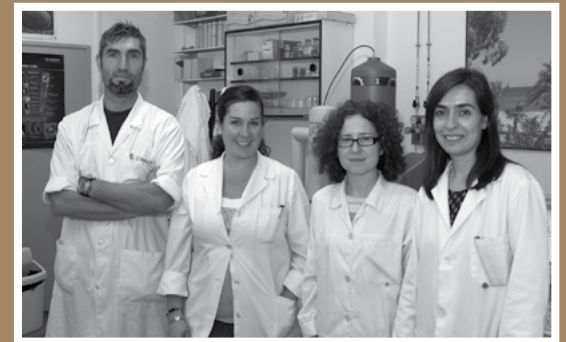




# Analizar muestras sin dañarlas: El servicio de técnicas no destructivas del MNCN

Texto y fotos: Laura Tormo, responsable del Servicio de Técnicas no destructivas del MNCN



Microfotografía de la cabeza de una hormiga hecha con el Microscopio Electrónico ambiental



Para hacer ciencia es necesario observar y analizar los objetos de estudio. Este análisis a veces conlleva la destrucción de la muestra, pero muchas veces esa destrucción es inasumible. ¿Cómo estudiar una pieza única de una colección de Historia Natural? ¿Quién se atrevería a estropear un ejemplar que puede ser el único que quede en la Tierra?

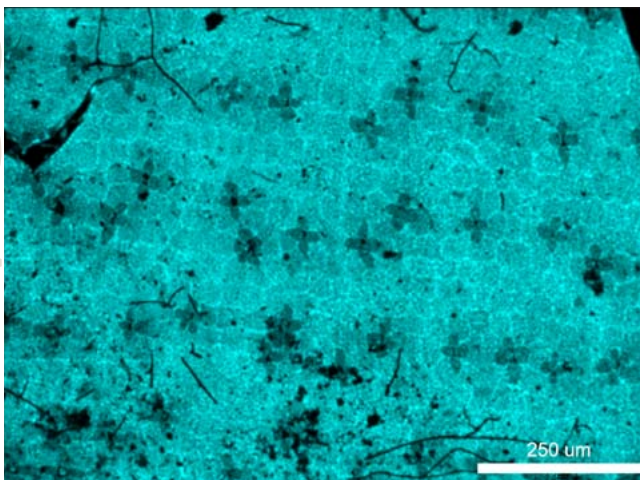
Afortunadamente el desarrollo de la ciencia y la tecnología han hecho posible la creación de técnicas que van más allá de la simple observación pero que mantienen las muestras intactas. Esto es lo que se consigue en el Servicio de Técnicas No Destructivas del MNCN.

Hasta 2003 fue el laboratorio de Microscopía Electrónica y en ese año adquirió un nuevo Microscopio Electrónico ambiental con novedosas prestaciones que ahorran las preparaciones previas (fijaciones, deshidrataciones, metalizaciones, etc...), que modifican y en muchos casos destruyen las muestras, pero que son ne-

*“El servicio cuenta actualmente con cuatro técnicos con una gran experiencia en equipos de Microscopía Electrónica de Barrido, Confocal espectral, Tomografía y Espectroscopías varias entre otros”*

cesarias para la observación en un microscopio electrónico convencional.

El nuevo Microscopio Electrónico trabaja con una cámara de mayores dimensiones que permite introducir muestras de una gran variedad de tamaños así como preservar su estado inicial para su posterior estudio. Además este Microscopio tiene acopladas dos sondas de análisis químico elemental, una por Energía Dispersiva de Rayos X (EDS), y otra por longitud de Onda Dispersiva (WDS), para análisis de elementos traza. Lo que se consigue con estas dos técnicas es, mediante el bombardeo con electrones de



