
Trabajo Práctico N° 1: Microscopía Óptica

Nombre:

Comisión:

Objetivos

1. Reconocer las partes del microscopio.
2. Aprender las normas básicas para el manejo y cuidado.
3. Enfocar correctamente un preparado.

Microscopía Óptica:

El microscopio de luz es un sistema óptico de lentes convergentes que cumplen la función de aumentar la imagen de un objeto.

Información Teórica

El estudio morfológico de la célula implica la investigación de su forma y la de los constituyentes que contiene. Para ello debemos tener en cuenta que el ojo humano posee un Poder de Resolución de aproximadamente 1/10 mm., o lo que es lo mismo 100µm.

La mayoría de las células eucariotas miden de 10 a 30µm. De diámetro (entre 3 a 10 veces menor que el poder de resolución del ojo humano); las células procariotas son más pequeñas todavía. Esto nos sugiere que para observar células individuales y más aún, para examinar su estructura interna, debemos recurrir al uso de instrumentos que amplían nuestras posibilidades de observación y ellos son los MICROSCOPIOS.

El microscopio es un instrumento que nos permite visualizar directamente, por el aumento de la imagen, cuerpos no visibles al ojo desnudo.

Durante el desarrollo de los trabajos prácticos a realizarse durante el presente curso lectivo se utilizará el Microscopio Óptico – Lumínico.

Partes del Microscopio: se deben considerar dos partes:

1. Parte Mecánica..
2. Parte Óptica.

Parte Mecánica: es un sistema que mantiene en posición la parte óptica y se encuentra formada por los siguientes elementos:

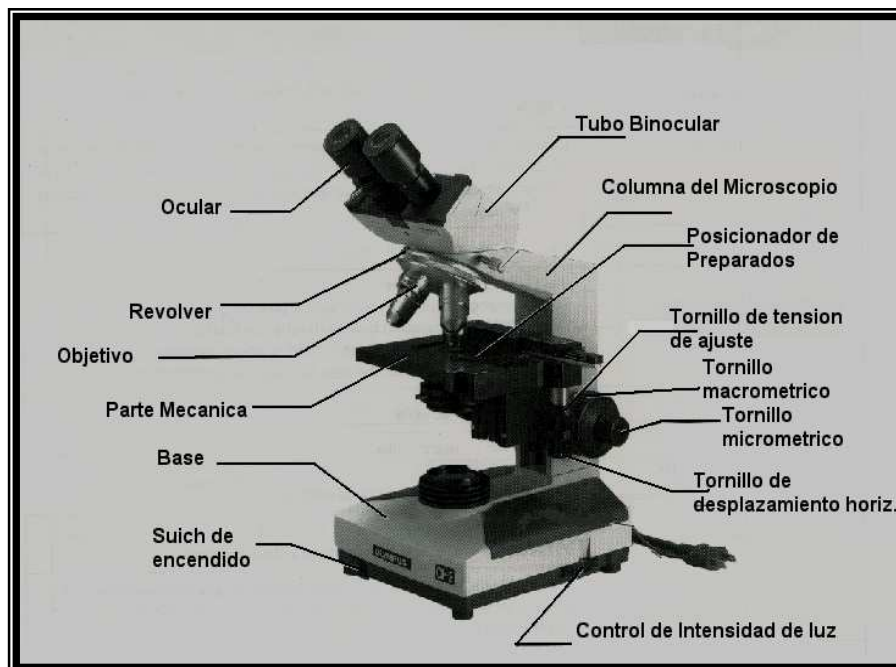
1. Pie: es el que sirve de base al instrumento. Es sólido y muy pesado.
2. Columna: es un vástago vertical que parte del pie y sostiene al tubo y a la platina.
3. Tubo: sostiene él o los oculares y los objetivos. Estos últimos están colocados en un tambor giratorio llamado revolver.

Para el desplazamiento del tubo o de la Platina y lograr el enfoque correcto, existe un Sistema de Enfoque, formado por dos Tornillos:

- ◆ Tornillo Macrométrico: que es el que permite efectuar movimiento amplios.
- ◆ Tornillo Micrométrico: que es el que permite realizar los movimientos finos.

