

## Tipos de microscopios

### Construcción de un microscopio clásico

Los microscopios clásicos de mesa se componen de un pie que sirve para que el microscopio esté estable sobre la mesa. Muchos microscopios de laboratorio tienen integrada una unidad luminosa que, a través de un espejo deflector y una apertura de salida de luz, envía una luz homogénea sobre la platina. Este tipo de iluminación indirecta del objeto tiene la ventaja que la calor emitida por la fuente de luz no traspasa al objeto. Los microscopios más modernos integran lámparas LED de luz fría, que evitan justamente que la luz caliente la muestra.



Encima del pie se encuentra el trípode, sobre el que se fija la platina y el portamuestras. Antes que la luz alcance el preparado, esta se enfoca a través de la lente del condensador.

Una mecánica precisa permite ajustar a través de una rueda la distancia entre la platina y el objetivo, lo que permite al usuario tener una imagen nítida.

### Tipos de oculares (monocular, binocular, trinocular)

El ocular es la parte más alta del microscopio, y se encuentra situado en la parte superior del tubo. El tubo se sitúa entre el objetivo y los oculares, creando al final del tubo una imagen intermedia real. En los microscopios de luz transmitida se suele ver la muestra como imagen homogénea. La contemplación de esa imagen se realiza a través de unos oculares. Los microscopios más antiguos o más sencillos suelen disponer de un solo ocular (monocular). Sin embargo, existen modelos binoculares que disponen de dos oculares para poder observar la muestra con ambos ojos. La imagen del preparado se divide en dos recorridos ópticos idénticos, por lo que la contemplación es, al igual que con el monocular, bidimensional. No se trata de un microscopio estéreo que permite contemplar una imagen en 3 dimensiones.

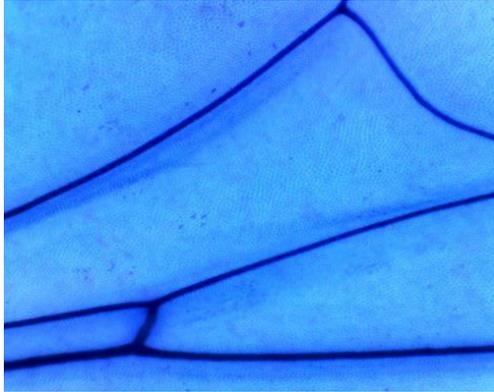
Los microscopios trinoculares se usan cuando es necesario visualizar la imagen en una pantalla. La ventaja es que puede colocar la unidad electrónica en un tercer tubo, sin que tenga que prescindir de visualizar la imagen con ambos ojos.

## Tipos de microscopios

Existen diferentes tipos de microscopios que deseamos explicar con más detalle.

### Microscopio de luz transmitida

Los microscopios de luz transmitida sirven para contemplar preparados transparentes y muy finos.



Cuanto más fino sea el preparado, con más precisión podrá observarlo. Sin embargo, puede usar los microscopios de luz transmitida para ver la superficie de muestras de cuerpos opacos, como por ejemplo, granulados o sedimentos. En tales casos, el preparado se observa como un juego de luz y sombras. En este tipo de microscopios el rayo de luz suele proyectarse desde abajo, atravesando el preparado, cuando este sea transparente. Si desea contemplar bien los preparados especiales que se depositan sobre la platina, es mejor que use un microscopio invertido. En este tipo de microscopios la iluminación es de arriba hacia abajo. La microscopía invertida se usa con frecuencia en la

hidrogeología, hidrobiología y la medicina. Como el tipo de construcción conlleva que la distancia entre el objeto y el objetivo sea bastante grande, esto hace posible la contemplación de preparados más gruesos.

### Microscopio de luz reflejada (microscopio óptico)

En este tipo de microscopio se ilumina el preparado desde la parte superior a través del objetivo o lateralmente. La luz reflejada en el preparado es captada por el objetivo. Gracias a esta técnica es posible usar preparados opacos o espesos. Los microscopios de luz reflejada se usan con frecuencia en la microscopía de fluorescencia o en la mineralogía.



### Microscopio estereoscópico (microscopio óptico)

Los microscopios estereoscópicos son básicamente microscopios de luz reflejada. El preparado se suele iluminar desde la parte superior o inferior. La mayoría de los microscopios estereoscópicos permiten iluminar también desde la parte inferior.

