

El **microscopio óptico** es sumamente útil para observar objetos que se hallen fuera del límite de resolución del ojo humano (tamaño inferior a 100 nm) . Este microscopio (también llamado compuesto (en oposición al simple que consta de una sola lente biconvexa y se conoce como lupa) consta de **tres sistemas**:

- **Sistema mecánico:** está formado por aquellas piezas que no intervienen en la formación de la imagen ni en el camino de la luz (ej: tornillos micro y macrométrico, columna, pié, platina, etc.);
- **Sistema de iluminación:** lo integran aquellos componentes encargados de coleccionar la luz, dosificarla y dirigirla a través del preparado (ej: espejo, condensador, diafragma);
- **Sistema óptico:** incluye todos los elementos que colaboran en la ampliación de la imagen, es decir: **objetivos y oculares** que son las lentes del microscopio.

El **objetivo** recoge los rayos de luz que atraviesan la muestra, y producen una imagen aumentada de la misma. Los microscopios suelen tener varios objetivos, de distintos aumentos, fijados a una pieza giratoria o revólver.

El **ocular** amplifica la imagen producida por el objetivo, y la enfoca sobre el ojo humano.

El **condensador** concentra los rayos de luz sobre la muestra obteniéndose así una mayor iluminación; suele llevar un diafragma para regular la cantidad de luz.

Propiedades de las lentes:

Ya mencionamos que hay dos tipos de lentes: el **ocular**, en la parte superior del microscopio, más próximo al ojo del observador, y el **objetivo**, próximo al preparado.

El **ocular** normalmente tiene un aumento de 10x (la "x" indica "aumento") por lo que amplifica una imagen 10 veces su tamaño normal.

En cuanto a los **objetivos**, por lo común tienen un aumento que varía entre 4x a 45x. Lo normal es encontrar tres objetivos de distinto aumento (4x, 10x y 40x) montados sobre una base giratoria que permite intercambiarlos para aumentar, en forma creciente, el tamaño de la imagen.

La imagen resultante estará ampliada tantas veces como el producto de las lentes con las que estoy observando, es decir que si utilizo un ocular de 10x y un objetivo de 4x, veré la imagen cuarenta veces más grande que su tamaño original.

Ej.: Si dispusieras de un microscopio óptico con objetivos de 4X, 10X, 40X y 100X ¿Cuáles de las siguientes estructuras u organismos podrías visualizar y con que objetivos?

- Virus de la gripe: **no se podría visualizar con el MO**
- Linfocito: con todos los objetivos
- Mitocondria: con objetivos 100X
- La grana de un cloroplasto: **no se podría ver con el MO**
- Cromosoma: con objetivos a partir de 40X
- Bacteria intestinal: con objetivos a partir de 40X
- Ribosoma: **no se podría ver con el MO**
- Grano de polen: a partir de 10X
- Moho del pan: a partir de 4X
- Núcleo: a partir de 10X

Conviene destacar que existen **dos tipos de objetivos**: los de observación en seco y los de inmersión. En el primer caso, el aumento varía de 4x a 45x. en el segundo caso, las lentes de inmersión tienen aumentos de 90x o 100x y la lente para lograr la imagen, se utilizan aceites de cedro o sintético y la lente se "sumerge" en ellos (de ahí el nombre "de inmersión").

Poder de resolución:

El **poder resolutivo** es la capacidad que tiene un microscopio (o el ojo humano, etc.) de percibir por separado dos puntos pequeños, adyacentes y cercanos. Vale decir, es la capacidad para percibir detalles. **En el MO es de 0,2 micras o 200 nm.**

El poder resolutivo del microscopio **no guarda relación alguna** con el aumento del mismo. Depende principalmente de la apertura numérica de la lente y de la longitud de onda de la luz utilizada. Podemos decir que es un valor determinado, entre otras cosas, por el diámetro de la lente.

Técnicas usadas para su uso:

