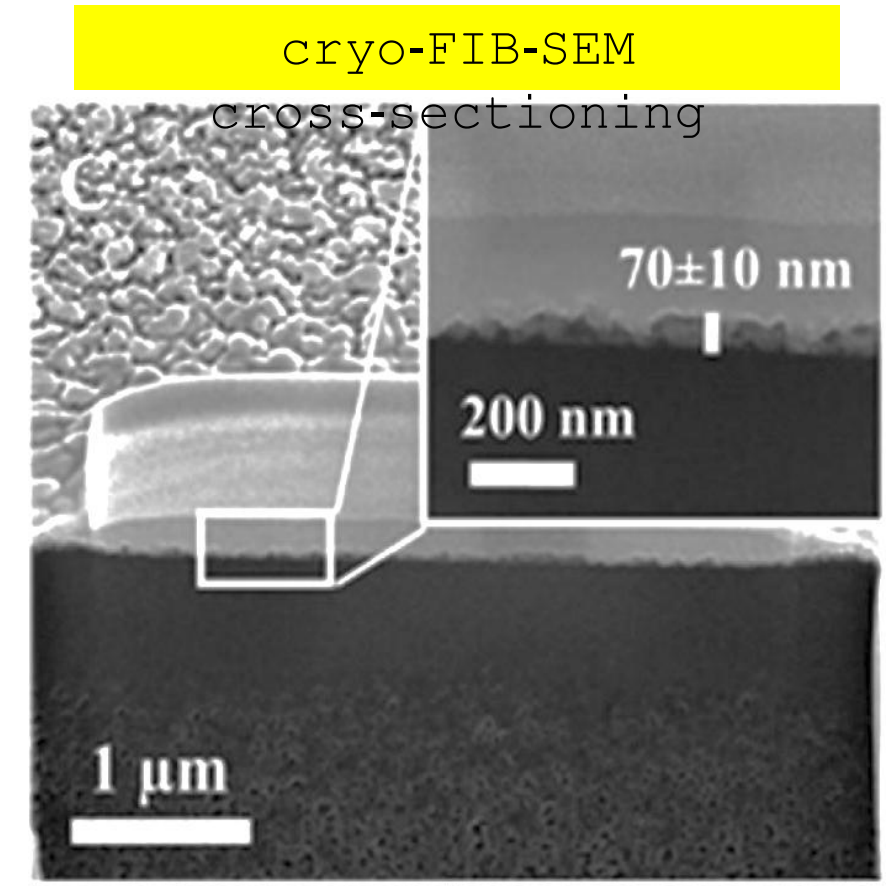


Navarro, M., Benito, J., Paseta, L., Gascon, I., Coronas, J., & Tellez, C. (2018). Thin-film nanocomposite membrane with the minimum amount of MOF by the langmuir–schaefer technique for nanofiltration. *ACS applied materials & interfaces*, 10(1), 1278-1287.



Baquero-Aznar, V., Calvo, V., González-Domínguez, J. M., Maser, W. K., Benito, A. M., Salvador, M. L., & González-Buesa, J. (2025). Novel egg white protein–chitin nanocrystal biocomposite films with enhanced functional properties. *Polymers*, 17(18), 2538.

Polímeros (films, membranas, probet



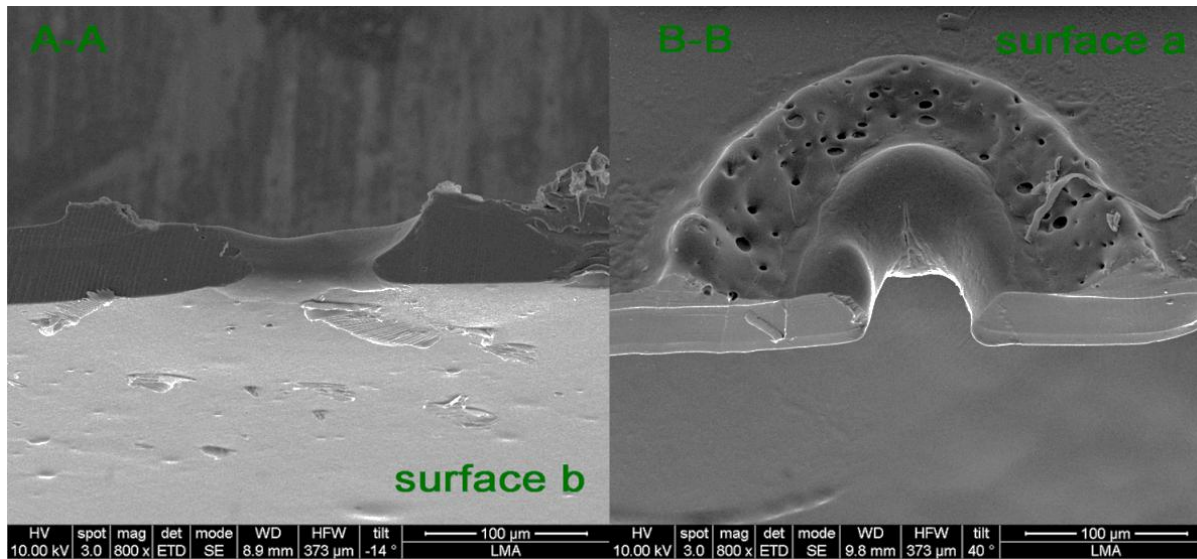
Sarango, L., Paseta, L., Navarro, M., Zornoza, B., & Coronas, J. (2018). Controlled deposition of MOFs by dip-coating in thin film nanocomposite membranes for organic solvent nanofiltration. *Journal of industrial and engineering chemistry*, 59, 8-16.

# Corte tangencial: uso del (crio)-ultramicrotomo

Polímeros (films,  
membranas, probetas, etc.)

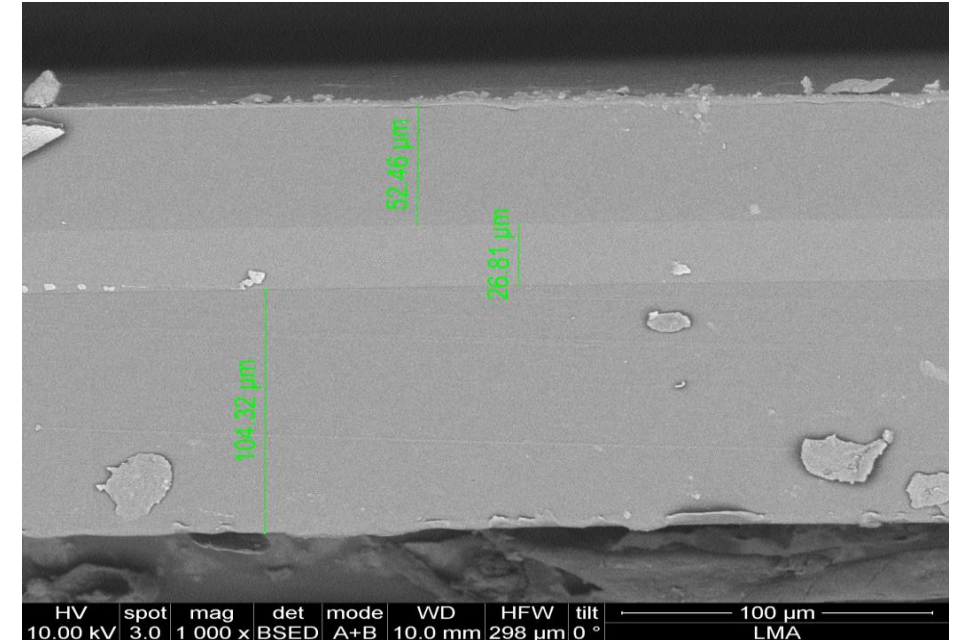
Pulido con cuchilla de diamante  
a  $-110\text{ }^{\circ}\text{C}$  + Recubrimiento con

Pd



Estudio **forma y dimensiones de una microperforación** láser en "Modified atmosphere packaging (MAP)"

