

# **PRÁCTICA 1**

## **MANEJO Y USO DEL MICROSCOPIO**

### **OBJETIVOS EPECIFICOS DEL LABORATORIO**

1. Conocer el origen del microscopio
2. Distinguir las características que diferencian el microscopio simple del compuesto y las imágenes que forman cada uno de ellos
3. Identificar por su nombre y su función las diferentes partes del microscopio compuesto
4. Conocer las diferencias entre una preparación al fresco y una permanente
5. Conocer la manipulación correcta y la técnica de enfoque del microscopio compuesto
6. Determinar la magnificación de las imágenes observadas con los diferentes objetivos del microscopio compuesto

### **MARCO TEORICO**

#### **HISTORIA DE MICROSCOPIOS SIMPLES Y COMPUESTOS**

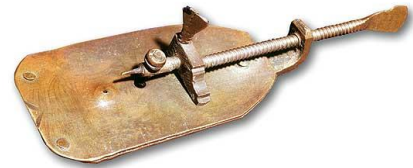


El primer lente en la historia de la humanidad se trata de un lente plano convexo de cristal de roca tallada toscamente, encontrada en las excavaciones de Nínive por el abogado y arqueólogo británico Sir Austin Henry Layard en 1847.

Si bien las lentes existían ya hace 5000 años, el vidrio y el cristal (materiales con los que se construyen) eran un producto lujoso que se utilizaba principalmente para la creación de ánforas. El hallazgo de las propiedades de aumento de las imágenes fue descubierto por Séneca en el siglo I d.C. al observar un objeto a través de una bola de cristal llena de agua, que conformaba una lente convexa que hacía converger los rayos de luz hacia un punto central. En el siglo XI, en China se utilizaban lentes convexas para corregir defectos visuales como la presbicia. Posteriormente, durante el siglo XIII (1280) en Italia también se empezaron a utilizar lentes como gafas, probablemente como consecuencia del contacto que existía con la China (Catay) a través de la Ruta de la Seda, importante vía comercial de intercambio de especias, telas y metales preciosos. Ya en el siglo XV se observan los primeros intentos por aplicar estas lentes al telescopio y al microscopio. Al comienzo los microscopios fueron desarrollados y aplicados en relación al comercio textil, para verificar la calidad y trama de las telas. Uno de los primeros microscopios se atribuye a Leonardo da

Vinci, quien habría hecho observaciones a través de una gota de agua, la que se comporta como una lente convergente. Sin embargo, el primer microscopio fue creado por los hermanos Hans y Zacarías Jensen en los Países Bajos en 1590 y consistía de 2 tubos de latón deslizables que sostenían un lente cada uno.

El microscopio simple realizado por Antoni Van Leeuwenhoek es un microscopio simple alrededor del año 1632, en Leyden, Holanda. (10 cm). Con este microscopio simple se consiguen imágenes de mayor calidad que con el microscopio compuesto de los hermanos Jensen, lo que permitió a Leeuwenhoek hacer los descubrimientos de infusorios y eritrocitos, entre otros pioneros en los hallazgos microscópicos.



Con el microscopio compuesto de Giuseppe Campana en el año 1665 Italia. (9 cm) construido en madera y soportado por un anillo de metal, permite el enfoque mediante el desplazamiento de la porción interior por un mecanismo de tornillo. En la base presenta un disco de madera con un agujero central lo que le hace apto para observar especímenes por transparencia. Por sus reducidas dimensiones se le considera el primer microscopio de bolsillo.

El microscopio compuesto realizado por los hermanos Hans y Zacharias Jensen en 1590, en Midelburg, (25 cm). Está formado por dos tubos de latón, soportando una lente cada uno, que se deslizan dentro de otro tubo de latón lo que permite el enfoque. Se considera el primer microscopio compuesto de la historia. Este microscopio se hace según una copia del original de los hermanos Jensen, aparecida en un anticuario de Paris en 1891, hoy día se cuestiona su autenticidad.

