

## Microscopía

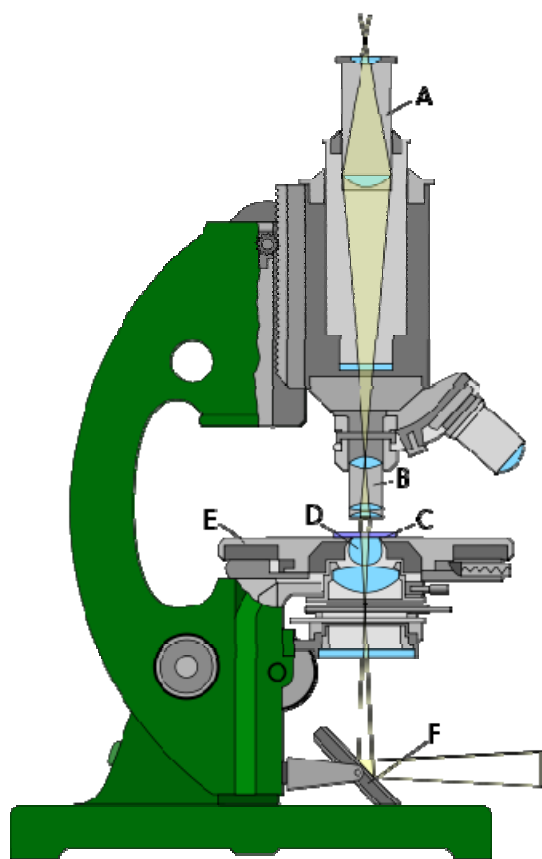
Uno de los instrumentos más revolucionarios en el campo de las ciencias biológicas fue sin duda el microscopio. Permite observar objetos que son demasiado pequeños para ser vistos a simple vista.

El primer microscopio que se inventó fue el microscopio óptico pero hoy en día hay una gran variedad (óptico, de fluorescencia, de contraste de fases, de luz polarizada, confocal, electrónico de barrido, electrónico de transmisión, de efecto túnel, de fuerza atómica y otros).

Vamos a describir comparativamente, sólo los principales tipos de microscopios.

Lo primero es diferenciar la partícula que interactúa con la muestra, fotones en el caso de la luz (microscopio óptico) y electrones (microscopio electrónico).

Si lo que se utiliza es la luz, lo primero es diferenciar un microscopio de una lupa. En el caso de la lupa, la luz no atraviesa la muestra (el objeto) y lo que se observa es su superficie. En el caso del microscopio la luz atraviesa la muestra y lo que se observa son detalles de su interior. Aclarado esto, analizaremos las partes de un microscopio óptico compuesto, el cual se diferencia de un microscopio simple porque está formado por un sistema de varias lentes.



Se puede observar un esquema en la figura 1 donde se ven las partes de un microscopio y la trayectoria de los rayos de luz, que permite la amplificación de la imagen. Lo principal a tener en cuenta es que la fuente es una lámpara (que emite luz) y que las lentes son de cristal o vidrio y al desviar la trayectoria de los rayos de luz (fotones) amplifican la imagen. La muestra que se quiere observar debe ser muy delgada y para facilitar la observación se la suele teñir. Por cuestiones físicas (y no por problemas tecnológicos) el límite de resolución de un microscopio óptico que utilice luz visible es de  $0,2 \mu\text{m}$ , es decir no se puede observar dos objetos que estén a una separación menor a  $0,2 \mu\text{m}$  porque se verán como uno sólo. Esto limita el aumento máximo al que se puede llegar que ronda los 1000 aumentos.

**Figura 1.** Microscopio óptico. Descripción: **A)** ocular, **B)** objetivo, **C)** portador del objeto o muestra, **D)** lentes de la iluminación, **E)** sujeción del objeto, **F)** espejo de la iluminación

Entre los microscopios que funcionan con un haz de electrones, vamos a mencionar dos: el microscopio electrónico de barrido (MEB o SEM por sus siglas en inglés) y el microscopio electrónico de transmisión (MET o TEM por sus siglas en inglés). Ambos utilizan una fuente que emite electrones, los cuales son atraídos hacia un ánodo (por una

diferencia de potencial), lentes electromagnéticas (bobinados por los que circula electricidad) que desvían el haz de electrones amplificando la imagen y una pantalla fluorescente o un sensor de electrones (para crear la imagen, ya que “no vemos” electrones). Los electrones impactan en una pantalla fluoroscópica, en la que se ve luz donde llegan los electrones y oscuridad donde no llegan, porque han sido desviados por su impacto en la muestra.

El MEB permite ver la superficie de los objetos ya que los electrones “rebotan” en ella. Su poder de resolución es de entre 5 y 20 Nm lo cual permite aumentos del orden de hasta los 100.000 aumentos El MET, en cambio, permite observar detalles del interior de la muestra, por lo que se pueden ver estructuras subcelulares como organelas o núcleo, La muestra debe ser extremadamente delgada (del orden de los 50 Nm). Su poder de resolución llega teóricamente hasta 1 Nm, lo que permite un aumento es de hasta 1.000.000 de veces y el tubo por el que circulan los electrones debe estar al vacío.



**Figura 2.** Microscopio electrónico de barrido.



**Figura 3.** Microscopio electrónico de transmisión.

**Tabla comparativa entre los microscopios descriptos**

Características	Microscopio óptico	MET	MEB
<b>Partícula</b>	Fotones (luz)	Electrones	Electrones
<b>Lentes</b>	Vidrio o cristal	Bobinas electromagnéticas	Bobinas electromagnéticas
<b>Interacción partícula muestra</b>	Atraviesa la muestra	Atraviesa la muestra	Rebota en la muestra
<b>Formación de la imagen</b>	Observación directa, PC, cámara de fotos.	Pantalla fluorescente, PC, cámara de fotos.	Pantalla fluorescente, PC, cámara de fotos.
<b>Resolución teórica</b>	0,2 μm	1 Nm	5 - 20 Nm
<b>Aumentos</b>	1000 X	1.000.000 X	100.000 X

**Unidades:**

$$1\text{m} = 1000 \text{ mm} = 1.000.000 \text{ }\mu\text{m} = 1.000.000.000 \text{ Nm} = 10.000.000.000 \text{ \AA}$$

$$1\text{mm} = 1000 \text{ }\mu\text{m} = 1.000.000 \text{ Nm}$$

$$1\text{Nm} = 10 \text{ \AA}$$