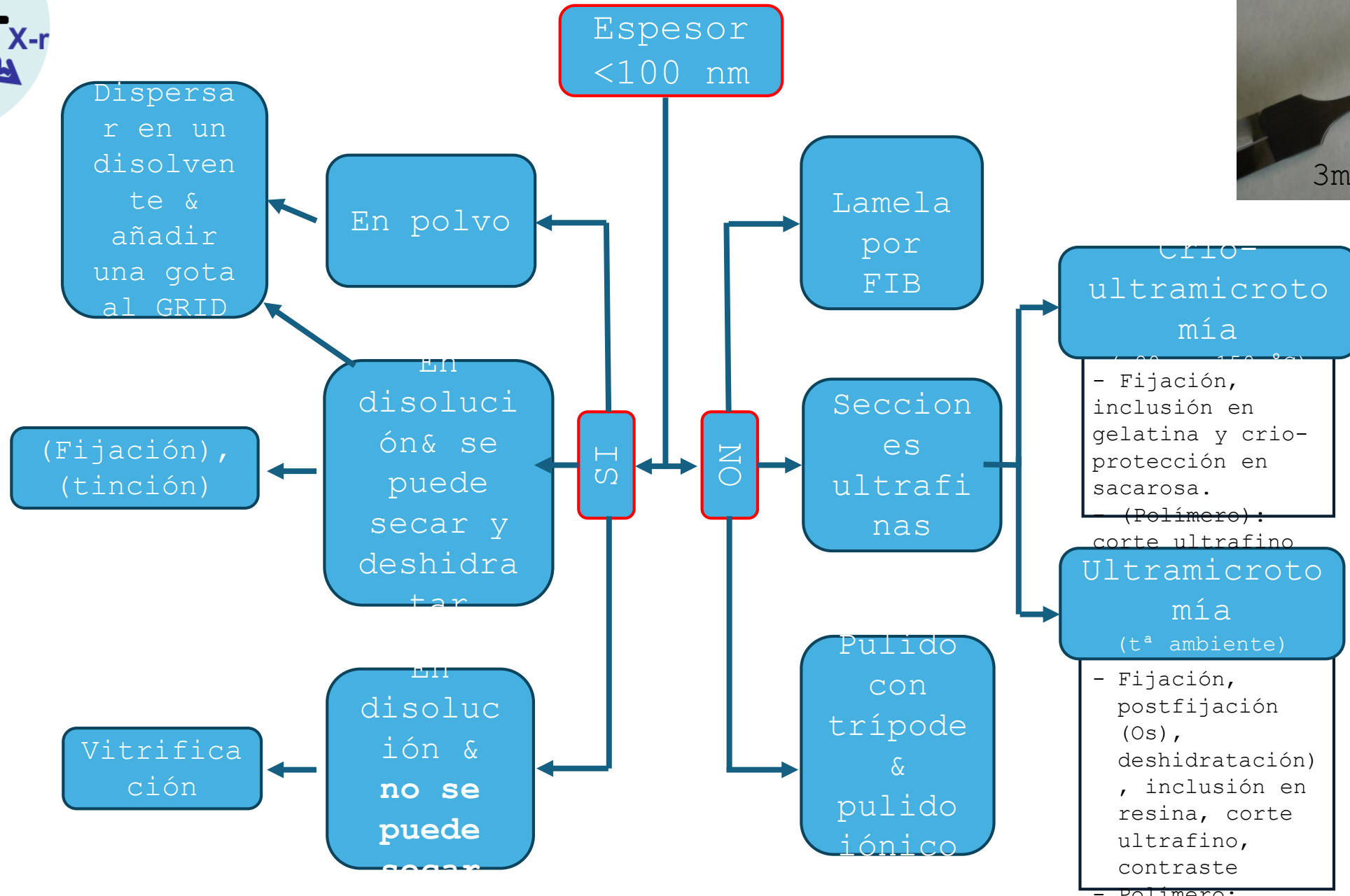
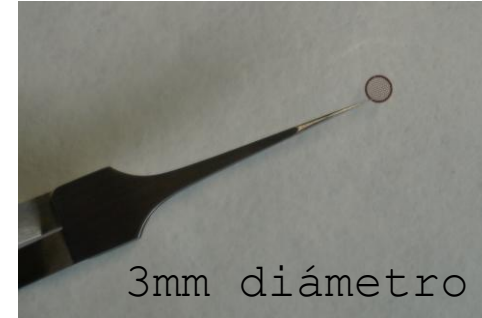
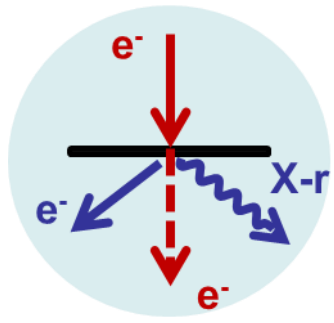
González-Buesa, J., & Salvador, M. L. (2022). A multiphysics approach for modeling gas exchange in microperforated films for modified atmosphere packaging of respiring products. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, 100797.



Medida del **espesor** de diferentes capas poliméricas

Papel:  
preparación  
similar

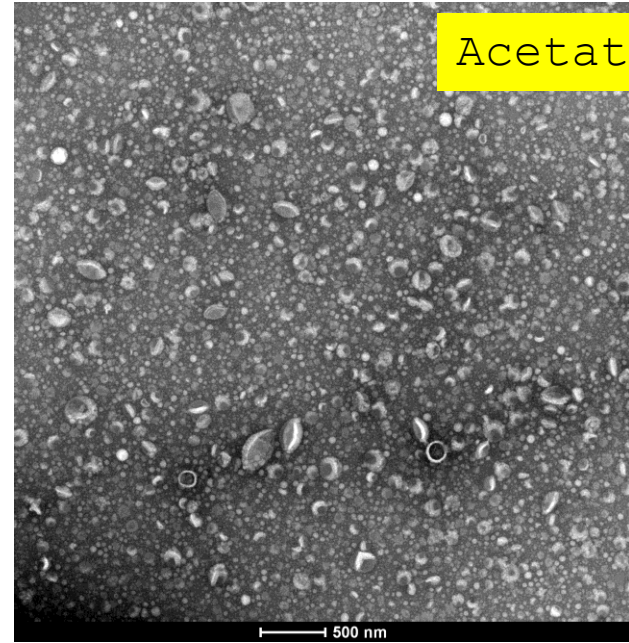
# Requisitos de las muestras para TEM



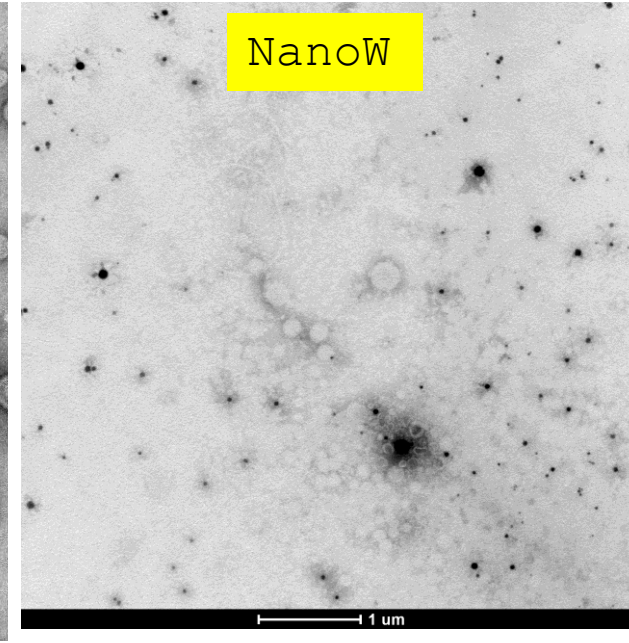
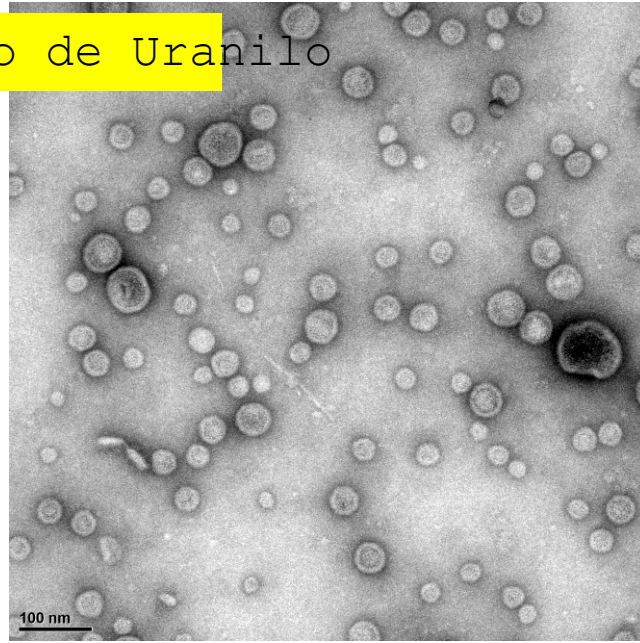
# TINCIÓN POSITIVA Y NEGATIVA. EXOSOMAS

Tapia-Aguayo, A., et al. (2025). *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 13, 1729503.

