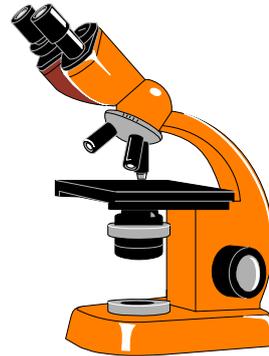


- Introducción
- Objetivo
- Procedimiento
- Resultados
- Cuidado y Almacenamiento del Microscopio.
- Bibliografía

## Trabajo Práctico Nº 2

### USO DEL MICROSCOPIO DE LUZ



#### INTRODUCCIÓN

Una de las herramientas básicas de un laboratorio de microbiología es un microscopio de luz. Este tipo de microscopio recibe este nombre ya que permite el paso de luz no alterada a través de un sistema de lentes de manera de producir un campo brillante donde se pueden observar pequeños objetos. Para poder estudiar microorganismos como bacterias, hongos, algas, parásitos, etc. el microscopio debe estar provisto de un sistema óptico y mecánico sin defectos.

Del microscopio es sumamente importante conocer:

- Sus partes y la función de cada una de ellas.
- Cómo manipular el sistema óptico para obtener el mayor aumento y resolución.
- Cómo manipular el sistema de iluminación ya que la resolución de la imagen a su máximo aumento, depende de su adecuado manejo.
- Cuidados y almacenamiento.

## **PARTES DEL MICROSCOPIO**

El microscopio de luz es un aparato óptico usado para amplificar y resolver detalles finos de un objeto microscópico. Está compuesto de diferentes partes: mecánica, óptica y de iluminación.

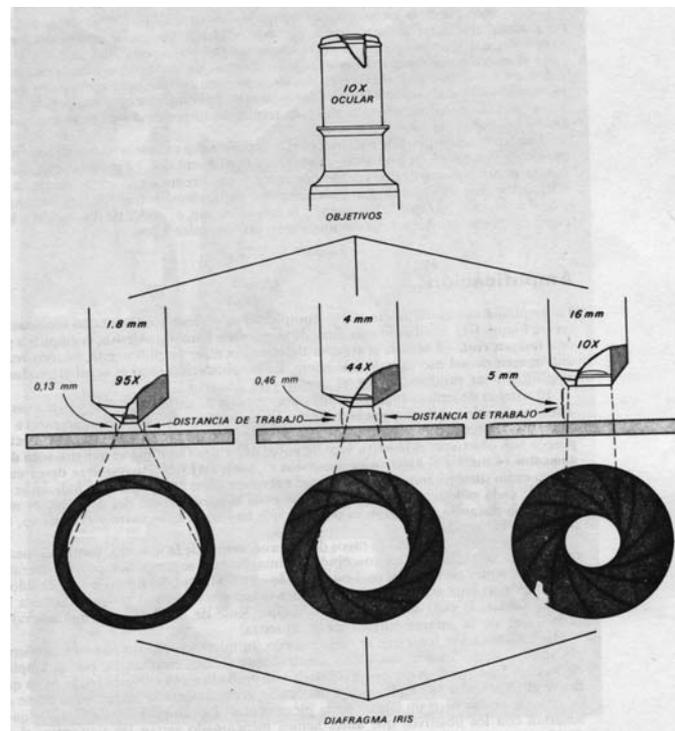
### **PARTE MECÁNICA**

1. **Base o pie:** sirve de soporte al microscopio y suele tener el peso suficiente para darle estabilidad al equipo.
2. **Columna:** une la platina a la base y sostiene al condensador y al diafragma.
3. **Tubo:** sostiene al ocular y al objetivo y los mantiene separados por la distancia de trabajo correcta.
4. **Brazo:** continuación de la base o pie que permite movilizar al microscopio con la mano.
5. **Platina:** sostiene las preparaciones con la muestra colocadas sobre una perforación central que deja pasar la luz que viene del condensador o del espejo.
6. **Pinzas:** sostienen a la lámina portaobjeto con firmeza sobre la platina.
7. **Revolver:** permite colocar en posición de trabajo, alternativamente, los objetivos que posee el microscopio.
8. **Tornillo macrométrico:** mueve la platina o el tubo hacia arriba o hacia abajo, acercando o alejando rápidamente el objetivo a la distancia de trabajo aproximada con respecto a la muestra.
9. **Tornillo micrométrico:** permite mover lentamente y con precisión el tubo hacia la platina o viceversa.