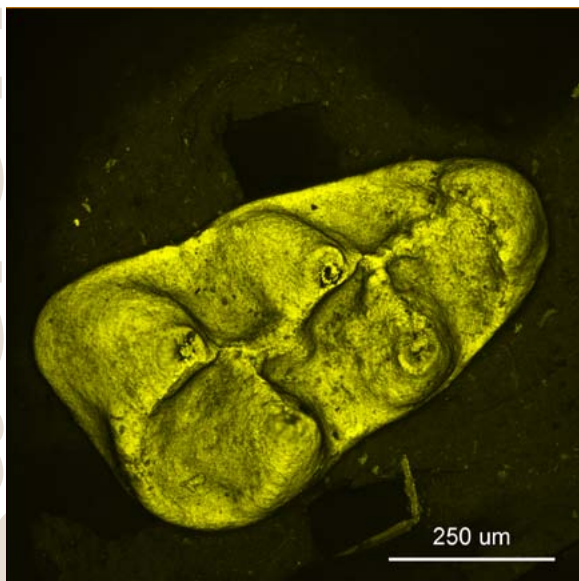
Patrón estomático de una gimnosperma del Carbonífero donde podemos apreciar la densidad y distribución de los estomas. Visto por fluorescencia en el Microscopio Confocal espectral.

Espectrómetro Raman.





investigación



Microfotografía de un primer molar inferior de un cricétido (hámster) del Mioceno medio de la Cuenca de Calatayud-Montalbán (Zaragoza, España) por fluorescencia, tomada mediante el Microscopio Confocal Espectral

la muestra, analizar la energía o la longitud de onda que es dispersada por cada uno de los elementos químicos de la muestra y descubrir así su composición.

Dada la versatilidad del equipo, que permite la observación topográfica a grandes aumentos y el análisis químico elemental de cualquier tamaño de punto o área en dicha superficie, la nueva equipación tuvo una gran demanda de usuarios, tanto internos como externos, lo que permitió que el laboratorio fuera incorporando nuevos equipos.

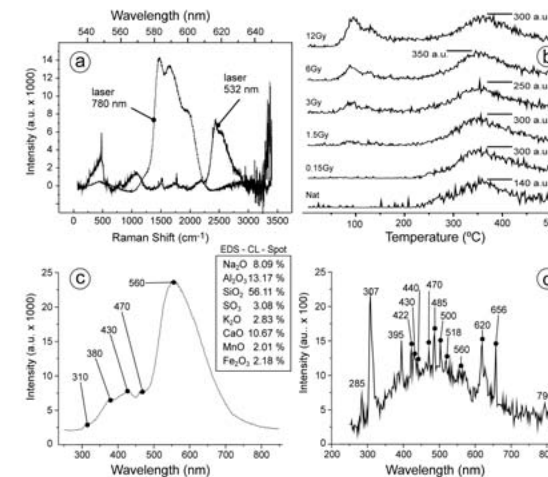
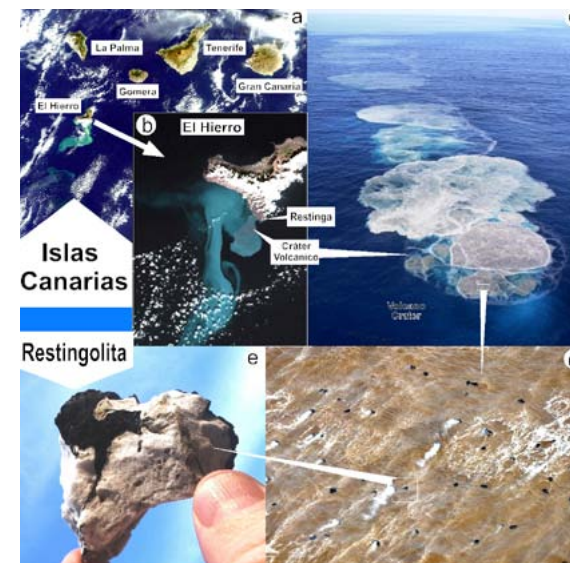
## “El Microscopio Electrónico permite la observación topográfica a grandes aumentos y el análisis químico elemental de cualquier tamaño de punto o área de una muestra”