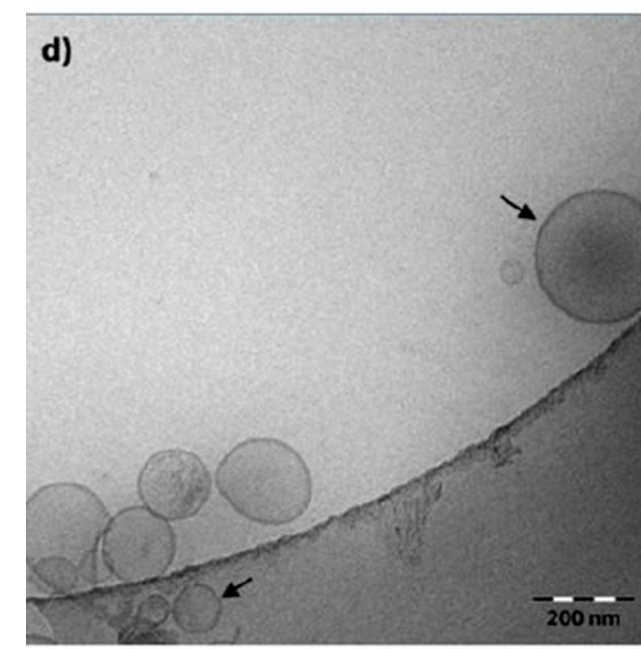
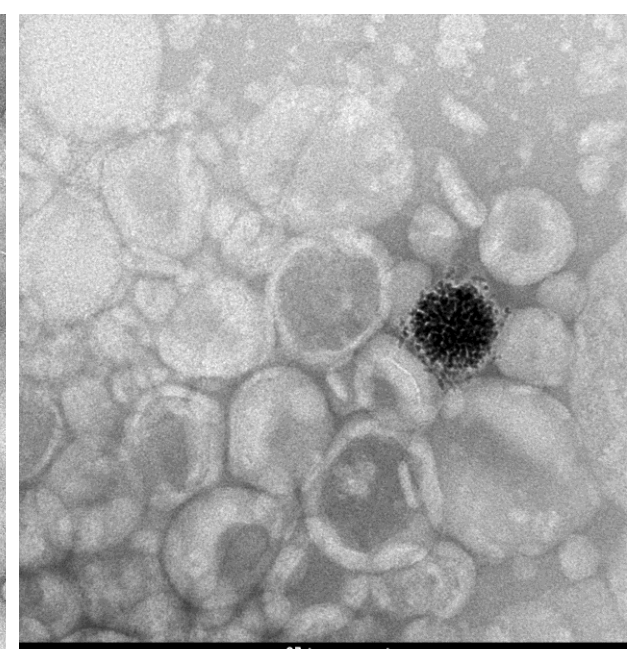
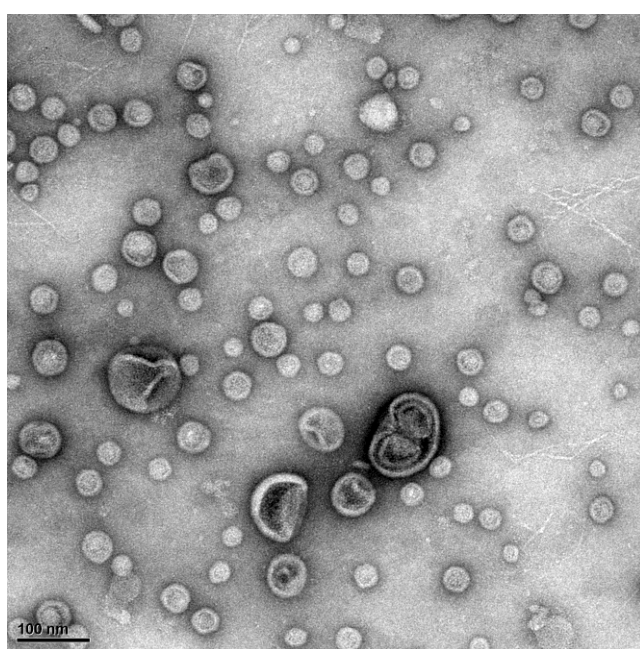
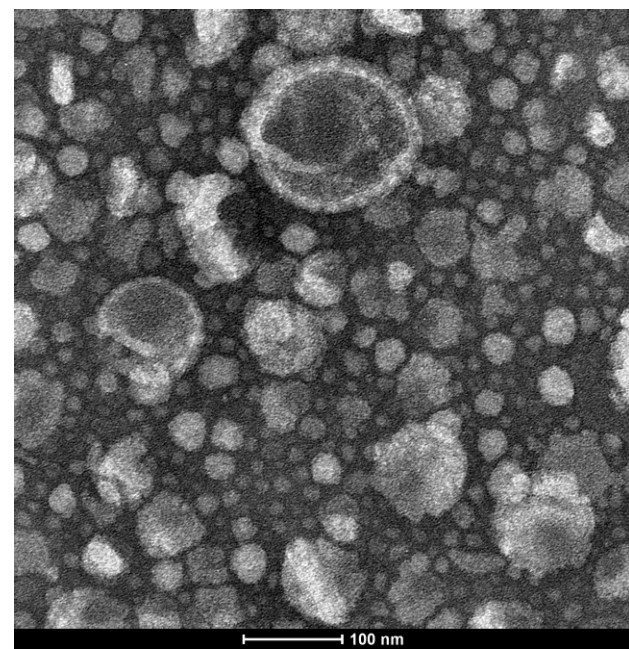
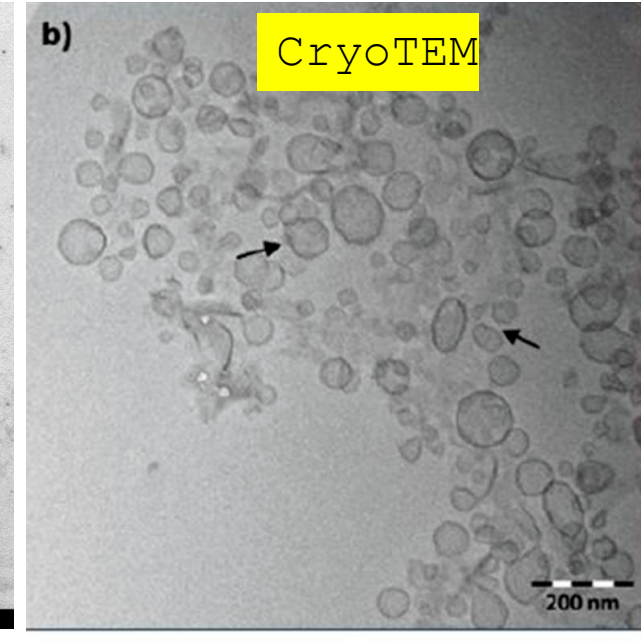
Acetato de Uranilo