Los microscopios estereoscópicos se diferencian de otros microscopios en que disponen de dos entradas de luz separadas, que están ordenados en un ángulo determinado. Cada entrada de luz integra su propio objetivo y ocular. Algunos microscopios estereoscópicos integran una lente de aumento integrada delante del objetivo.

## **Microscopio de fluorescencia (microscopio óptico)**

Aquí se suele excitar desde un colorante fluorescente en la muestra mediante una luz con una determinada longitud de onda desde el exterior. El colorante fluorescente emite la luz. Esa luz tiene una longitud de onda más larga que la luz excitada (Stoke's Shift). En la trayectoria del rayo se puede separar mediante filtros ópticos la luz fluorescente de la luz excitada, y reenviarla al ocular o la cámara. El límite de resolución de un microscopio de fluorescencia puede estar muy por debajo de un microscopio óptico convencional, lo que permite contemplar con precisión las estructuras de una célula o los procesos de células vivas.

## **Microscopio confocal**

Este tipo de microscopía es una forma particular de la microscopía óptica o fluorescente. En este caso se escanea secciones ópticas muy finas y se compone una imagen tridimensional. Como cada sección es una imagen muy nítida, se consigue una imagen 3D muy bien enfocada.

## **Microscopio STED (Stimulates Emission Depletion) (Microscopio de fluorescencia)**

Este tipo de microscopía es un método más reciente aún de la microscopía de fluorescencia, con la que se puede eludir el límite de resolución definido por Abbe. La ventaja es que en comparación con un microscopio óptico convencional, el límite de reproducción es muy superior, lo que permite enfocar con mucha nitidez detalles de estructuras. Con el microscopio STED consigue una resolución mejor que con un microscopio láser convencional. En octubre de 2014, el investigador Stefan Hell fue galardonado con el premio Nobel de la química por sus trabajos de investigación con el microscopio STED.

## **Microscopio electrónico**

Dicho de forma muy sencilla, la microscopía electrónica usa haz de electrones en vez de luz. Como ya se sabe, estos tienen una longitud de onda mucho más corta que la luz visible, por lo que se consigue una resolución más alta en el rango de las estructuras atómicas. Existe una amplia variedad de electrones. Aquí indicamos sólo los tipos más comunes.

### Tipos de microscopía electrónica

#### **Microscopio electrónico de transmisión (TEM)**

En este caso un objeto es irradiado por electrones. Los microscopios TEM (microscopios electrónicos de transmisión) son como los microscopios de luz transmitida, donde la absorción juega un papel importante. Actualmente la resolución que se consigue es de aprox. 0,05 nm.

**Microscopio electrónico de barrido (REM), Scanning Elektron Microscopy (SEM)**

Aquí se dirige un haz de electrones finamente concentrado en una retícula determinada sobre la prueba metalizada. Los electrones secundarios (contraste) emitidos desde la superficie se miden como señal y se convierten en una imagen óptica. Para alcanzar un haz de electrones ininterrumpido, la medición se realiza en un alto vacío.

**Microscopio de fuerza atómica, Atomic Force Microscopy (AFM)**

Este método sirve para presentar una presentación superficial. La prueba es palpada en una retícula predefinida por una punta afilada sujeta a un muelle de ballesta. Gracias a la fuerza nuclear, se mantiene constante la distancia a la superficie. La deformación del muelle de ballesta es captada por la reflexión del haz de luz láser por un sensor óptico, y presentado por líneas. Según la rugosidad a comprobar, puede detectar diferencias en un rango de 0,1 a 10 nm.

**Microscopio de efecto túnel, Scanning Tunnelling Microscopy (STM)**

En la microscopía de efecto túnel se presenta la superficie mediante la medición del flujo de la corriente entre una punta conductora y la prueba que es también conductora. Las pruebas que no sean conductoras deben ser metalizadas con oro, grafito o cromo. También en este caso se palpa la superficie en una retícula predefinida.

**Microscopio de rayos X**

En la microscopía de rayos X se usan los rayos X como fuente de radiación. Gracias a que los rayos X tienen una longitud de onda más corta con relación a la luz, se obtiene una resolución más alta. También puede medir otras interacciones de la prueba a través de los rayos X. Una gran ventaja de la microscopía de rayos X es que las pruebas pueden ser más gruesas que usando microscopios electrónicos. Tampoco requiere que la superficie sea conductora, colorear el material biológico, usar un sustrato, ni cortar la prueba de forma muy fina.