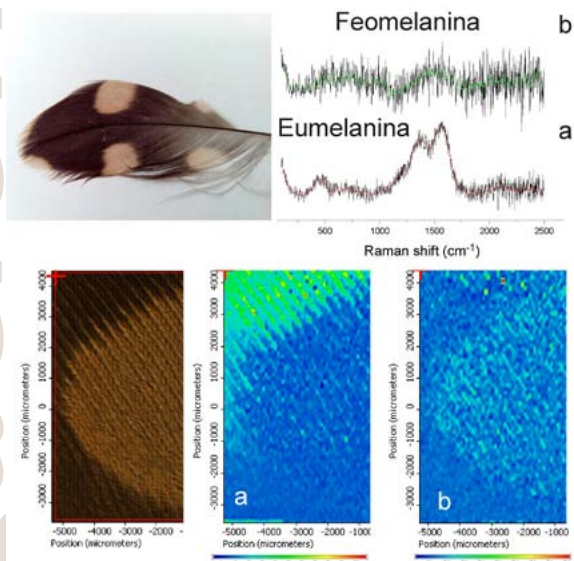
En 2007 llegó al Museo un nuevo Microscopio Electrónico con presión controlada, sondas de análisis químico EDS así como una nueva sonda de Catodoluminiscencia que, aplicada a un Microscopio Electrónico ambiental, lo convertía en un equipo único en España. La Catodoluminiscencia es una técnica no destructiva que hace un análisis espectral de la luminiscencia que la muestra emite al ser bombardeada por electrones. De esta forma se consigue información analítica y estructural de la misma.

En 2009 se incorporó al laboratorio la Técnica de Espectroscopía Raman que lleva acoplado un

Análisis de restingolita procedente de la erupción volcánica de la Isla del Hierro. Mediante diferentes técnicas del Servicio de Técnicas No Destructivas se usó la Microscopía Electrónica de Barrido para realizar imágenes topográficas de la roca y la Energía Dispersiva acoplada al Microscopio (SEM-EDS) para el análisis químico de la roca. Además se analizó una comparativa del vidrio volcánico de la roca con otros vidrios de diferente origen mediante la catodoluminiscencia acoplada al Microscopio Electrónico (SEM-CL).

Microscopio Confocal y que permite el análisis molecular de muestras tanto sólidas, como líquidas o gaseosas. La fibra óptica de análisis que





Espectros raman característicos de los dos tipos de pigmentos de melanina que componen las plumas de halcón (familia Falconidae). Mapa hiperespectral 2d de una región de la pluma en el que se observa la distribución de ambos tipos de pigmentos melánicos (oscuro para la eumelanina y claro para la feomelanina)

incorpora este equipo, permite analizar muestras de gran tamaño sin tener que introducirlas en la cámara. Además, por su característica de confocalidad (muestra enfocados distintos planos de una muestra), permite analizar planos interiores e inclusiones preservando la integridad de la muestra.

Fue en este momento cuando el conjunto de laboratorios recibió su actual denominación: Servicio de Técnicas No Destructivas: Microscopías y Espectroscopías, dado que la premisa

*“El Microscopio Confocal RAMAN permite el análisis molecular de muestras tanto sólidas, como líquidas o gaseosas”*