NanoW

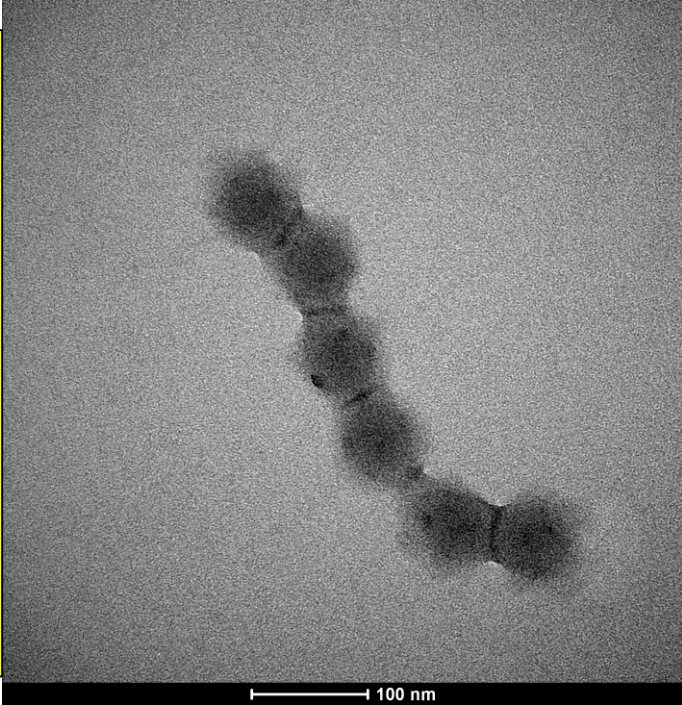


b) CryoTEM

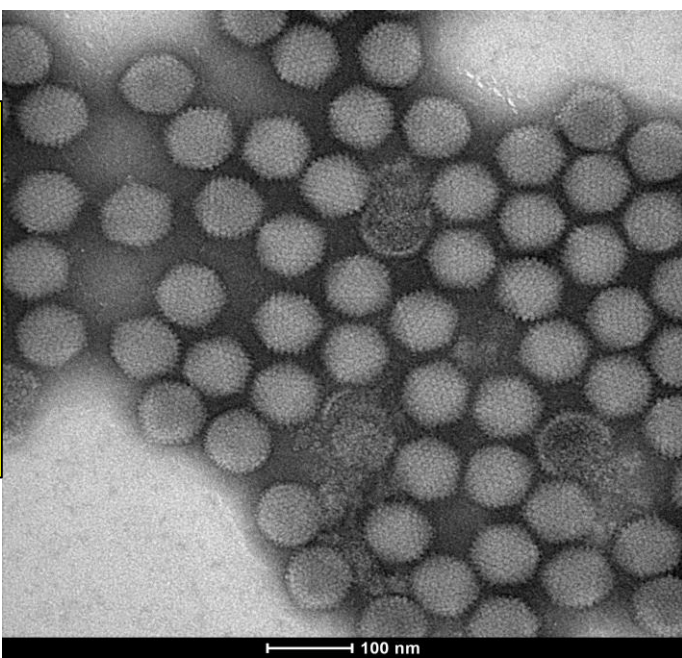


# TINCIÓN POSITIVA Y NEGATIVA

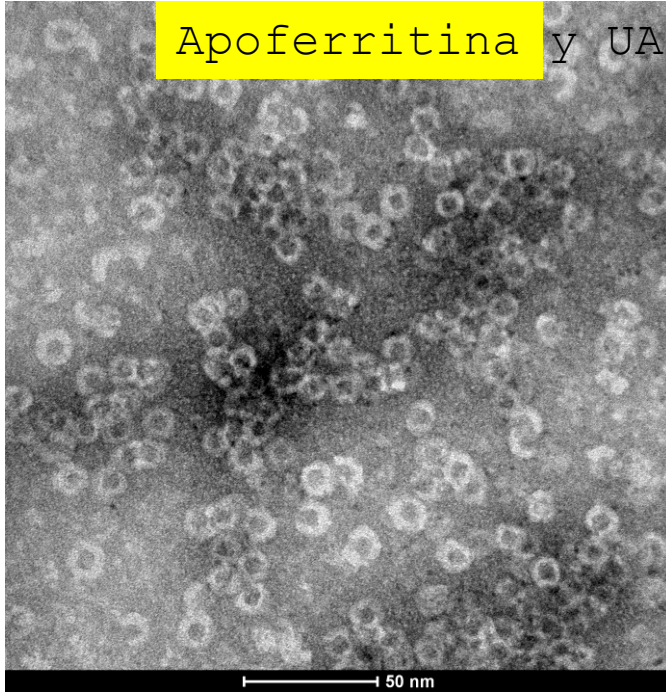
Virus y Ácido Fosfotúngstico



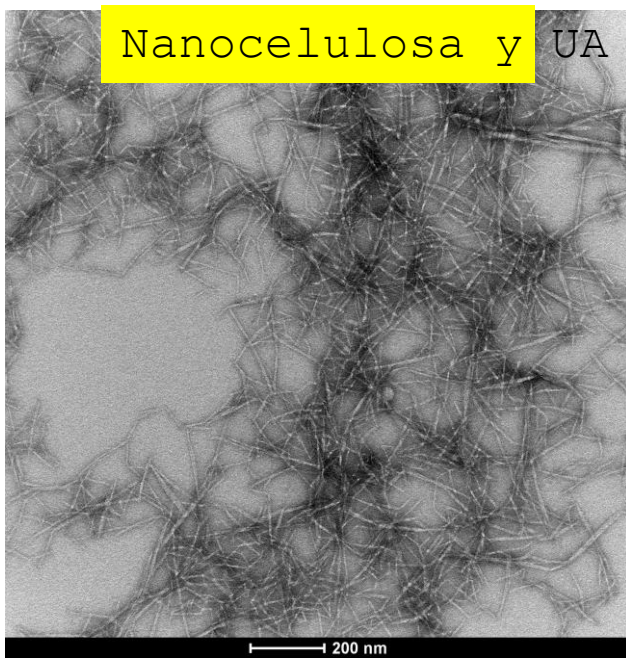