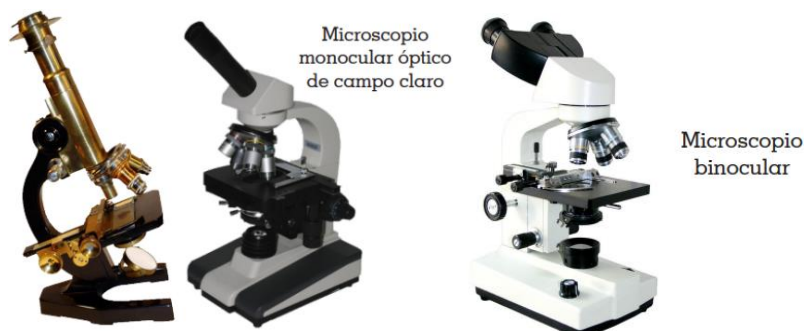


Microscopio compuesto de Galileo Galilei 1612 ITALIA. (12 cm). Aunque Galileo Galilei no destacó por sus estudios microscópicos, si lo hizo por la aplicación de las lentes en diversos aparatos como el telescopio. Este microscopio posee dos lentes instaladas en dos cilindros de madera que se deslizan sobre uno exterior de cartón, forrado de cuero verde, permitiendo el enfoque. El acabado, con tapadera incluida, es de un marcado carácter renacentista italiano.



Microscopio compuesto John Marshall, 1700, INGLATERRA. (50 cm). Este microscopio de gran tamaño, añade al de Robert Hooke, la platina que al elevar la muestra de la base permite la observación por transparencia, y un tornillo, paralelo a la barra de soporte, que actúa de micrométrico, para el enfoque fino. John Marshall, fue uno de los primeros en comercializar el microscopio.

Microscopio moderno, posterior a 1900. (35 cm). Este microscopio ya posee las características de los microscopios actuales y que, con algunas variantes, van a marcar el prototipo del siglo XX. La incorporación del sistema revolver para cambiar los objetivos se realiza a partir de 1880. El carro para desplazar la preparación sobre la platina y la óptica son Leitz. Posee un ocular con indicador.



## TIPOS DE MICROSCOPIO SEGÚN SU NÚMERO DE LENTES:

### A) MICROSCOPIO SIMPLE.

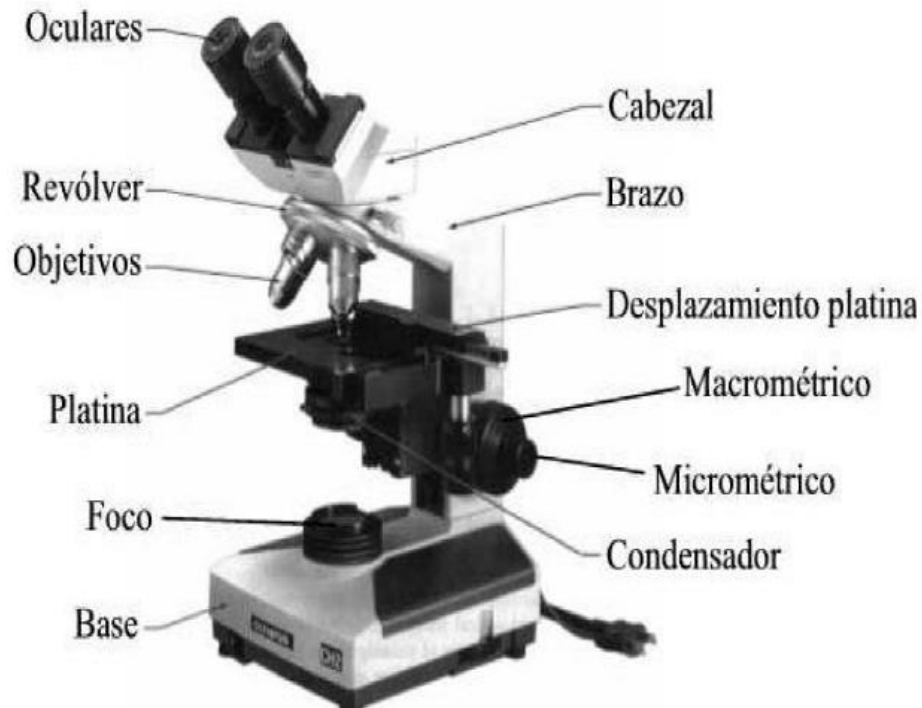
Está provisto de una lente o sistema de lentes convergentes dispuestas de manera que proporcionan una imagen virtual, derecha y mayor que el objeto, que a su vez está situado entre la lente y el foco. La ampliación del microscopio simple es bastante limitada y suele utilizarse para la disección de pequeños animales o para la disociación de piezas histológicas. Este tipo de microscopio se denomina también lupa. Las lupas pueden ser monoculares o binoculares.