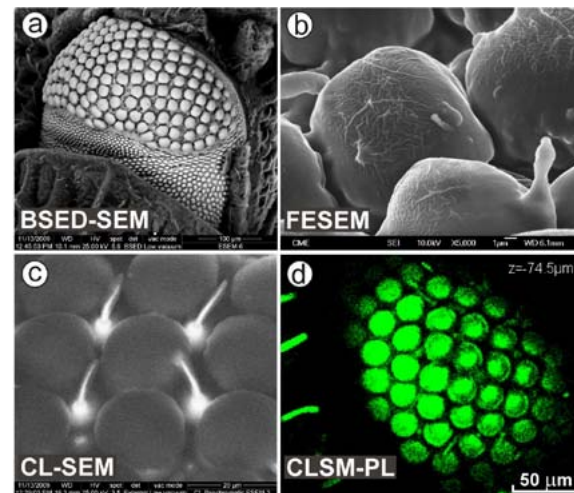
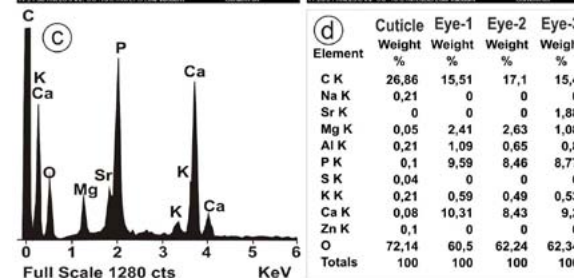
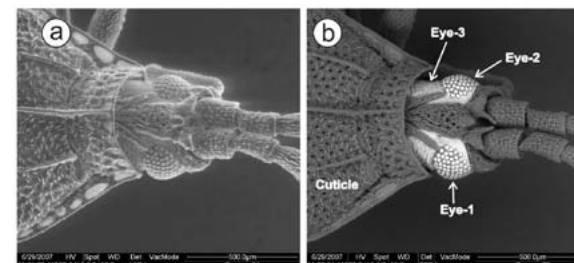
del mismo era la preservación de la muestra en su estado original para su estudio, un detalle trascendente para las valiosas colecciones de Historia Natural que custodia el MNCN así como para los grupos de investigación de este y otros organismos que demandaban este tipo de análisis.

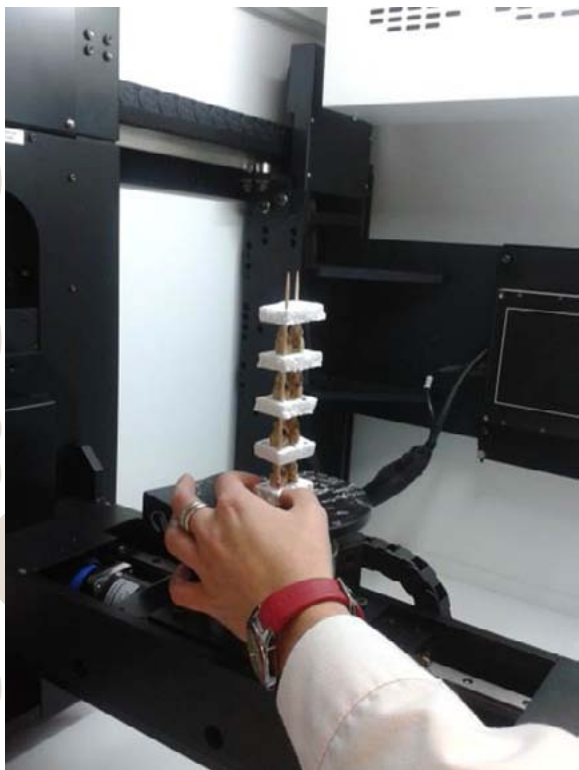
En 2010 el Museo adquiere un nuevo equipo, esta vez un Microscopio Confocal Espectral de Fluorescencia. La nueva equipación es incorporada al servicio porque, al igual que las

Análisis del chinche, *Copium teucii*, mediante diferentes técnicas del Servicio de Técnicas No Destructivas. Se realizaron imágenes topográficas (detector de electrones secundarios) y composicionales (detector de electrones retrodispersados-BSED) mediante Microscopía Electrónica de Barrido, con las que se observó que los ojos del chinche tenían una composición química atípica. Tras analizar mediante EDS los ojos y el resto de las partes del chinche se determinó que los ojos estaban compuestos por fosfato cálcico. Se realizaron más análisis para caracterizar estos ojos tan atípicos usando Microscopía confocal espectral para determinar las diferentes emisiones fluorescentes dentro del ojo, y usando la catodoluminiscencia acoplada al Microscopio Electrónico de Barrido (SEM-CL) para determinar los cambios de luminiscencia dentro del mismo según la variación en la estructura química del ojo.

anteriores, es una técnica no destructiva que complementa los diferentes análisis que ofrecemos.