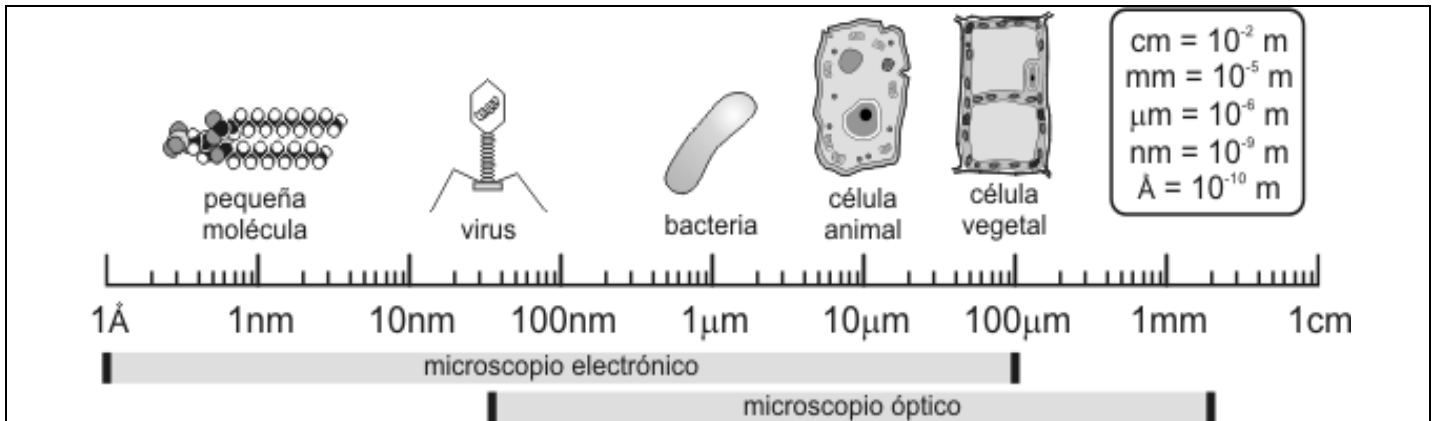
- Las muestras deben ser muy finas (pocas micras de grosor) para que los rayos luminosos puedan atravesarlas (corte fino)
- **Fijación:** Se trata a la muestra con fijadores como el alcohol etílico.
- **Tinción:** Se coloca la muestra sobre el portaobjetos (porta) y se utiliza un colorante específico según lo que se quiera observar.
- **Montaje:** La muestra teñida colocada sobre el portaobjetos se le cubre con el cubreobjetos (cubre) para protegerla.
- Se coloca sobre la platina del microscopio, se enfoca y se procede a la observación.

Comparación entre el microscopio óptico y el electrónico:

| Microscopio óptico | Microscopio electrónico |
|--|--|
| <p>Características:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Permite aumentos desde 25 a 1500 veces • El poder de resolución es de 0,2 μm • La muestra es atravesada por la luz • Las lentes son de vidrio • Los cortes son muy finos y se obtienen con un microtomo | <p>Características:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Permite aumentos superiores a 10.000, 200.000 y excepcionalmente 500.000 • El poder de resolución es de unos 3 a 10 \AA • La muestra es atravesada por un haz de electrones emitidos por un filamento de tungsteno • Las "lentes" son campos magnéticos • Los cortes son ultra finos y se obtienen con un ultramicrotomo • La imagen se genera sobre una pantalla fluorescente |
| <p>Ventajas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se pueden observar células vivas • Se pueden ver células enteras | <p>Ventajas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se puede ver la ultraestructura de la célula en los cortes de los orgánulos |
| <p>Inconvenientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Los análisis no pueden ser muy detallados y profundos | <p>Inconvenientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • No permite observar células vivas • No se pueden realizar visiones de conjunto |
| <p>Unidades de medida:</p> <ul style="list-style-type: none"> • El micrómetro o micrón (μm) | <p>Unidades de medida:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La unidad oficial es el nanómetro (nm) per es más empleada el angstrom (\AA) |

$$\begin{aligned}
 1 \text{ \AA} &= 1 \text{ m} \times 10^{-10} = 0.1 \text{ nm} \\
 1 \text{ nm} &= 10 \text{ \AA} \\
 1 \text{ nm} &= 10^{-3} \mu\text{m} \\
 1 \mu\text{m} &= 10^{-6} \text{ m} = 10^{-3} \text{ mm}
 \end{aligned}$$

Los microorganismos son seres microscópicos. Su tamaño se mide en micras (micrómetro: μm), nanómetro (nm) y el angstrom (\AA)



Cuadro comparativo de distintos ejemplos de niveles de organización a nivel microscópico.

El microscopio óptico nunca puede resolver detalles **menores a 0,2 μm (200 nm)**, la medida de una pequeña bacteria. Esta resolución es limitada por la longitud de onda de la luz visible usada para iluminar la muestra. Los microscopios ópticos o de luz pueden aumentar efectivamente alrededor de 1000 a 1500 veces el tamaño de la muestra real; si se incrementase el aumento, la imagen proyectada sería borrosa

El desarrollo de la biología celular y molecular se produce en forma paralela a la invención de instrumentos y técnicas biofísicas y bioquímicas. El acceso a este tipo de conocimiento resulta dificultoso pues las células son pequeñas y transparentes.

- **El ojo humano sólo puede discriminar dos puntos separados por más de 0,1 mm ó 100 micrómetros (μm o mm).**
- **La mayoría de las células son mucho más pequeñas y se necesita del microscopio óptico cuyo límite de resolución es de 0,2 μm o mm (200 nm).**
- **Para estructuras más pequeñas, que midan entre 0,4 y 200 nanómetros (nm), se requiere del microscopio electrónico.**

Ej.:

Célula vegetal: microscopio óptico
 Célula animal: microscopio óptico
 Bacteria: microscopio óptico
 La grana de un cloroplasto: microscopio electrónico
 Mitocondria: microscopio óptico
 Virus: microscopio electrónico
 Ribosomas: microscopio electrónico