

POLITÉCNICO COLOMBIANO JAIME ISAZA CADAVID

Libardo Ariel Blandón L (Biólogo UdeA, Lic Ed. Agroambiental Poli JIC y Esp. Ciencias Experimentales UdeA)

MICROSCOPIA

Elabore portada, introducción y descripción de la actividad.

OBJETIVOS

Interpretar algunos conceptos básicos de microscopia, tales como: poder de resolución, poder de aumento y campo visual en relación a las lentes utilizadas.

Adquirir destreza para calcular mediciones aproximadas de células y otras estructuras

Identificar las unidades de medida de mayor uso en micrometría y las utilizarlas resolviendo algunos problemas comunes en este campo.

Desarrollar la capacidad investigativa mediante la utilización de instrumentos como el microscopio.

MATERIALES

Microscopios compuestos

Lámparas de bombilla u otras fuentes de luz

Portaobjetos y cubreobjetos

Papel limpia lentes

Papel delgado con letras impresas

Papel milimetrado

1. ANALISIS DE ALGUNOS CONCEPTOS BASICOS DE MICROSCOPIA

1.1 PODER DE RESOLUCIÓN

Es la capacidad que posee un instrumento óptico para diferenciar dos puntos que a simple vista parecen uno solo, debido a la pequeña distancia que hay entre ellos. Es característico de cada instrumento óptico y depende en gran parte de la calidad de las lentes utilizadas.

Es así, como el poder de resolución máximo aproximado del ojo humano, es de 100 micras (100μ), el del microscopio compuesto es de dos décimas de micra ($0.2\ \mu$) y el del microscopio electrónico es de una milésima de micra ($0.001\ \mu$). Lo anterior significa que para el ojo humano puede diferenciar claramente dos puntos, estos deben estar separados entre sí por una distancia igual o mayor a 100 micras.

Podría usted por lo tanto, observar separadamente con el microscopio compuesto, dos puntos que están a 10 micras entre sí? Y dos puntos que están a 0.1 micras?

Para entender en la práctica lo que es el poder de resolución, tome un papel delgado impreso con letras, observe una de ellas y esquematícela. Luego, usando dicho papel, prepare un montaje en fresco y enfoque la misma letra de en 10x y en 40x. Haga los esquemas correspondientes y compare los resultados. A qué se deben las diferencias observadas en los tres casos?

Conserve esta preparación para un análisis posterior

1.2 PODER DE AUMENTO

Es la capacidad que posee un instrumento óptico, para dar una imagen aumentada de un objeto y depende, entre otros factores, del tipo y calidad de las lentes utilizadas en tal instrumento.

Lógicamente que una lente dada, puede dar una imagen mayor o menor, dependiendo de la distancia a la cual se encuentre del objeto. No obstante, hay una diferencia óptima entre objeto y lente, que proporciona una imagen lo más nítida posible. Para nuestros propósitos, consideraremos siempre el aumento obtenido cuando se cumple la condición anterior.

Así por ejemplo, si un objeto tiene un tamaño de 1mm y una lente dada origina una imagen de 10mm, se dice que el aumento es 10 veces, es decir, el poder de aumento de esa lente es de 10. Nótese que el poder de aumento es en este caso la relación entre el tamaño de la imagen y el tamaño del objeto.

3

Por otra parte, una imagen a su vez, también puede ser aumentada por una lente. si en el caso anterior se toma la imagen obtenida de 10mm, y por medio de otra lente, obtenemos una nueva imagen de 50 mm, tenemos que el aumento total es de 5 veces en relación con el tamaño de la primera imagen o de 50 veces en relación con el tamaño del objeto. se puede deducir por tanto, que el aumento producido por la primera lente, multiplicado por el aumento producido por la segunda lente, en este caso, el aumento total (A_t), equivale a $10 \times 5 = 50$ veces

El microscopio que usted utiliza, consta, como se dijo en la práctica anterior, de dos lentes: ocular y objetivo. Cada una de ellas con el respectivo poder de aumento. Es decir, cuando se observa un objeto a través de él, su aumento total está dado por el producto del poder de aumento de cada una de las lentes, o sea, aumento del objetivo (A_{ob}), multiplicado por el aumento del ocular (A_{oc}).

$$A_t = A_{ob} \times A_{oc}$$

PODER DE AUMENTO DEL OBJETIVO	PODER DE AUMENTO AUMENTO DEL OCULAR	TOTAL
10X	6X	60X
97X	10X	970X

Según lo anterior, Cuántas veces se aumentó el tamaño de la imagen de la letra cuando usted utilizó el objetivo de 10x y el de 43X, si el ocular de su microscopio era de 10X?

Proceda ahora con su microscopio a llenar la siguiente tabla, de acuerdo con los lentes disponibles en dicho instrumento:

TABLA 1:

AUMENTO OCULAR	AUMENTO OBJETIVO	AUMENTO TOTAL

4

1.3 CAMPO VISUAL DEL MICROSCOPIO

Es el área circular que se observa al mirar a través del microscopio y varía según las lentes utilizadas.