Gracias al Microscopio Confocal Espectral de





Preparación de una muestra para el CT SCAN.

Fluorescencia se realizan estudios de muestras con marcaje fluorescente o con autofluorescencia, que hacen secciones ópticas de las mismas permitiendo la detección de un solo plano focal.

Este avance en el campo de la microscopía posibilita el estudio tridimensional de las muestras, incluyendo su interior y en determinados materiales permite la obtención de imágenes de su superficie mediante reflexión.

El sistema también permite realizar plots de

*“El Microscopio Confocal Espectral de Fluorescencia posibilita el estudio tridimensional de las muestras, incluyendo su interior, y en determinados materiales permite obtener imágenes de su superficie”*

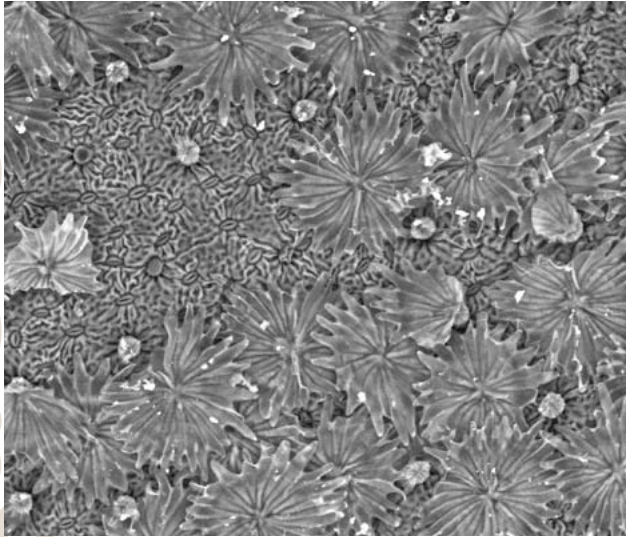
microtopografía, es decir, se obtienen topografías de superficies muy pequeñas gracias a que el láser enfoca diferentes planos de superficies.

En el año 2012 el MNCN compra una gran equipación novedosa en el CSIC, un equipo de Microtomografía Computerizada de Rayos X, un CT-SCAN que se incorpora al Servicio de Técnicas No Destructivas.

Para funcionar, se coloca una muestra en una



Uso de diversas técnicas del Servicio de Técnicas No Destructivas para caracterización de un anillo. Se observa un análisis químico elemental mediante Microscopía Electrónica de Barrido y la sonda de EDS para conocer la aleación del anillo, también se usaron la espectroscopía Raman para el análisis de las gemas y la fotoluminiscencia para analizar el rubí, ya que es un potente cromóforo.



Microfotografía con Microscopio Electrónico ambiental de la superficie de hoja de olivo.

plataforma giratoria en el CT-Scan que se encuentra entre una fuente de rayos X y un detector. El detector adquiere imágenes radiográficas en 2D del objeto según gira. Una vez que el objeto ha realizado un giro completo de 360 grados, se toman dichas radiografías y se envían a través de un software con un algoritmo de reconstrucción que crea un mapa volumétrico en 3D de la muestra. No solamente dispondremos de la información superficial externa, tal como dispondría con una nube de puntos en 3D de la exploración con láser, sino que además disponemos de superficies internas e información adicional sobre lo que está entre las superficies a partir de la densidad.