Virus y NanoVan



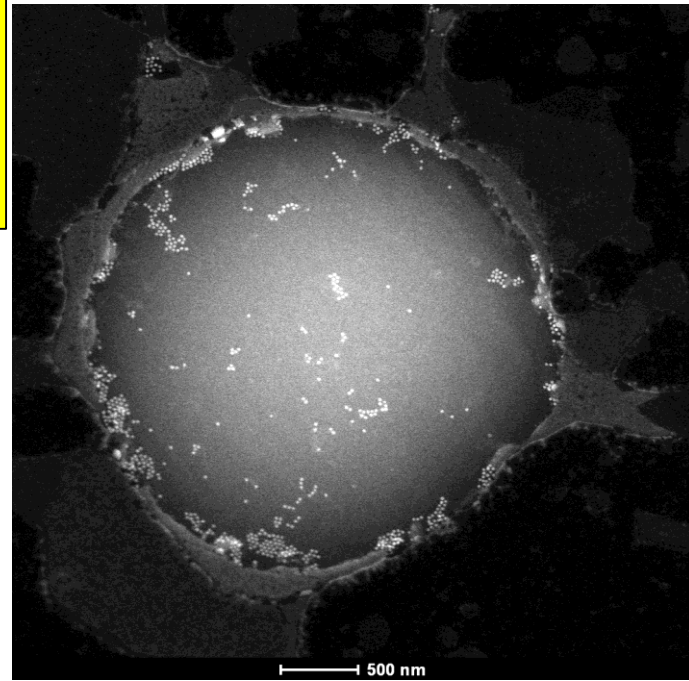
Apoferritina y UA



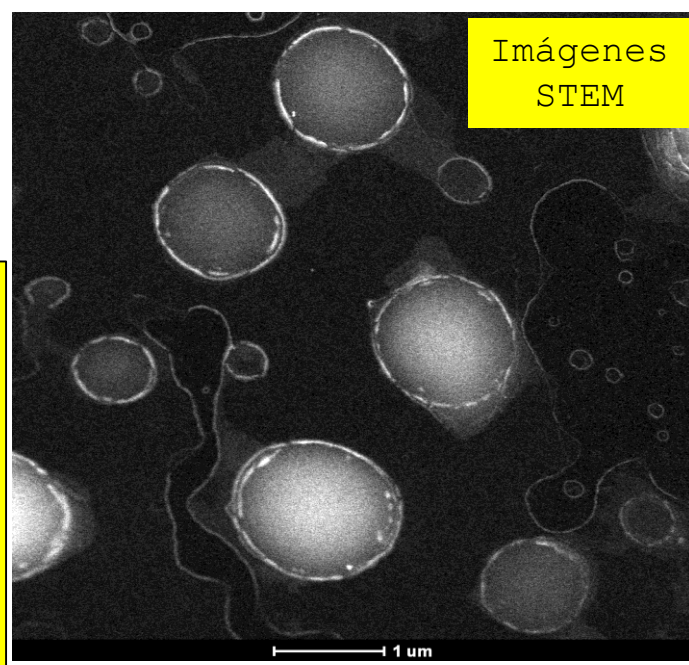
Nanocelulosa y UA



Cápsulas lipídicas y NanoW

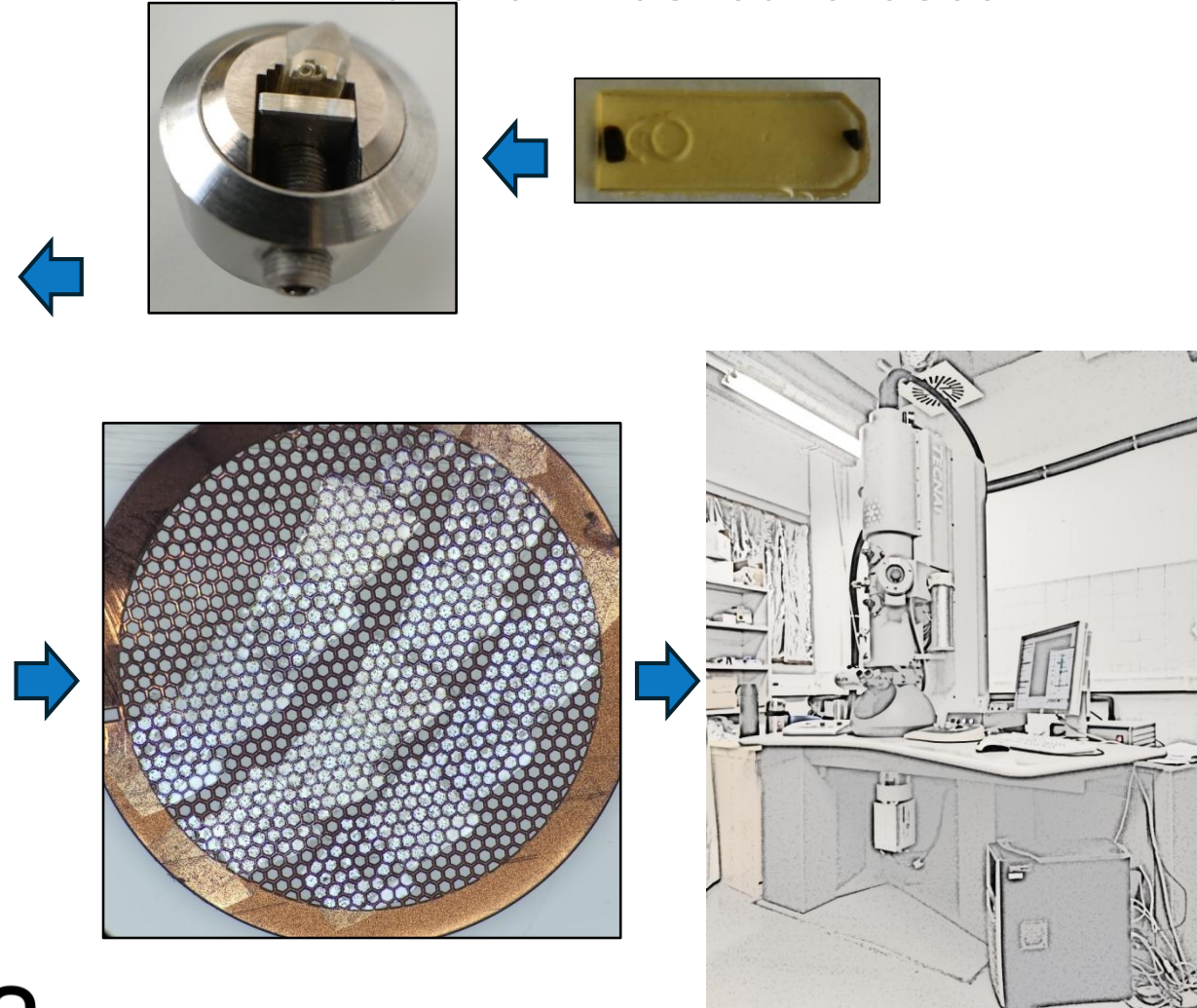
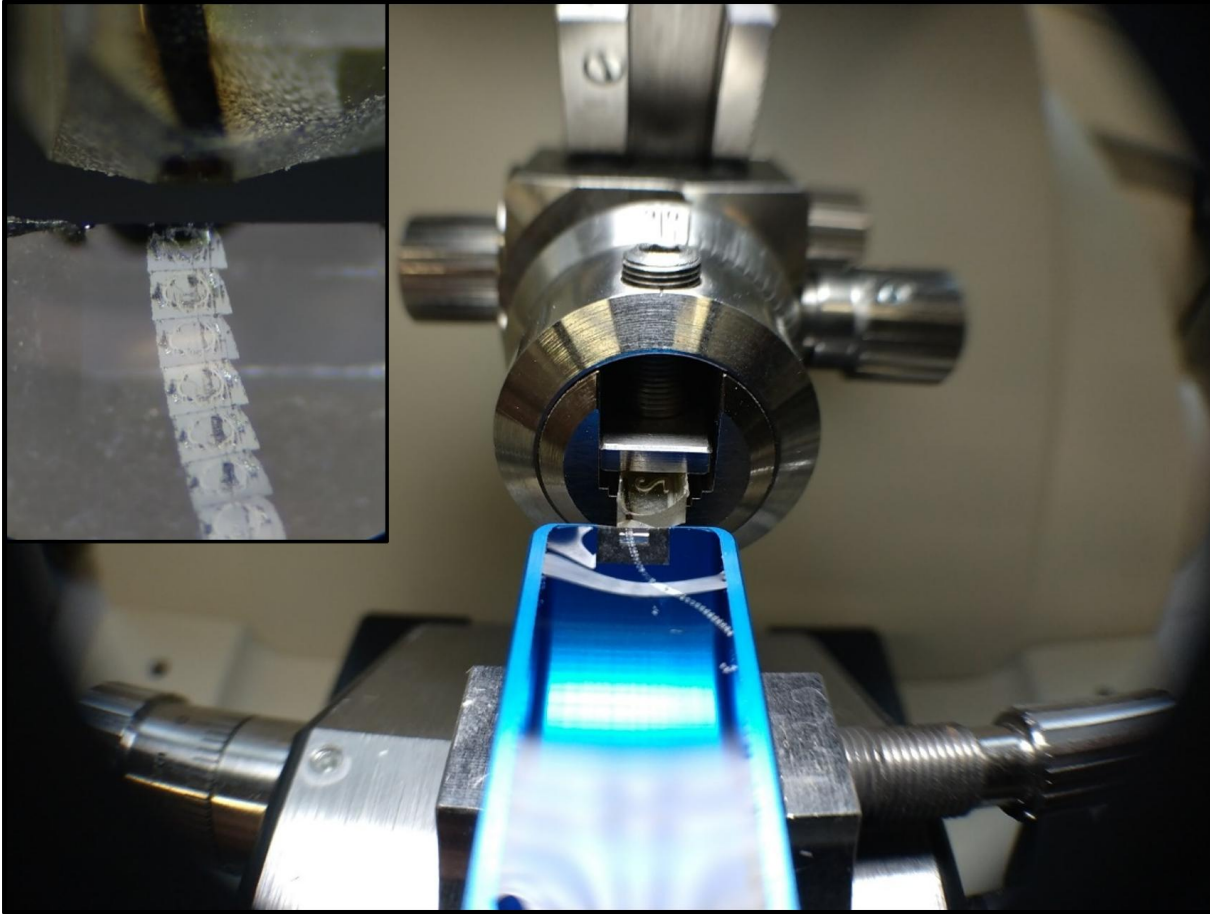