Observe nuevamente la placa que contiene las letras impresas. Con cuál de los dos objetivos 10X ó 40X, observa mayor área de una de las letras? El campo visual de un microscopio es entonces mayor o menor según se observe con mayor o menor aumento?

2. UNIDADES UTILIZADAS EN MEDICIONES MICROSCOPICAS

La mayoría de organismos o estructuras que se estudian el microscopio, son de tamaños muy pequeños. Por lo tanto, para medirlos es necesario utilizar unidades reducidas tales como el Ángstrom (A°), la milimicra ($m\mu$), la micra, y en algunos casos, el milímetro (mm).
OJO COLOCARLE LOS SIMBOLOS

Las relaciones que existen entre ellas, son:

$$\begin{aligned}
 1 \text{ mm} &= 1.000 \mu \\
 1 \mu &= 1.000 m\mu \\
 1 m\mu &= 10A^{\circ}
 \end{aligned}$$

Teniendo en cuenta los datos anteriores, resuelva los ejercicios siguientes:

- A cuántas $m\mu$ equivale 1 mm? Y a cuántas $m\mu$ equivale 1 A° ?
- Si una célula tiene un diámetro de 1.2 μ , cuál será su diámetro en A° ? Y cuál será en mm?

- Si el microorganismo. A mide $120\ \mu$ y el microorganismo B mide $1.200\ A^\circ$, cuál de los dos tiene mayor tamaño?

3. MEDICION DEL DIAMETRO (D) Y DEL AREA (A) DEL CAMPO VISUAL DE UN MICROSCOPIO

Para hacer mediciones al microorganismo se utiliza normalmente un aparato llamado micrómetro. Sin embargo, cuando se carece de él se puede medir en forma aproximada el diámetro del campo visual y utilizar dicho diámetro para calcular posteriormente el tamaño de cualquier organismo o estructura que se observa. Tal medición puede efectuarse con el empleo de papel milimetrado, en la siguiente forma:

Haga un montaje en fresco de un pedacito de papel milimetrado. Enfoque con el objetivo de $10\times$ y, empleando el carro, trate de que una línea de papel quede como diámetro del campo visual tal como se muestra en la siguiente figura:

Esquematice lo observado y proceda luego a determinar dicho diámetro, asignando un valor aproximado al segmento x. El valor del diámetro estará dado por la suma de $X + Y$. Anote el valor encontrado (en mm y en μ). Ya que es un dato que usted utilizará posteriormente en algunas mediciones. Tenga en cuenta que este valor puede variar de microscopio a microscopio. por lo cual los resultados de sus compañeros pueden ser diferentes al suyo. si desea cerciorarse por sí mismo de lo anterior, observe las preparaciones enfocadas o los esquemas de algunos de sus compañeros (fig. 1)

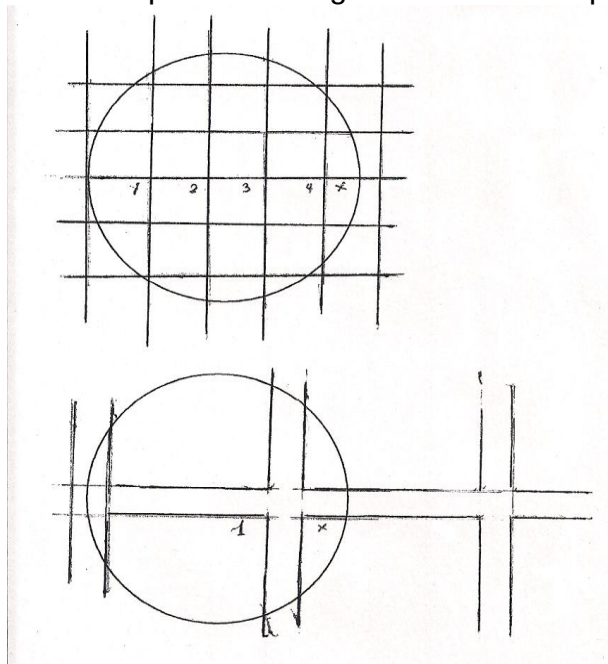


Figura 1: Medición del diámetro del campo visual utilizando papel milimetrado A, $4\times$ B: $10\times$

El área del campo visual (A), se calcula con base en el área del círculo, en donde $A = \pi r^2$, siendo r el radio, que es la mitad del diámetro del campo visual.

Proceda a llenar la siguiente tabla de resultados, en la cual se calcula el diámetro y el área del campo visual de su microscopio. Para cada tipo de lente u objetivo.

(TABLA 2)

TABLA 2: DIAMETROS Y AREAS DEL CAMPO

OBJETIVO	DIAMETRO (mm)	DIAMETRO (μ)	AREA (mm)	AREA (μ)
4X				
10X				
40X				
100X				

CÁLCULOS:

4. RELACIÓN ENTRE PODER DE AUMENTO Y TAMAÑO DEL DIAMETRO DEL CAMPO VISUAL DE UN MICROSCOPIO

Tome de nuevo la preparación en fresco con el pedacito de papel milimetrado y enfoque con el objetivo de 43X tratando de que una línea del papel quede como diámetro, tal como lo hizo en el numeral anterior

.