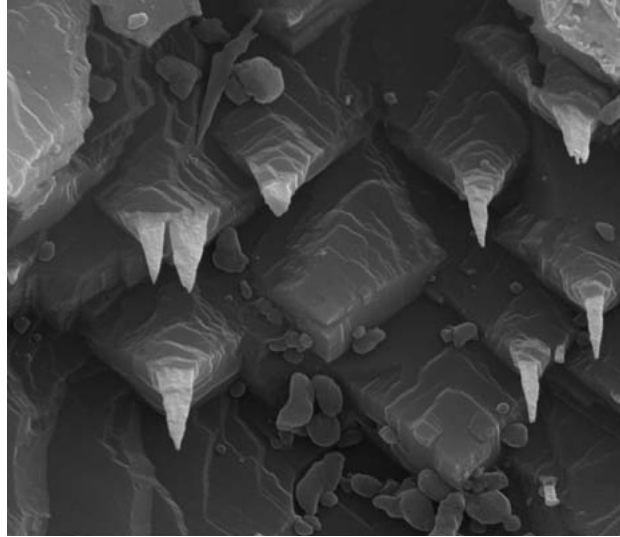


Imagen de Microscopía Electrónica de Barrido de microestalactitas de sílice sobre carbonato cálcico.

Además el laboratorio ha adquirido un potente software, el VG STUDIO MAX 2.2, para la evaluación de datos. El programa informático permite analizar variables como áreas, volúmenes, porosidad, grosores, densidad, estructuras internas, etc...

*“La premisa del servicio de Técnicas No Destructivas: Microscopías y Espectroscopías es la preservación de la muestra en su estado original para su estudio”*



Microtomografía de Rayos X de una rana diminuta tomada mediante el CT SCAN. Se investiga si la miniaturización ha seguido el mismo camino evolutivo en diferentes linajes.

La última incorporación a este Servicio será en octubre del presente año, momento a partir del cual ofreceremos el análisis con el Microscopio 3D de alta Resolución- perfilómetro Óptico.

Este equipo permite la observación y caracterización superficial de materiales a escala mili-, micro- y nanométrica. Permite la visualización tridimensional y la medición sin contacto con las superficies en tres dimensiones. Así realiza una rápida evaluación no invasiva de la micro- y nano-topografía de las muestras con múltiples configuraciones. El empleo de luz blanca proporciona imágenes con color real de la muestra y evita restricciones debido a las propiedades de la misma, como son la ausencia de fluorescencia



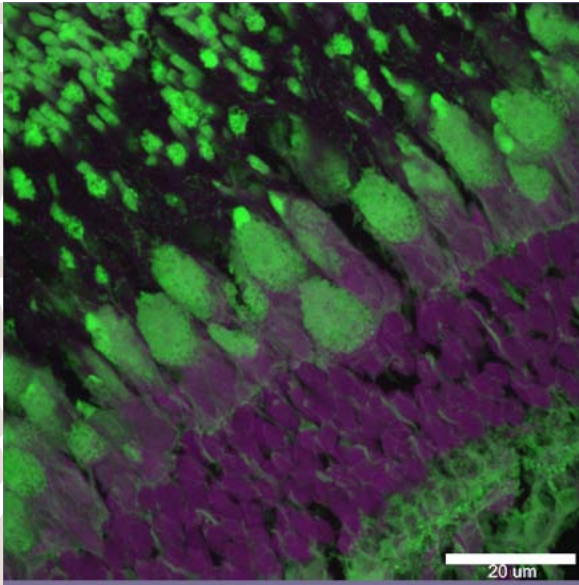
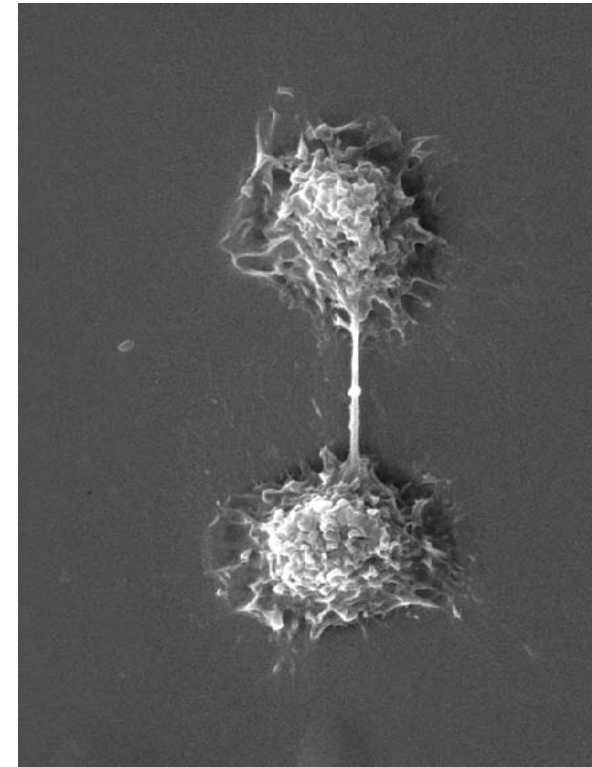