Imágenes STEM



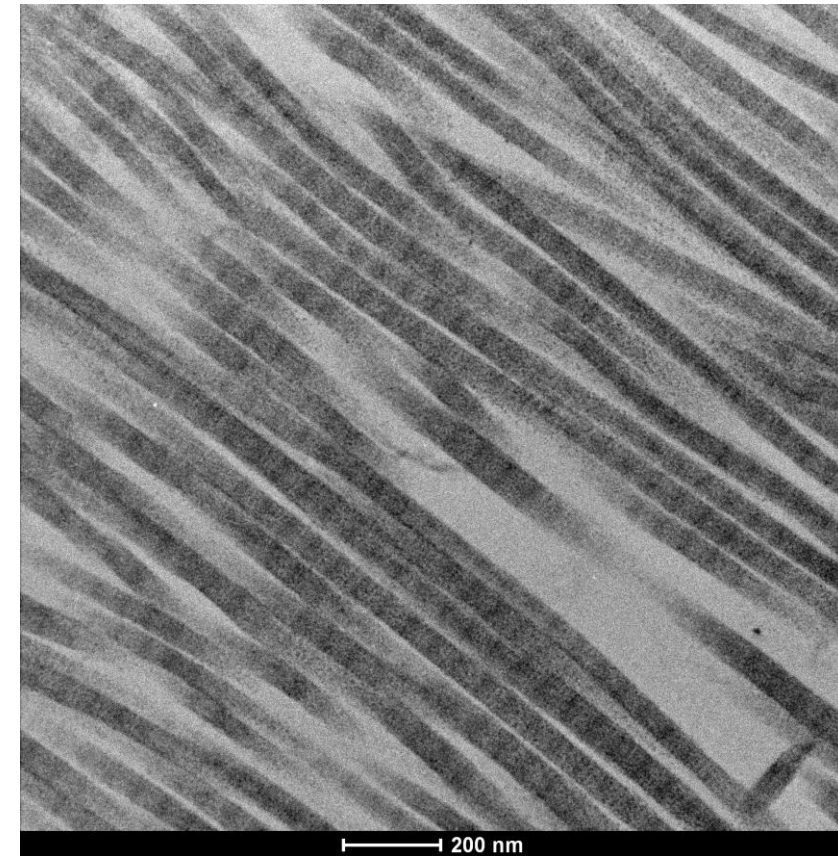
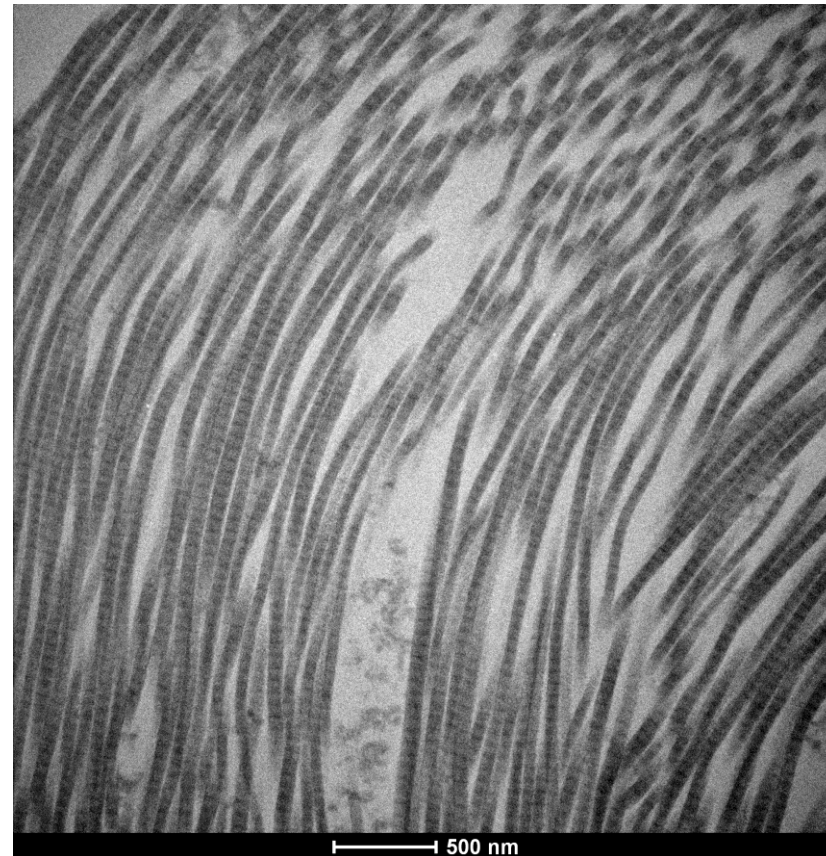
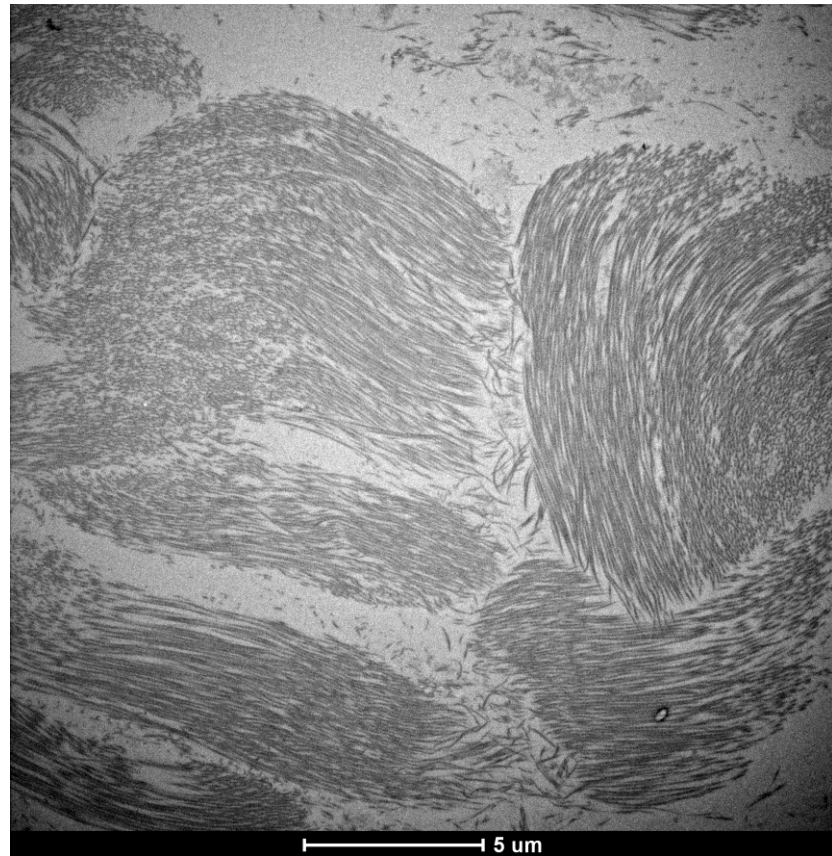
# Cortes ultrafinos de muestras para TEM: Ultramicrotomo

Fijación+postfijación  
Os+Deshidratación Inclusion en  
resina + secciones  
ultrafinas+contraste



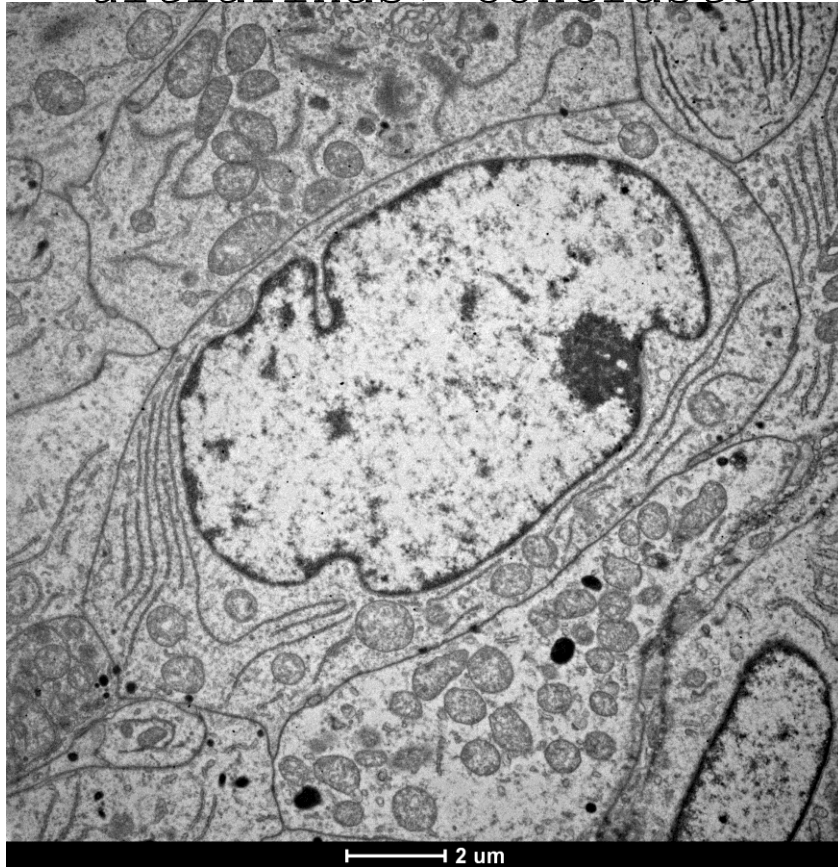
# TEJIDOS, CÉLULAS, ORGANOIDES y ESFEROIDES

Fijación+Postfijación Os+Deshidratación +  
Inclusión en resina+Secciones ultrafinas+  
Contraste

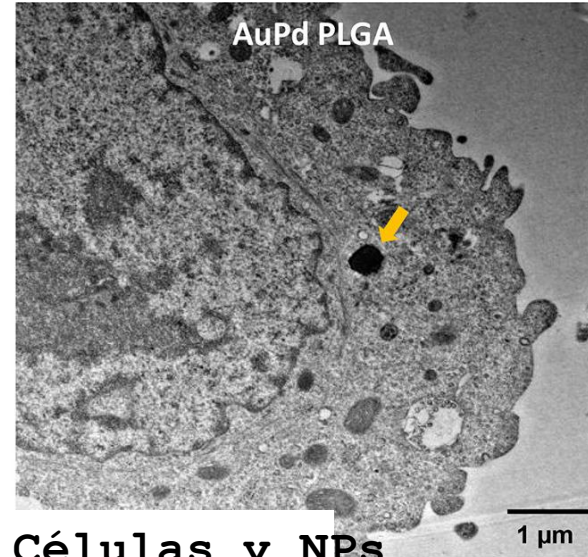


Corte de tejido con colágeno

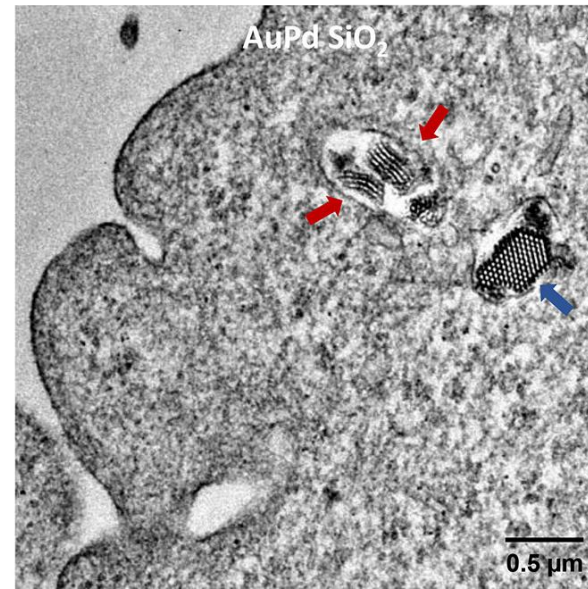
Fijación+Postfijación  
Os+Deshidratación +  
Inclusión en  
resina+Secciones  
ultrafinas+ Contraste