Esquematice lo observado y calcule el diámetro de este nuevo campo visual. Para hacerlo, mueva el carro de manera que pueda determinar aproximadamente, cuántos de los diámetros que usted observa están contenidos en 1mm. Según los cálculos que acaba de hacer, cuál es el valor del diámetro en mm y en μ ? Es este diámetro la mitad, la tercera parte, la cuarta parte, etc., del diámetro calculado cuando usted utilizó el objetivo de 10X? El diámetro es directa o inversamente proporcional al poder de aumento del objetivo, manteniendo constante el ocular?

Como ha podido darse cuenta, la medición del diámetro con objetivo de 40X, presentará mayor margen de error que la medición con objetivo de 10X. Y mayor aún, si usted midiera, por este método, el diámetro del campo visual con objetivo de 100X. Para obviar lo anterior, se utiliza una fórmula matemática que relaciona entre sí los diámetros y los poderes de aumento.

Hay dos formas de relacionar entre sí los diámetros con los poderes de aumento. Esas dos formas aparecen a continuación en donde a es el poder de aumento menor, a_2 es el poder de aumento mayor, d es el diámetro del campo visual con menor aumento y d_2 es el diámetro del campo visual con mayor aumento.

Hay dos formas de relacionar entre sí los diámetros con los poderes de aumento. Esas dos formas aparecen a continuación en donde a es el poder de aumento menor, a_2 es el poder de aumento mayor, d es el diámetro del campo visual con menor aumento y d_2 es el diámetro del campo visual con mayor aumento.

$$\begin{aligned} a_1 / a_2 &= d_1 / d_2 \text{ relación 1} \\ a_1 / a_2 &= d_2 / d_1 \text{ relación 2} \end{aligned}$$

Cuál de estas fórmulas representan una relación inversa? Cuál representa una relación directa? Cuál de ellas sería la correcta, teniendo en cuenta la conclusión deducida anteriormente por usted, respecto a la relación (directa o inversa) entre poder de aumento y diámetro del campo visual?

Calcule ahora, por medio de la fórmula escogida, el diámetro (en mm y en μ), del campo visual de su microscopio con objetivo de 40X y compárelo con el obtenido al utilizar papel milimetrado. Esto ratifica que la fórmula escogida es la correcta? Cree que los poderes de aumento utilizados en la fórmula, son poderes de aumento total o solamente poderes de aumento de los objetivos? Analice esta última pregunta y calcule el diámetro del campo visual de un microscopio dado, con objetivo de 100X y ocular de 10X, si el diámetro del campo visual de ese microscopio, con objetivo de 10x y ocular de 6x, es de 2400 μ

5. PREGUNTAS

1 - Convierta:

- * 0.025mm en μ y en A
- * 5 x 10 $m\mu$ en mm y en A
- * 1300 A en $m\mu$, en μ y en mm

2. El diámetro del campo visual de un microscopio es de 1500μ , cuando se observa con un ocular de 10X y un objetivo de 10X. Cuál será el diámetro del campo visual de ese microscopio, si se observa con un objetivo de 43X y el mismo ocular?

3. Al observar una célula utilizando un microscopio con ocular de 10X y objetivo de 10X, se pudo determinar que su tamaño aproximado era de 0.5mm. Cuál será su tamaño si se observa con el mismo ocular, pero con un objetivo de 40X?

4. Un estudiante observó una célula al microscopio, utilizando un objetivo de 10X y un ocular de 10X y se dio cuenta de que su tamaño aproximado, era de una cuarta parte del diámetro de este campo visual. Si tal diámetro mide 1600μ :

* Cuánto mide la célula?

* Se observará completamente esa celular, si se utiliza un objetivo de 40X, el mismo ocular de 10X?

5. Un microorganismo al observarse en un microscopio con objetivo de 100X, ocupa dos veces el diámetro del campo visual. Cuál será el tamaño real del organismo si el diámetro del campo visual, utilizando un objetivo de 40X (y manteniendo el ocular constante) es 500μ ?

BIBLIOGRAFÍA

- BENFORD, J.R. The Theory of the Microscope. New York.
Bausch and Lomb Inc. 28 p.
- B.S.C. S. Adaptación de la versión verde. 1969
Biología; El Hombre y su ambiente. Medellín, Edit Norma
P. 11 – 15. Volumen I
- Consejo Nacional para la Enseñanza de la Biología
1972. Investigaciones de laboratorio y de campo
3ª. Edición. México. C.E.C.S.A. 304 p.
- DAYSON. R. D. Principio de la Biología Celular
México, Fondo Educativo Interamericano. 431 p.
- ESCOLAR, L. D. Manual de Laboratorio de Biología General
Medellín, Universidad de Antioquia. 159 p.