Imagen de fluorescencia mediante el Microscopio Confocal espectral del Servicio de Técnicas No Destructivas. Retina de un ojo de un pez calandino, *Squalius alburnoides*, teñida con hematoxilina/eosina. Se observan, en color morado, los núcleos de los receptores así como los núcleos de neuronas que forman parte de la retina. En verde se observa el citoplasma de los fotorreceptores y de dichas neuronas.

*“Próximamente se incorporará al servicio un Microscopio 3D de alta Resolución que permite la observación y caracterización superficial de materiales a escala mili-, micro- y nanométrica”*



Microscopio Electrónico de Barrido FEI Inspect con presión controlada y sondas de EDSY CL



Fotografía de microscopía electrónica de barrido de Células de cáncer dividiéndose.

o al tener muestras irregulares con fuertes pendientes.

La reconstrucción de estas imágenes por planos proporciona fotografías 3D que pueden voltearse para observar distintos ángulos de la muestra, visualiza la topografía de la muestra asociando colores por planos de igual altura en el barrido vertical de la misma, caracteriza y mide cuantitativa y cualitativamente las irre-





Microtomografía de Rayos X mediante el CT SCAN del Servicio de Técnicas No Destructivas. Reconstrucción virtual (realizada por el grupo de Paleontología del MNCN) de metacarpos de un neandertal del yacimiento de El Sidrón (Asturias).

Laura Tormo en el Microscopio Electrónico de Barrido FEI Quanta 200 con presión controlada y sondas de EDSY WDS



gularidades topográficas 3D en plano y en pendientes.

Además este servicio ofrece asistencia técnica de equipos de carácter más destructivo, pero que también proporcionan una información analítica importante, que son el Análisis Térmico Diferencial (ATD/ATG) que permite el estudio de la evolución de muestras sólidas en función de la temperatura, analizándose simultáneamente las pérdidas o ganancias de peso de la muestra (ATG) y los efectos térmicos que sufren las mismas (ATD) y el Analizador de distribución del tamaño de partícula por Difracción Láser que permite medir partículas de entre 0,04 y 2000 micras.

El laboratorio no solo ha ido aumentando en equipamiento sino que también lo ha hecho en personal. Actualmente cuenta con cuatro técnicos (doctores y licenciados) con una gran experiencia y elevada capacidad técnica en equipos de Microscopía Electrónica de Barrido

*“El CT-Scan crea imágenes radiográficas en 2D del objeto que gira sobre sí mismo. Con esas imágenes se crea un mapa volumétrico en 3D de la muestra”*

(ambiental, bajo y alto vacío), Confocal láser y Tomografía (CTScan), así como Espectroscopía de Catodoluminiscencia, Energía dispersiva, longitud de onda, Raman, Termogravimetría y Difracción Láser.

Toda esta diversidad de Técnicas No Destructivas dan a este laboratorio un carácter multidisciplinar y una gran demanda, dado que estas técnicas son utilizadas por diversos sectores como la Biología, Geología, Paleontología, Medicina, Entomología, Ingeniería, Trabajos periciales, Controles de Calidad, Gemología, Arte, Petrografía, Química, Física, Prototipados, etc... ■