### **PARTE ÓPTICA**

10. **Oculares:** compuestos por lentes que multiplican el aumento del objetivo. Están ubicados en la parte superior del tubo. Un buen ocular (10x) puede permitir un aumento total de 1000x.

- 11. Objetivos:** compuesto por lentes de diferente aumento. Se encuentran ubicados en la parte inferior del tubo (sistema de revolver). Normalmente un microscopio de luz dispone de tres lentes objetivo: 10X, 40X y 100X, independientes e intercambiables. Cada uno de ellos tiene un aumento dado, y su propósito es magnificar el objeto para producir una imagen real que se proyecta hasta el plano focal del ocular. Esta imagen, a su vez, es magnificada por el ocular para producir la imagen, que es vista por el ojo del observador. El objetivo de 10X es el más corto de los tres, le sigue el de longitud intermedia con un aumento de 40-45X. El más largo de todos es el objetivo de inmersión que tiene un aumento de 100X. El número del aumento lo tienen inscrito en su parte lateral. La distancia focal de cada uno de ellos es de aproximadamente 16 mm, 4 mm y 1.8 mm respectivamente.



Distancias focales con los tres objetivos más comúnmente utilizados  
Inmersión, 40 X y 10 X

## SISTEMA DE ILUMINACIÓN

- 12. Fuente de luz:** puede utilizarse luz artificial de una lámpara externa o una que se inserta en la base o pie del microscopio. Cuando se utiliza la lámpara externa se requiere de un espejo.
- 13. Espejo:** lo requieren los microscopios que trabajan con lámparas externas y permite reflejar hacia arriba la luz que debe pasar a través del diafragma, la

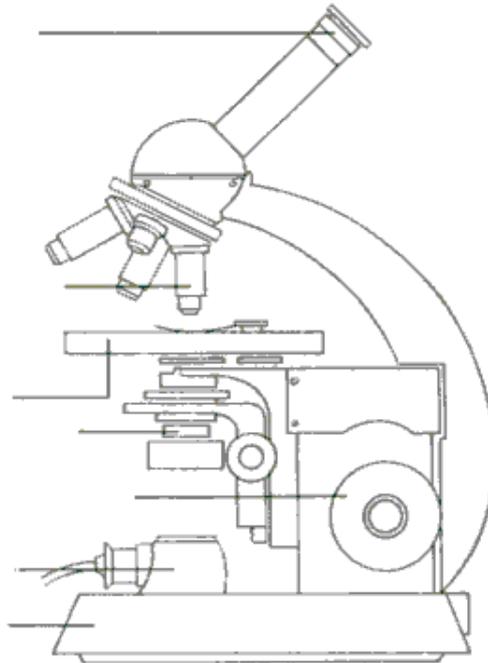
platina, la preparación y el sistema óptico. El espejo plano se utiliza cuando hay bastante luz y el cóncavo cuando hay poca luz.

**14. Condensador:** concentra el haz luminoso en la preparación.

**15. Diafragma:** regula la cantidad de luz que pasará a través de la preparación.

### EJERCICIO TEÓRICO

Ubique en la figura que se presenta a continuación las partes del microscopio discutidas.



### PODER DE RESOLUCIÓN

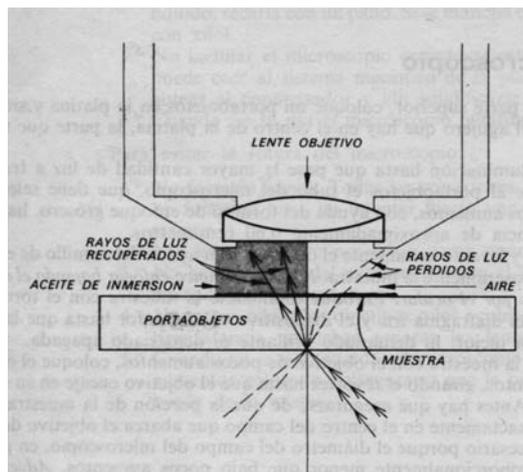
La amplificación total de un microscopio de luz es el producto de la amplificación de dos sistemas de lentes (ocular y objetivo). La amplificación podría aumentarse indefinidamente empleando lentes adicionales, pero ello no se puede lograr en la práctica debido a una propiedad que tiene las lentes conocida como **poder de resolución**.

