

PROTOCOLO DE PREPARO DE CORANTES

EA 36

Para preparar o EA 36, primeiramente separamos os itens e criamos alguns corantes que farão parte da coloração principal, conforme informado abaixo:

EOSINA

- 2,5g de eosina em pó;
 - 25ml de água deionizada;
 - 475ml de álcool absoluto;
 - 400ul de ácido acético.
1. Depois de separados, dissolvemos a eosina em pó em água destilada/deionizada até que fique apenas o líquido;
 2. Após isso acrescentamos 475ml de álcool absoluto;
 3. Para finalizar, acrescentamos 400ul (microlitro) de ácido acético. Misture tudo e reserve.

Obs.: Os 400ul de ácido, deve ser coletado com uma pipeta.

VESUVINA (PARDO BISARCK)

- 2,5g de vesuvina em pó;
 - 25ml de água deionizada;
 - 490ml de álcool absoluto.
4. Dissolva a vesuvina na água destilada/deionizada e acrescente 490ml de álcool absoluto. Misture e reserve.

VERDE CLARO

- 1g de verde claro em pó;
 - 10ml água deionizada;
 - 490ml de álcool absoluto;
 - 2g de ácido fosfotungstico.
5. Dissolva o verde claro em água deionizada/destilada, acrescente 490ml;
 6. Misture e reserve.

Agora que já temos os 3 corantes de comporção o EA36, seguimos a seguinte sequência de mistura e quantidades:

- 450ml de eosina;
- 100ml de vesuvina;
- 450ml de verde claro;

Basta mistura-los e acrescentar **2g de ácido fosfotungstico**, filtrar e usar.

ORANGE

Separe os seguintes itens:

- 5,0g de orange em pó;
- 50ml de água deionizada;
- 1000ml de álcool absoluto;
- 150mg ácido fosfotungstico.

1. Dissolva o orange na água até ele ficar apenas o líquido;
2. Acrescente 1000ml de álcool absoluto, após ter dissolvido o orange;
3. Em seguida, acrescente 150mg de ácido fosfotungstico.
4. Misture bem, aguarde um pouco e estará pronto.

HEMATOXILINA DE HARRIS

Separe os seguintes itens:

- 5g Hematoxilina;
- 50ml Álcool 95%;
- 100g Sulfato de Alumínio e Potássio;
- 1000ml Água Destilada;
- 2,5g Óxido de Mercúrio;
- Uma panela com tampa.

1. Dissolva a hematoxilina em pó no álcool;
2. Depois dissolva o sulfato de alumínio na água destilada com o auxílio de calor (no fogão por exemplo);
3. Misture as duas soluções e ferva o mais rápido possível.
4. Remova a solução da fonte de calor e junte com o Óxido de Mercúrio, **aos pouquinhos e com cuidado**, reaqueça até a fervura. Após ferver conte um minuto.
5. Após o tempo solicitado, afaste a solução da fonte de calor e mergulhe em uma bacia com água e gelo imediatamente.
6. Então adicione 4 ml de Ácido Acético, quando o corante estiver resfriado.