## B) MICROSCOPIO COMPUESTO.

A diferencia del simple, en este tipo de microscopios se combinan dos lentes o sistemas de lentes convergentes de amplificación de imagen, colocados en los extremos del tubo: el denominado objetivo, situado más cerca del objeto a observar; y el ocular, más cercano al ojo del observador. Es importante hacer referencia a los cabezales monoculares, binoculares y tri oculares, en orden de menor a mayor especialización en este tipo de técnica. El cabezal MONOCULAR consta de un solo ocular, llevando consigo el inconveniente de producir la fatiga visual en observaciones prolongadas. Este problema se solventó con la aparición del cabezal BINOCULAR, el cual permite la visión con los dos ojos, siendo importante alcanzar una adecuada fusión de la imagen. El cabezal TRIOCULAR además de poseer las ventajas del anterior, posibilita el fotografiar el objeto de estudio.

## Partes del Microscopio de luz compuesto



### SISTEMAS DEL MICROSCOPIO:

#### A. Sistema Mecánico

- SOPORTE: Mantiene la parte óptica. Tiene dos partes: la base y el brazo.
- PLATINA: Lugar donde se coloca la preparación.
- CABEZAL: Contiene los lentes oculares. Puede ser monocular o binocular.
- REVÓLVER: Contiene los lentes objetivos y permite intercambiar los objetivos.
- TORNILLOS DE ENFOQUE: Hay dos tornillos de enfoque, el *macrométrico* que nos permite obtener un enfoque aproximado y el *micrométrico* el enfoque correcto.

#### B. Sistema Óptico

- OCULAR: Lente situada cerca del ojo del observador. Su magnificación es generalmente 10X.
- OBJETIVO: Lentes situadas cerca de la preparación. Generalmente las magnificaciones de los objetivos secos son de 4X (objetivo de rastreo), 10X

(objetivo de baja potencia) y 40 ó 45X (objetivo de alta potencia). El objetivo de inmersión en aceite es de 100X.

- DIAFRAGMA: Utilizado para regular la cantidad de luz que entra en el condensador.
- CONDENSADOR: Lente que concentra la fuente de luz sobre la preparación.

**C. Sistema Lumínico:**

- FOCO: Dirige los rayos luminosos hacia el condensador.
- 

**PODER TOTAL DE AUMENTO**

Casi todos los microscopios compuestos poseen varios lentes objetivos, cada una con un poder de aumento diferente. Normalmente, existe un lente de rastreo (4x) que aumenta un objeto 4 veces, el que le sigue es el de bajo poder (objetivo débil seco) que aumenta un objeto 10 veces (10x), una de alto poder (objetivo fuerte seco), que aumenta 40 veces (40x) y el objetivo de inmersión, 100 veces (100x). Casi todas las lentes del ocular proporcionan un aumento adicional de 10 veces (10x). Se puede calcular el poder total de aumento de un microscopio multiplicando el aumento que proporcionan las dos lentes, objetivo y ocular, en uso. (Véase la Tabla 1.1) Si se desea observar la apariencia general de un espécimen es recomendable usar un objetivo de bajo poder, porque su campo de visión es grande. El objetivo de inmersión tiene un campo de visión pequeño, pero proporciona más detalles de la imagen.