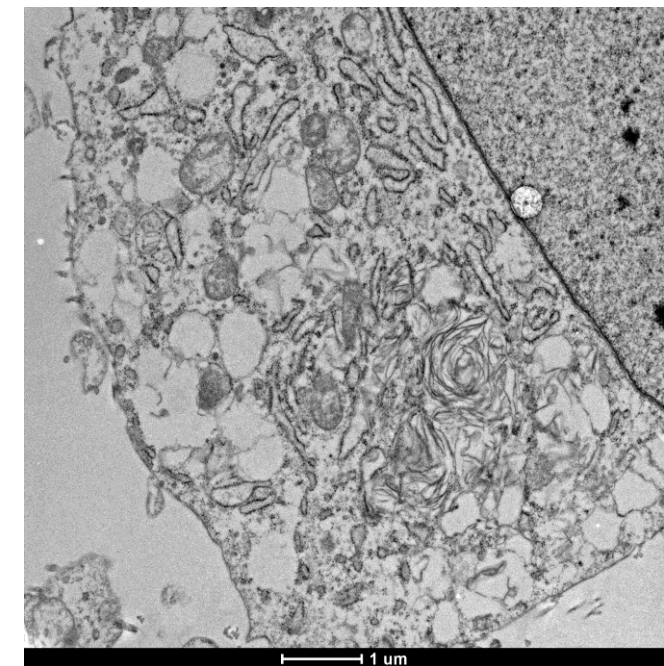
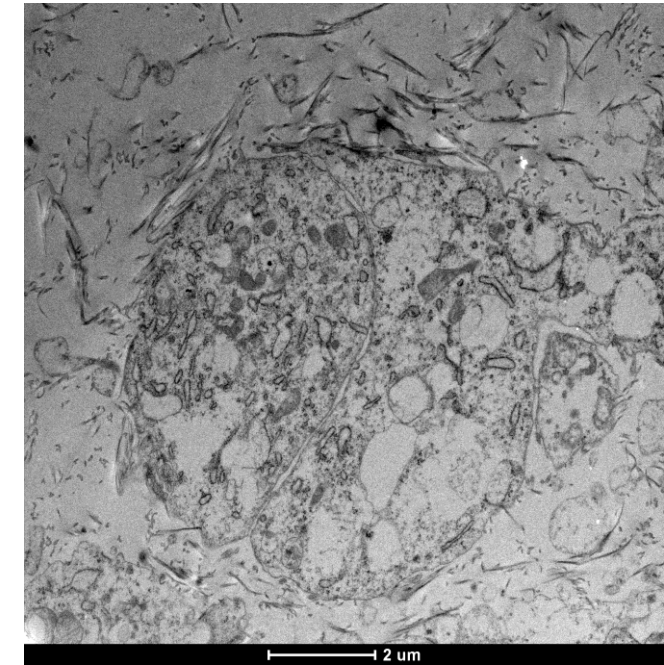
Tejido



Células y NPs

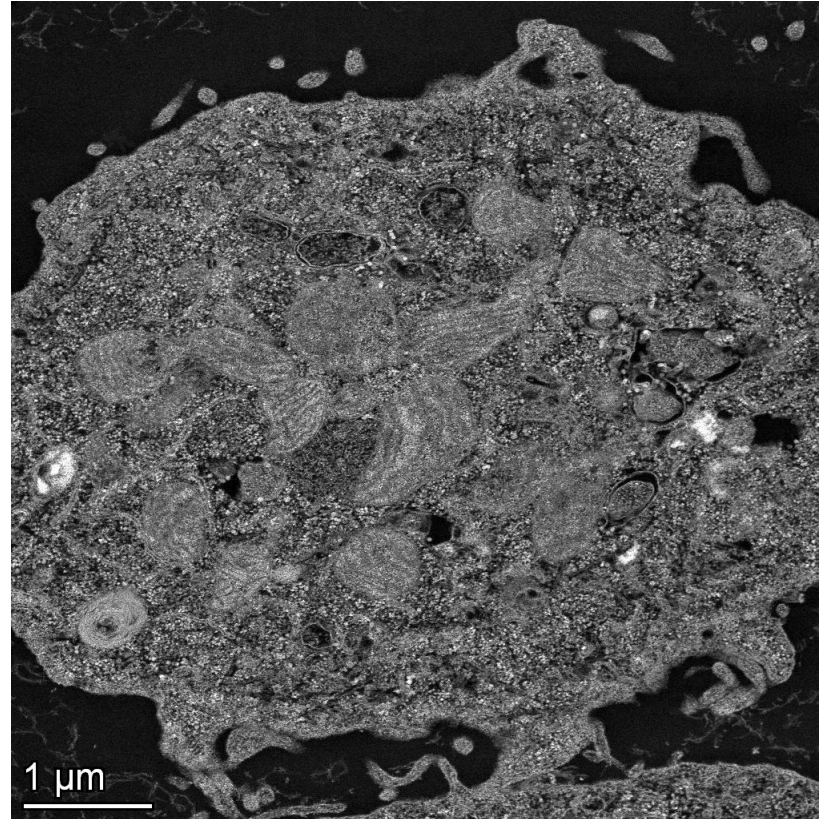
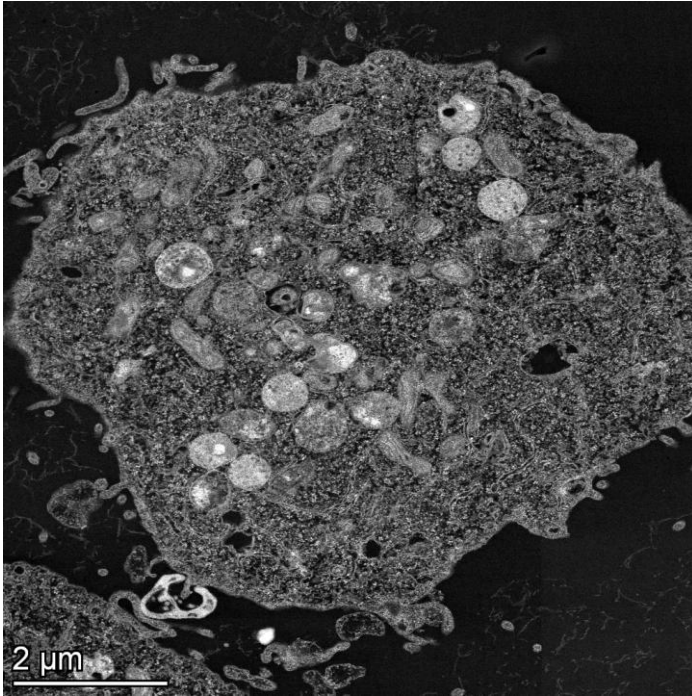
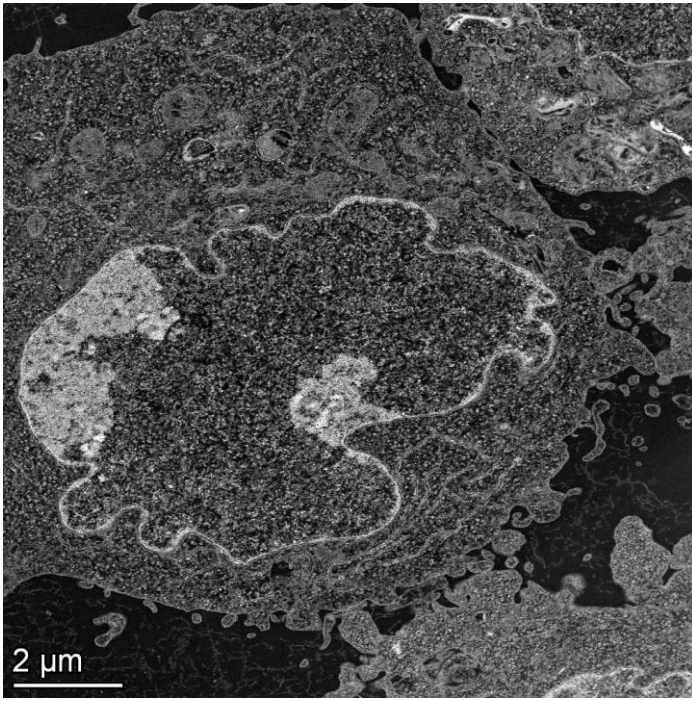


Rubio-Ruiz, B., Pérez-López, A. M., Uson, L., Ortega-Liebana, M. C., Valero, T., Arruebo, M., ... & Unciti-Broceta, A. (2023). In cellulo bioorthogonal catalysis by encapsulated AuPd nanoalloys: overcoming intracellular deactivation. *Nano Letters*, 23(3), 804-811.