El poder de resolución se define como la capacidad de un lente para presentar dos puntos cercanos como puntos diferentes y separados. El poder de resolución puede calcularse dividiendo la longitud de onda de la luz empleada, entre otra característica de las lentes conocida como apertura numérica, esta última es función del diámetro real del objetivo en relación con su distancia focal y el poder de desviar el rayo luminoso o índice de refracción del medio que hay entre la muestra y el objetivo.

**Poder de resolución =  $\frac{\text{Longitud de onda}}{\text{Apertura numérica}}$**

De la fórmula anterior se puede concluir que mientras más corta es la longitud de onda empleada, más pequeña será la estructura visible. Debido a que normalmente se utiliza una fuente de luz visible, la longitud de onda promedio es constante y por lo tanto el poder de resolución dependerá de la apertura numérica.

Según su definición la apertura numérica está relacionada con el índice de refracción del medio que hay entre la muestra y el objetivo. Debido a que el índice de refracción del aire es menor que el del vidrio, los rayos luminosos se refractan o se desvían cuando pasan de la lámina portaobjeto al aire. Si la mayoría de los rayos luminosos se refractan en un ángulo muy grande, se pierden para el objetivo. Si colocamos entre la lámina y el objetivo de 100 X un aceite de inmersión que tenga un índice de refracción aproximadamente igual al del vidrio, disminuye la desviación y un porcentaje mayor de rayos luminosos procedentes de la muestra pasarán directamente al objetivo, consiguiéndose una mayor resolución y una imagen más clara.



Efecto del aceite de inmersión para aumentar el poder de resolución

En conclusión para obtener la imagen de mayor aumento, más nítida y con mayor poder de resolución se debe:

- Disponer de lentes de óptima calidad.
- Disponer de oculares de gran aumento.
- Trabajar con el objetivo de inmersión.
- Utilizar aceite de inmersión de buena calidad.

## USO DEL MICROSCOPIO

Para el buen uso del microscopio en el laboratorio de microbiología se deben tener en cuenta los siguientes aspectos.

- Los microscopios están numerados y se guardan en gabinetes cerrados.
- A cada estudiante del grupo se le asigna un microscopio por el cual será responsable.
- La mesa donde se colocará el microscopio para hacer la observación debe ser estable para evitar vibraciones de la muestra durante el examen.
- La posición del observador ante el microscopio debe ser cómoda y a una altura correcta.
- El mesón de trabajo debe estar limpio y libre de libros, cuadernos, bandejas y reactivos.
- Cuando se transfiera el microscopio del gabinete al mesón de trabajo, se agarra fuertemente el brazo del microscopio con una mano y se coloca la otra mano por debajo del instrumento. Si no se realiza de esta manera, las probabilidades de golpear contra el mesón o dejarlo caer se elevan.

Bajo ninguna circunstancia se debe tomar el microscopio con una sola mano y menos aún, un microscopios en cada mano.

- Una vez finalizada la observación, se limpian las lentes y se guarda siguiendo las mismas instrucciones de transporte.

## OBJETIVO

Al finalizar el estudiante estará en capacidad de:

Reconocer las partes de un microscopio de luz y su función respectiva.

Utilizar correctamente un microscopio de luz para observar láminas.

## PROCEDIMIENTO

Con las láminas portaobjeto que le suministre el profesor observe la muestra con el microscopio de luz utilizando el objetivo adecuado. Para ello se procede de la siguiente manera:

1. Colocar sobre la platina la lámina portaobjeto con la muestra colocada en la parte superior.

2. Situar cuidadosamente la parte que va a examinar sobre el agujero central de la platina.
3. Ajustar la fuente de iluminación hasta que pase la mayor cantidad de luz a través de la muestra.

El diafragma y el condensador, se deben ajustar hasta que la luz cubra todo el campo visual.

4. Seleccionar el objetivo adecuado y con el tornillo macrométrico acercar la lámina al objetivo, hasta que los separe aproximadamente la distancia focal adecuada.
5. Observar por el ocular, con ambos ojos abiertos, aproximando lentamente la lámina al objetivo, con ayuda del tornillo macrométrico.
6. Enfocar totalmente la muestra con el tornillo micrométrico y ajustar el diafragma y el condensador hasta lograr una buena iluminación, es decir, ni demasiado brillante ni demasiado oscuro.

#### ENFOQUE CON EL OBJETIVO DE INMERSIÓN

El enfoque con el objetivo de inmersión se debe realizar con mayor cuidado, pero el procedimiento es esencialmente el mismo.