Con el tornillo Macrométrico se busca el punto aproximado de enfoque y luego con el tornillo Micrométrico se obtiene el punto exacto.

4. Platina: es el lugar donde se coloca el material a observar, el cual está sustentado en un portaobjetos. La platina presenta una abertura central, a través de la cual pasa la luz, y un carro mecánico que permite movilizar el preparado. Esto se realiza por medio de un tornillo de desplazamiento lateral y anteroposterior.

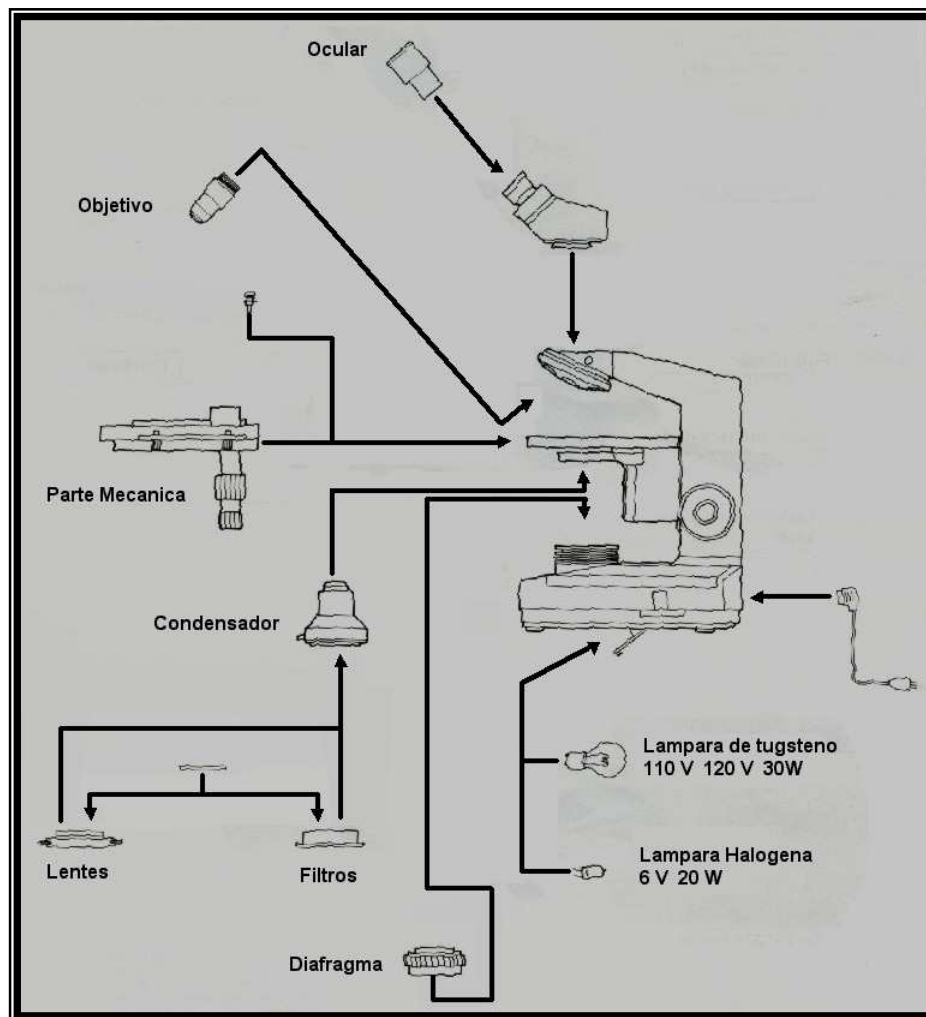


Parte Óptica: ésta parte consta de los siguientes elementos:

- ◆ Dos sistemas de lentes convergentes centradas: Objetivo y Ocular.
- ◆ Condensador.
- ◆ Diafragma.
- ◆ Fuente luminosa.