Casi todos los microorganismos requieren, antes de ser examinados en un microscopio óptico, una preparación especial; esto es debido a que poseen poco contraste natural. La preparación y la tinción (tratamiento con colorantes) de un espécimen son fundamentales si se desea obtener buenas imágenes.

**Tabla 1.1. Aumento Total**

Microscopio	Lente objetivo		Lente ocular		Ampliación total
Microscopios ópticos					
Objetivo de rastreo	4x	x	10x	=	40x
Débil seco	10x	x	10x	=	100x
Fuerte seco	40x	x	10x	=	400x
Aceite de inmersión	100x	x	10x	=	1000x

## **NORMAS PARA EL USO CORRECTO DEL MICROSCOPIO**

Es importante mantener los microscopios que tenemos en la mejor condición posible. Por lo que debemos seguir las normas establecidas para su cuidado:

1. Al sacar el microscopio del compartimiento y trasladarlo al lugar de trabajo, tómelo siempre por el brazo con una mano y por el pie o base con la otra mano.
2. Coloque el microscopio suavemente sobre la mesa de trabajo. Esto evitará posibles desajustes en el sistema óptico.
3. Antes de conectar el microscopio a la fuente de energía asegúrese de que la intensidad de la luz sea la mínima. Una vez verificado puede encenderlo.

## **PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIO ÓPTICO**

La preparación de la muestra para el microscopio es un paso esencial para llevar a cabo una observación exitosa. El proceso adecuado de preparación depende siempre de la muestra y debe tener en cuenta el tipo de detalles que se quieren observar.

El **primer paso** antes de empezar a preparar una muestra es asegurarnos de que disponemos de todo el material que necesitaremos. Esto incluye siempre un *portaobjetos* y un *cubreobjetos*. Dependiendo del tipo de muestra, también necesitaremos unas pinzas para su manipulación.

En la mayoría de los casos necesitaremos también una pipeta para hidratar la muestra y probablemente un tinte y papel absorbente en caso de una preparación permanente.

### **Preparación en fresco**

La preparación en fresco es ideal para la observación de microorganismos o de tejidos biológicos que requieren ser hidratados.

- Si la muestra es líquida colocamos unas gotas de la muestra en el centro del portaobjetos con la ayuda de una pipeta.
- Si la muestra es sólida colocamos primero unas gotas de agua destilada o de solución salina sobre el portaobjetos y a continuación un fragmento de la muestra con la ayuda de unas pinzas.
- Sujetando el cubreobjetos por dos de sus lados, apoyamos otro de sus lados sobre el portaobjetos de modo que forme un ángulo de aproximadamente 45 grados.

A continuación, podemos soltar con cuidado el cubreobjetos de modo que quede colocado sobre el líquido que hemos depositado anteriormente. *(Mediante este procedimiento se evita la formación de burbujas dentro de la muestra. En caso de que hayan aparecido burbujas entre el portaobjetos y el cubreobjetos será necesario repetir el procedimiento anterior.)*

En caso de que haya un exceso de líquido alrededor del cubreobjetos podemos eliminarlo mediante papel absorbente.

Las preparaciones en fresco mantienen la hidratación durante un periodo de aproximadamente 30 minutos.

Si se requiere mantener la muestra hidratada durante un espacio de tiempo más largo pueden sellarse los bordes del cubreobjetos con vaselina. En este caso se evita la evaporación del líquido durante unas horas o incluso unos días.

#### **Previo a la realización del enfoque:**

1. Para enfocar una preparación microscópica se debe bajar la platina completamente y colocar el objetivo de menor aumento en posición de empleo. (Es importante comenzar siempre la observación con el objetivo de 4X. Esto permite seleccionar el área más adecuada de la laminilla para su posterior observación.)
2. Colocar la preparación sobre la platina sujetándola con las pinzas metálicas.