1. Enfocar primero con el objetivo de mediano aumento (40 X) un área conveniente.
2. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre la muestra.
3. Separar los objetivos de la lámina y colocar el de inmersión girando el revolver hasta que éste encaje.
4. Bajar cuidadosamente el objetivo de inmersión, **observando lateralmente**, hasta que el objetivo quede sumergido en el aceite.
5. Separar lentamente la lámina con el uso del tornillo macrométrico hasta lograr ver una imagen.
6. Utilizar el tornillo micrométrico hasta que la imagen se vea nítida.

Este enfoque puede lograrse girando muy poco el tornillo micrométrico, puesto que la distancia de trabajo del objetivo de inmersión es relativamente corta.

7. Ajustar el condensador y diafragma hasta lograr la iluminación adecuada.

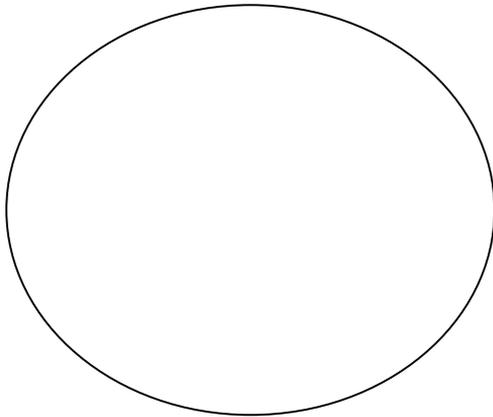
Una vez realizadas las observaciones:

1. Anotar lo observado.
2. Remover todo el aceite de inmersión que queda sobre el objetivo con un papel especial que le suministrará el profesor.
3. Guardar el microscopio.

Ver: cuidados y almacenamiento del microscopio.

## RESULTADOS

Dibujar en los círculos lo observado, anotando el objetivo utilizado y el aumento final.



**Lámina No. 1**

**Objetivo:** \_\_\_\_\_  
**Ocular:** \_\_\_\_\_  
**Aumento:** \_\_\_\_\_

**Descripción de lo observado:**

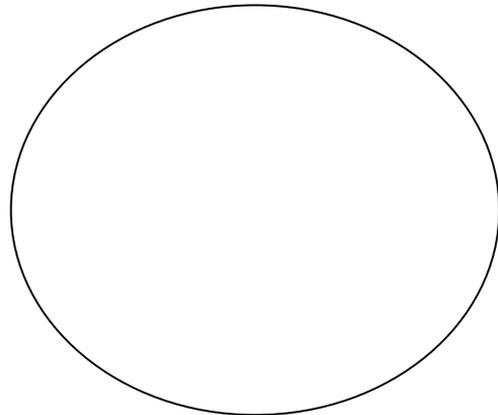
---

---

---

---

---



**Lámina No. 2**

**Objetivo:** \_\_\_\_\_  
**Ocular:** \_\_\_\_\_  
**Aumento:** \_\_\_\_\_

**Descripción de lo observado:**

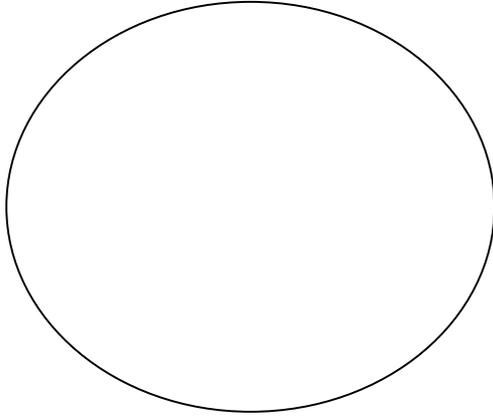
---

---

---

---

---

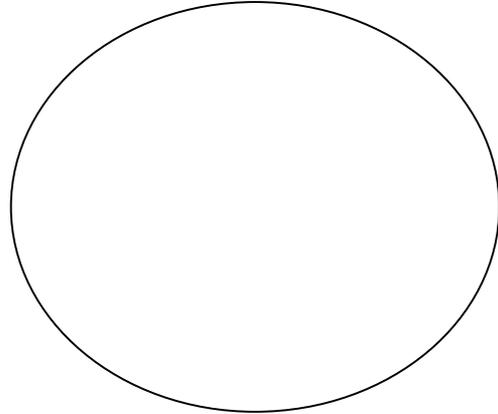


**Lámina No. 3**

**Objetivo:** \_\_\_\_\_  
**Ocular:** \_\_\_\_\_  
**Aumento:** \_\_\_\_\_

**Descripción de lo observado:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



**Lámina No. 4**

**Objetivo:** \_\_\_\_\_  
**Ocular:** \_\_\_\_\_  
**Aumento:** \_\_\_\_\_

**Descripción de lo observado:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### **CUIDADOS Y ALMACENAMIENTO DEL MICROSCOPIO**