1. Objetivo: llamado así porque se halla próximo al objeto a examinar. Es un sistema de lentes ubicadas en la parte inferior del tubo. Existen dos tipos de objetivos: los objetivos a seco y los objetivos a inmersión. Los objetivos a seco son aquellos en los que entre la lente y el objeto existe una pequeña capa de aire. Este tipo de objetivos son los de menor aumento. Los objetivos a inmersión son aquellos en los cuales se interpone entre la lente y el objeto un líquido (aceite de cedro) el cual tiene un índice de refracción que es semejante al del cristal de la lente.

2. Ocular: es llamado de ésta forma porque se halla próximo al ojo del observador. Esta formado por un sistema de lentes convergentes. Los microscopios pueden tener dos modelos de oculares: modelos de un solo ocular (monocular) o modelos con dos oculares (binoculares). Su función es la de aumentar la imagen proyectada por el objetivo.
3. Condensador: recibe la luz y la intensifica, permitiendo una mayor claridad de la imagen.
4. Diafragma: su función es la de graduar la cantidad de luz que reciba el objeto.
5. Fuente luminosa: es una lámpara que se encuentra al pie del microscopio.
6. Portafiltro: es el lugar donde se coloca un filtro, generalmente de color azul, para obtener una luz homogénea y parecida a la luz natural. En algunos modelos de microscopio el filtro esta incorporado a la lámpara.



Formación de la imagen en el Microscopio

La imagen en un microscopio se forma por la transmisión de los rayos provenientes de una fuente luminosa a través del objeto. Los rayos luminosos atraviesan el diafragma, que a manera de iris, delimita el diámetro del haz lumínico que penetra por el condensador. Este último, está formado por un sistema de lentes convergentes que concentra y proyecta el haz lumínico sobre el objeto a examinar, a través de la abertura de la platina. El objetivo recoge la luz que atravesó el objeto examinado y proyecta una imagen real, invertida y aumentada que se forma dentro del tubo y que es recogida por el ocular que es la segunda lente, la cual forma una imagen virtual, invertida y aumentada del objeto examinado.

Imagen real: significa que podrá ser recogida por una pantalla o por una placa fotográfica.

Imagen virtual: es una impresión subjetiva que no puede ser recogida ni por pantalla ni por placas fotográficas.

Actividades

1. Instalación del microscopio.
2. Identificación de las partes.
3. Ajuste preliminar e iluminación del campo.
 - a) Usar el tornillo macrométrico para elevar el tubo o bajar la platina con el fin de que los objetivos no la toquen al hacer girar el revólver.
 - b) Girar el revólver de modo que el objetivo de menor aumento (el más corto) quede alineado por el ocular.
 - c) Abrir el diafragma todo lo posible y seleccionar la iluminación correcta. Para ello utilizar el condensador y el diafragma.
4. Enfoque.
 - a) Usar el tornillo macrométrico y elevar el tubo o mover la platina hasta que halla un espacio de aproximadamente 1 cm entre el objetivo de menor aumento y la superficie de la platina.
 - b) Colocar el portaobjetos sobre la platina y sostener con las pinzas. Mirar a través del ocular y elevar lentamente hasta obtener una visión clara.
 - c) Realizar un enfoque fino de la estructura con el tornillo micrométrico hasta observar con total nitidez.
 - d) Hacer girar el revólver y el portaobjetivo de modo que el objetivo de gran aumento quede alineado con el ocular (asegurándose que el extremo del objetivo no toque el cubreobjeto. Si esto ocurre debe repetirse toda la secuencia).

- e) Si el preparado no se observa con nitidez usar el tornillo micrométrico para el enfoque final.
 - f) Para usar el objetivo de inmersión (el más largo) depositar una gota de aceite de cedro sobre el portaobjeto. Bajar lentamente el objetivo hasta tocar el preparado y enfocar con el micrométrico.
5. Práctica.
- a) Observe el portaobjetos que presenta la letra A y describa tal como lo ve a simple vista y a través del microscopio óptico.
 - b) Observe el preparado que posee la letra F. Describa su posición tal como lo ve a simple vista y a través del microscopio óptico.
 - c) Mire a través del ocular y mueva el portaobjetos hacia delante lentamente. Hacia que lado se mueve la letra? Mueva el portaobjetos hacia la derecha. En que dirección se desplaza la letra?
6. Observación del preparado.
7. Normas básicas para el cuidado y manejo del microscopio
- a) Transportar el microscopio con las dos manos, sujetar con una el brazo y con la otra el pie.