#### **Para realizar el enfoque:**

1. Acercar al máximo la lente del objetivo a la preparación, empleando el tornillo **macrométrico**. Esto debe hacerse mirando directamente y no a través del ocular, ya que se corre el riesgo de incrustar el objetivo en la laminilla y romper esta o causar daño al microscopio.
2. Mientras mira a través de los oculares, lentamente vaya separando el objetivo de la preparación usando el botón **macrométrico** (En la mayoría de los casos la platina se mueve hacia abajo, alejando la laminilla o preparación del lente objetivo). Cuando observe una imagen casi en foco, entonces gire el botón **micrométrico** hasta obtener un enfoque nítido.

Al pasar al siguiente objetivo la imagen debería estar ya con un enfoque aproximado. Pues la mayoría de los microscopios poseen objetivos **parafocales**, esto significa que una vez se enfoca usando un objetivo, los demás quedan en una distancia que permite un enfoque aproximado. **Nunca use el botón de ajuste macrométrico con los objetivos de mayor aumento.** Es suficiente con mover un poco el micrométrico para lograr el enfoque fino. Si al



cambiar de objetivo se perdió por completo la imagen, es preferible volver a enfocar con el objetivo anterior y repetir la operación desde el principio. El objetivo de 40X enfoca a muy poca distancia de la preparación y por ello es fácil que ocurran dos tipos de percances: incrustarlo en la preparación si se descuidan las precauciones anteriores y mancharlo con aceite de inmersión, si se observa una preparación que ya se enfocó con el objetivo de inmersión.

### **Empleo del objetivo de inmersión:**

1. Realizar el enfoque en todos los objetivo hasta llegar al de alta potencia.
2. Subir totalmente el **condensador** para ver claramente el círculo de luz que nos indica la zona que se va a visualizar y donde habrá que echar el aceite.
3. Girar el **revólver** hacia el **objetivo de inmersión** dejándolo a medio camino entre éste y el de alta potencia.
4. Colocar una gota **mínima** de aceite de inmersión sobre el círculo de luz.
5. Terminar de girar suavemente el **revólver** hasta la posición del objetivo de inmersión.
6. Enfocar cuidadosamente con el **micrométrico**. La distancia de trabajo entre el objetivo de inmersión y la preparación es mínima, aun menor que con el de 40X por lo que el riesgo de accidente es muy grande. Debe ser muy cuidadoso para usar este objetivo. Pida ayuda a su instructor de laboratorio.
7. Una vez se haya puesto aceite de inmersión sobre la preparación, ya no se puede volver a usar el objetivo 40X sobre esa zona, pues se mancharía de aceite. Por lo tanto, si desea enfocar otro campo, hay que bajar la platina y repetir la operación desde el principio.
8. Una vez finalizada la observación de la preparación, se baja la **platina** y se coloca el **objetivo de menor aumento** girando el **revólver**. En este momento ya se puede retirar la preparación de la platina. Nunca se debe retirar con el objetivo de inmersión en posición de observación.

**Es sumamente importante que limpie el objetivo de inmersión antes de guardar el microscopio.** Para limpiar el objetivo de inmersión: con mucho cuidado utilice Xilol y un papel especial para óptica. Compruebe que el objetivo 40X esté perfectamente limpio.

### **NORMAS PARA EL CUIDADO DEL MICROSCOPIO.**

- Al finalizar el trabajo, hay que dejar puesto el objetivo de menor aumento en posición de observación, asegurarse de que la parte mecánica de la platina no sobresale del borde de la misma.
- Cuando no se está utilizando el microscopio, hay que mantenerlo cubierto con su funda para evitar que se ensucien y dañen las lentes. Si no se va a

usar de forma prolongada, se debe guardar en lugar dentro de un armario para protegerlo del polvo.