Un microscopio puede tener una vida media larga, siempre y cuando se tomen precauciones en el cuidado de lentes y se cumplan normas para su transporte y almacenamiento.

#### **Cuidado de lentes**

Para utilizar efectivamente la mayor cantidad de luz, que entra al microscopio, es importante que el espejo (si lo tiene), el condensador, y las lentes se mantengan limpios. Para limpiarlos se deben utilizar papeles y soluciones de limpieza apropiados para evitar el daño de las lentes.

- **Papeles de limpieza:** Únicamente se deben utilizar papeles ópticamente limpios. Lo que se utiliza con más frecuencia en los laboratorios son unas pequeñas libretas que contienen este tipo de papel las cuales se deben proteger del polvo. **Está prohibido utilizar pañuelos, servilletas o cualquier otro tipo de material para limpiar las lentes aunque éstos estén limpios.**
- **Objetivos:** Las lentes objetivos frecuentemente se ensucian con material proveniente de las láminas y los dedos. Los papeles descritos anteriormente pue-

den la eliminar grasa y otros materiales que se depositan sobre el objetivo, pero la limpieza final usualmente se lleva a cabo con solventes orgánicos, preferiblemente con xilol.

Es importante utilizar la cantidad adecuada de solvente, ya que un exceso puede dañar el cemento que mantiene unido el lente a la base. El pequeño flujo de aire que se obtiene con una jeringa también puede ser adecuado para remover la pelusa remanente.

- **Ocular:** Para comprobar la limpieza del ocular, éste se debe rotar con los dedos y al mismo tiempo se debe observar a través del microscopio. Una imagen que rota constituye una evidencia de la presencia de suciedad. Proceda a limpiar ambos lentes con el papel adecuado y remueva la pelusa restante con un pequeño chorro del aire.

#### Sugerencias adicionales

1. Revisar el aceite de inmersión para asegurarse que no está turbio. Un buen aceite de inmersión debe ser claro. Un aceite en mal estado daña las lentes.
2. Mantener los oculares limpios.
3. Mantener el condensador en su posición más alta.
4. Si el microscopio dispone de espejo, utilizar la superficie plana.
5. Mantener el diafragma completamente abierto.
6. No intercambiar los objetivos o los oculares entre microscopios.

#### Almacenamiento

El microscopio debe almacenarse en óptimas condiciones. Antes de guardarlo es necesario:

- Remover la lámina portaobjeto de la platina.
- Limpiar el objetivo de inmersión, si éste fue utilizado.
- Colocar el objetivo de menor aumento en posición de uso.
- Desconectar la lámpara (si el microscopio lo requiere) y guardarla dentro de la caja del microscopio.

- Transferir el microscopio del mesón al gabinete, previamente abierto, tomando con una mano, el brazo del microscopio y la base con la otra.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Benson, Harold. 1979. Microbiological Applications. A Laboratory Manual in General Microbiology. Third edition. Wm. C. Brown Company Publishers. Dubuque, Iowa

Brock Th.; Brock K. 1973. Basic Microbiology with Applications. Prentice-Hall, Inc. New Jersey.

Clavell, L.; Pedrique de Aulacio, M. 1992. Microbiología. Manual de Métodos Generales (segunda edición). Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

Pelczar and Chan. 1977. Laboratory Exercises in Microbiology. Fourth edition. McGraw-Hill Book Company.

Seely. H; Van Demark, P. 1962. Microbios en acción. Manual de Laboratorio para Microbiología. Editorial Blume. Madrid-España.

Tortora G. J., B. R. Funke and Ch. L. Case 2007. Introducción a la Microbiología 9<sup>na</sup> Edición. Editorial Médica Panamericana.

Prof. Milagros de Vizcarrondo  
Prof. Sofía Gutiérrez de Gamboa  
Noviembre 2001  
Revisión 2008