Los malos resultados en la observación pueden ser debidos:

- ◆ A la iluminación..
- ◆ Condensador bajo.
- ◆ Diafragma muy cerrado.
- ◆ Filtros.
- ◆ Al enfoque.
- ◆ Objetivo fuera de lugar.
- ◆ Lente, objetivo u ocular sucio.
- ◆ Preparado mal concentrado.
- ◆ Preparado con el cubreobjetos hacia abajo.
- ◆ Cubreobjetos sucio.
- ◆ Movimientos muy rápidos del tubo.

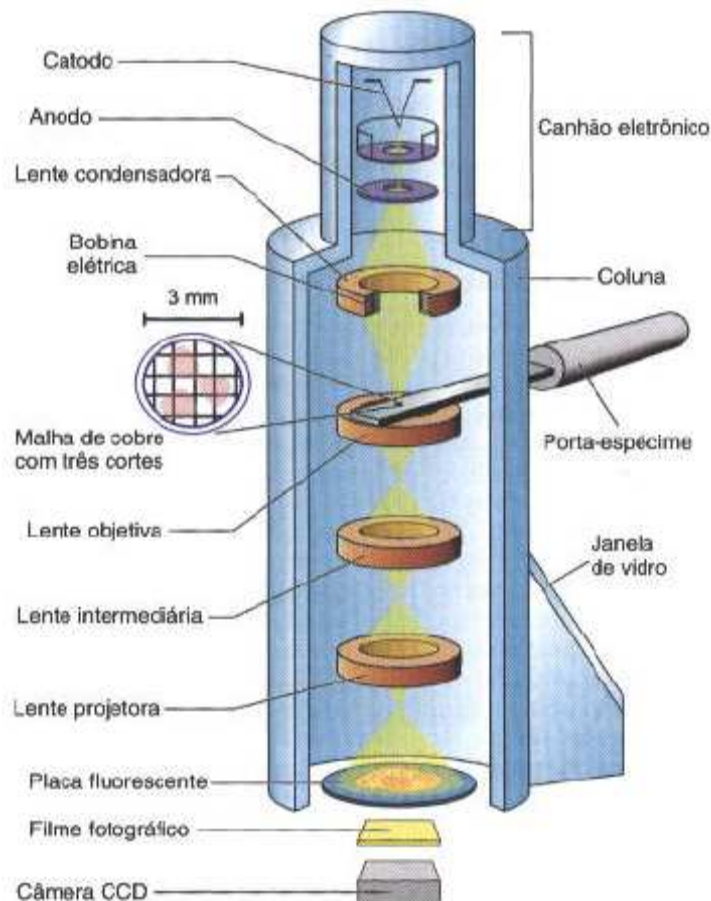
Artefactos (imágenes extrañas)

En los preparados y/o extendidos aparecen: pliegues, contracciones, cristales de fijador, cristales del colorante, burbujas de aire, fibras de algodón, talco, etc.; que pueden ocasionar defectos en la observación del preparado. Estos defectos se denominan artefactos. Identifique y grafique uno de ellos.

Microscopio electrónico

La microscopía electrónica se basa en la interacción de electrones con los componentes del tejido. El **microscopio electrónico de transición**, es un sistema de reproducción de imágenes que permite una altísima resolución (0,1 a 3 nm), resolución que permite que especímenes aumentados 400.000 veces puedan se

observados en detalle. Esto puede usarse para moléculas aisladas, ya que corte de tejidos o células sólo pueden ampliarse 120.000 veces.