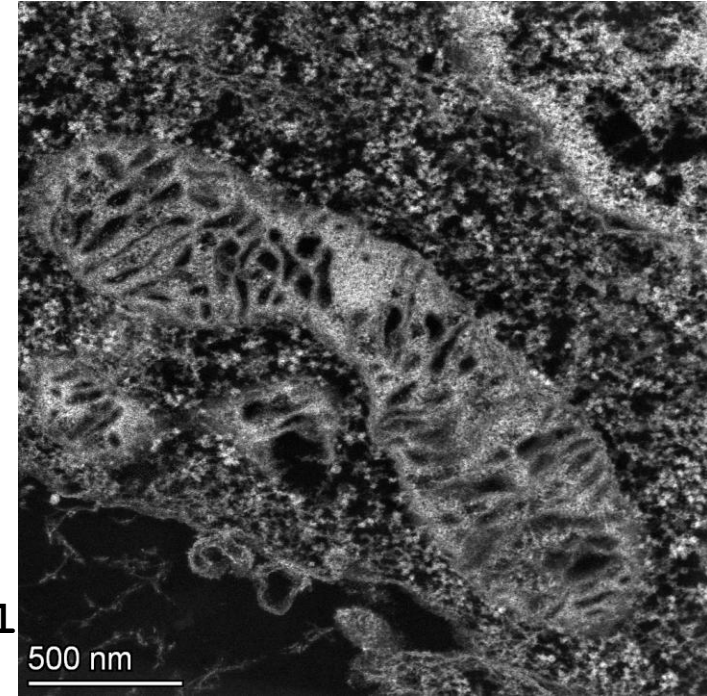
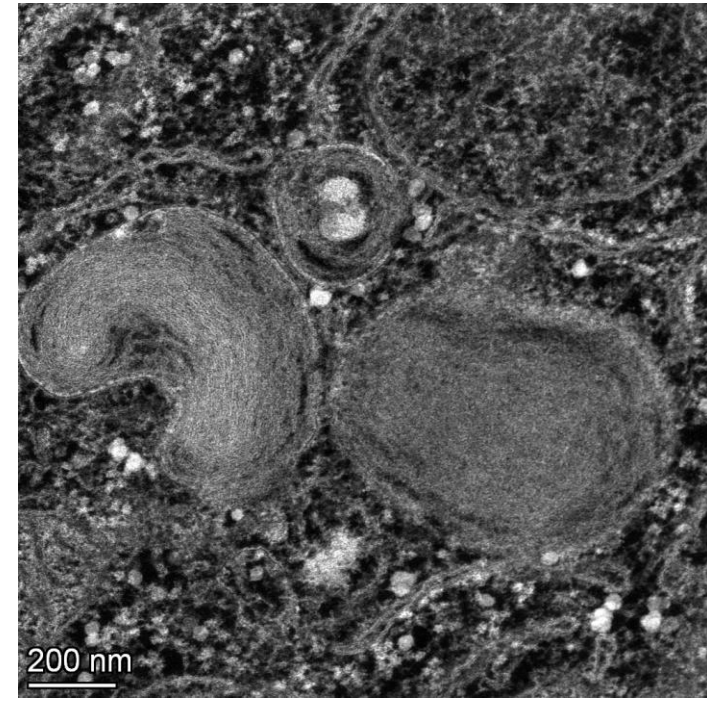
# TEJIDOS, CÉLULAS, ORGANOIDES

Fijación+Postfijación  
Os+Deshidratación + Inclusión  
en resina+Secciones  
ultrafinas+ (Contraste)



Imágenes STEM

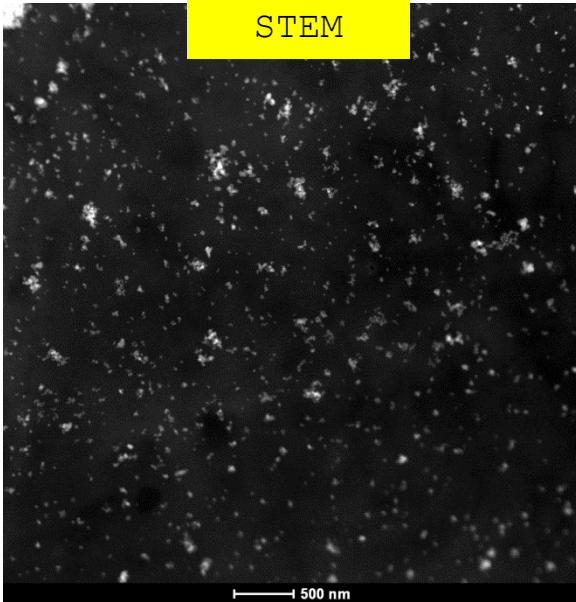
Células (con nanopartículas internal



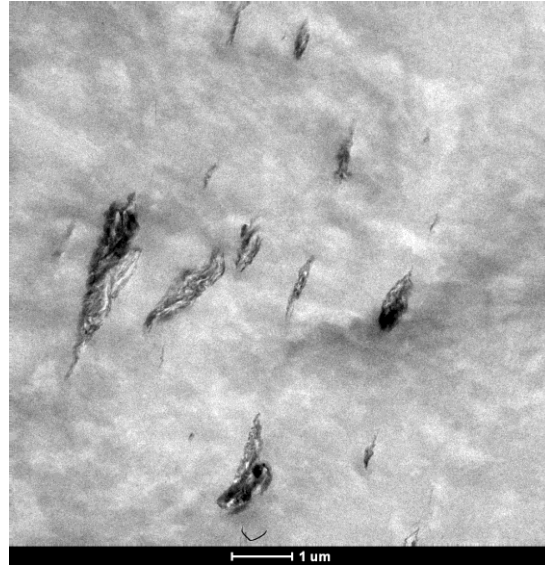
# FILM, PELLETS Y MEMBRANAS POLIMÉRICAS

Corte ultrafino por cryoultramicrotomía de **polímeros con fillers en dispersión**

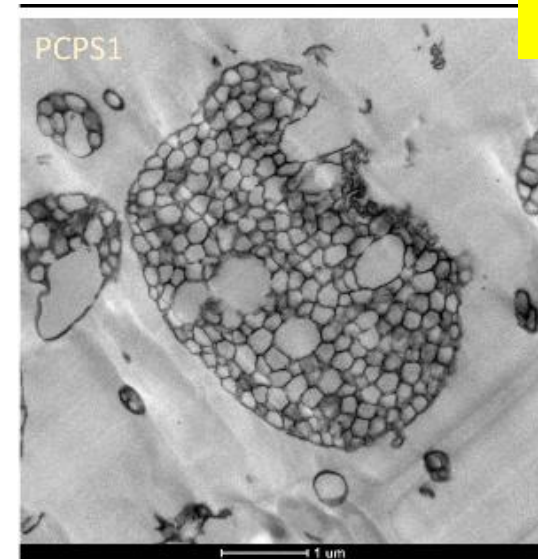
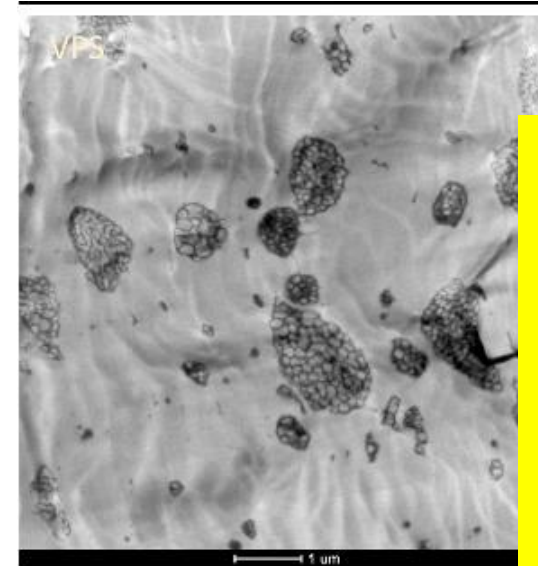
Imagen STEM



Probeta polimérica con catalizador disperso



Film con arcillas dispersas



Film compuesto por dos fases poliméricas

Corte ultrafino de un **film con distintas fases poliméricas.**

Cortado por cryoultramicrotomía y teñido

Velázquez, E., López-de-Dicastillo, C., Tapia, A., Garrido, L., Catalán, L., Valenzuela, X., ... & Galotto, M. (2024). Repetitive mechanical recycling of post-consumer high impact polystyrene from yogurt cups: A pilot-scale performance assessment at different reprocessing cycles. *Resources, Conservation and Recycling*, 202, 107368.

# LABORATORIO DE MICROSCOPIAS AVANZADAS