- Nunca hay que tocar las lentes con las manos. Si se ensucian, limpiarlas muy suavemente con un papel de óptica.
- No dejar el portaobjetos puesto sobre la platina si no se está utilizando el microscopio.
- Después de utilizar el objetivo de inmersión, hay que limpiar el aceite que queda en el objetivo con pañuelos especiales para óptica o con papel de óptica. En cualquier caso se pasará el papel por la lente en un solo sentido y con suavidad. Si el aceite ha llegado a secarse y pegarse en el objetivo, hay que limpiarlo con xilol. No hay que abusar de este tipo de limpieza, porque si se aplican estos disolventes en exceso se pueden dañar las lentes y su sujeción.
- No forzar nunca los tornillos giratorios del microscopio (macrométrico, micrométrico, platina, revólver y condensador).
- El cambio de objetivo se hace girando el revólver y dirigiendo siempre la mirada a la preparación para prevenir el roce de la lente con la muestra. No cambiar nunca de objetivo agarrándolo por el tubo del mismo ni hacerlo mientras se está observando a través del ocular.
- Mantener seca y limpia la platina del microscopio. Si se derrama sobre ella algún líquido, secarlo con un paño.
- **Guarde el microscopio en el objetivo de baja potencia en el punto más alejado de la platina y sin que los bordes de esta sobresalgan.**

## DESARROLLO PRÁCTICA

### MATERIALES

- ✓ Microscopio
- ✓ Porta y cubre objetos
- ✓ Agua destilada
- ✓ Pinzas
- ✓ Papel limpia lentes
- ✓ Gotero Pasteur
- ✓ Aceite de inmersión
- ✓ Preparación permanente
- ✓ Lupa
- ✓ Flor de clavelón
- ✓ Insectos pequeños

### Actividad No 1: Reconocimiento y uso del microscopio simple.

A. Coloque sobre una hoja de papel en blanco un insecto y proceda a observarlo con la lupa. En seguida responda a las siguientes preguntas:

1. Explique ¿cuál es la diferencia de la imagen observada con y sin la lupa?:
2. Esquematice las diferencias:

Sin Lupa	Con Lupa

3. Investigue ¿Cuál es el uso de este instrumento en las áreas de la salud?

### Actividad No 2: Reconocimiento y funcionamiento del microscopio compuesto.

1. ¿Al manipular el tornillo macrométrico, como es el movimiento que realiza la platina?
2. Manipule los tornillos del carro desplazándolo de izquierda a derecha y viceversa, atrás hacia adelante, luego conteste ¿Cuál es la función del carro?
3. Gire el revólver y coloque (alineee) el objetivo 4X en dirección al agujero de la platina. Haga lo mismo con los objetivos 10X, 40X y 100X de modo que giren de derecha a izquierda. Nota: Nunca mueva los objetivos tomándolos del tubo.
4. ¿Cómo se puede determinar cuando un objetivo esta alineado?
5. Identifique el condensador y el diafragma, muévalos y constate el cambio en la cantidad de luz que deja pasar. Conteste ¿cuál es el uso de estas partes del microscopio?

### Actividad No 3: Elaboración y observación de una preparación al fresco.

6. Haga un dibujo de acuerdo a lo observado con cada uno de los objetivos:

Objetivo 4X	Objetivo 10X	Objetivo 40X

### Actividad No 4: Uso de Objetivo de Inmersión.

7. Realice un dibujo con lo observado en cada uno de los objetivos

Objetivo 4X	10X	40X	100X

Haga un análisis de las imágenes observadas y del marco teórico en relación al poder total de aumento para luego responder lo siguiente:

8. ¿Cuál es el aumento total que se alcanza en cada uno de los objetivos del microscopio compuesto en relación a la imagen?

4X \_\_\_\_\_

10X \_\_\_\_\_

40X \_\_\_\_\_

100X \_\_\_\_\_

### PARA INVESTIGAR PREVIO AL LABORATORIO:

Utilizando bibliografía sugerida para las Sub-problemáticas 3 y 4 y la información que está en este material, investigue las siguientes preguntas y discuta con su docente las respuestas:

1. ¿Cuáles son las dimensiones que percibe el ser humano?
2. Enumere los componentes del microscopio simple
3. ¿Cuáles son los dos sistemas de lentes del microscopio compuesto?
4. ¿Cuál es la importancia de las preparaciones al fresco?