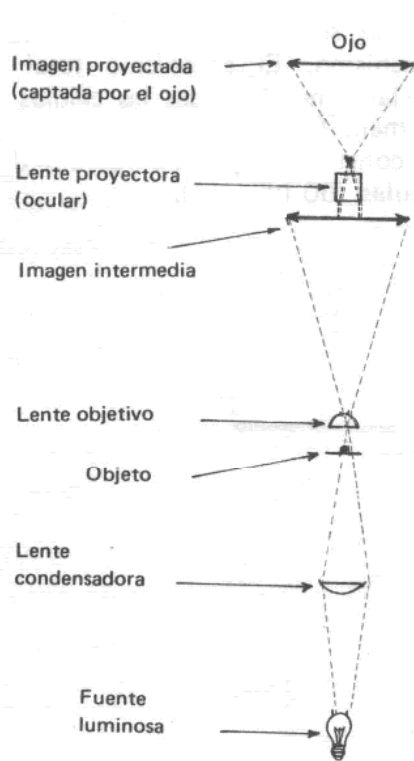
Diseño esquemático de un microscopio de transmisión y sus componentes

Comparación entre el microscopio óptico y el microscopio electrónico

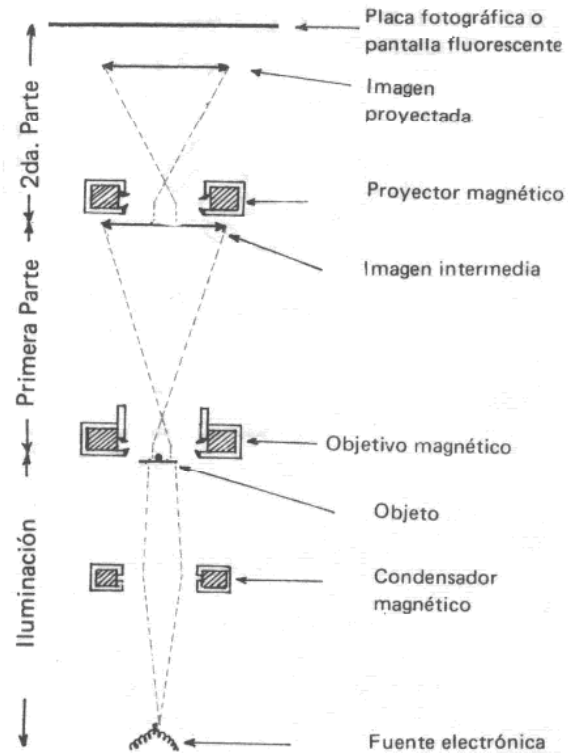
MICROSCOPIO OPTICO	MICROSCOPIO ELECTRONICO
Utiliza un haz de luz	Utiliza un haz de electrones de 60.000 voltios
El aumento del objeto lo realizan lentes de cristal	El aumento lo realizan bobinas magnéticas que atraen y separan los electrones
Poder de solución 0.1 μ	Poder de resolución 0,001 μ
Aumenta hasta 1.200 veces	Aumenta hasta 100.000 veces. Saca fotos y amplía hasta 500.000 veces
El objeto observado puede estar colocado en medio líquido	El objeto está deshidratado en un medio "vacío"
Se pueden hacer observaciones de organismos vivos	No se pueden observar organismos vivos porque se quemarían
La imagen puede ser observada directamente	La imagen tiene que ser captada por una placa fotográfica o vista en una pantalla fluorescente



MICROSCOPIO ÓPTICO



MICROSCOPIO ELECTRONICO
(en posición invertida)



El poder de resolución del ojo humano es de 0,1 mm. Si damos valor 1 al poder de resolución del ojo humano, el del microscopio óptico es de 500 y el del microscopio electrónico es de 10.000

Microscopio de contraste de fase

Posee diafragmas anulares en los sistemas ópticos del condensador y objetivo que modifican (aceleran o retardan) los rayos luminosos periféricos con respecto a los centrales que atraviesan el objeto.

Este microscopio combina las ondas desfasadas y convierte las diferencias de fase en diferencias de amplitud (intensidad luminosa) a fin de poder detectar detalles en materiales no coloreados. Se utiliza para observar materiales no coloreados, como células vivas mantenidas en cultivos celulares.