

TALLER Y LABORATORIO

EL MICROSCOPIO SIMPLE PARA VER
ESPECÍMENES BIOLÓGICOSINTRODUCCIÓN. EL OJO COMO
INTRUMENTO ÓPTICO

Desde la antigüedad ya se sabía que cuanto más cerca se encontraba un objeto del ojo más grande se veía. Vamos a analizar este aspecto de la cuestión admitiendo que el ojo humano se puede imaginar como una lente convergente de una distancia focal imagen f' que se puede cambiar para conseguir que la imagen del objeto observado se forme en la retina. Ésta se encuentra en el fondo del ojo humano a una distancia de 2,43 cm del centro óptico del cristalino para un ojo estándar. Este proceso de enfoque de la imagen se denomina *acomodación*. Se produce gracias a los músculos ciliares que actúan sobre el cristalino haciéndolo cambiar de curvatura y, por lo tanto, de distancia focal.

La distancia mínima a la que hay que colocar el objeto para que se pueda producir la acomodación es $d_o = 25$ cm (*punto próximo*). Para distancias menores el ojo ya no acomoda: los músculos ciliares no se pueden tensar más y el ojo no enfoca los objetos sobre la retina, haciéndose borrosa la imagen. Según va aumentando la distancia del objeto, los músculos ciliares se van distendiendo para conseguir el enfoque hasta que aquél está muy alejado (en el infinito), en cuyo caso el ojo no necesita acomodar. Los músculos ciliares están completamente distendidos y la imagen está siempre enfocada en la retina. En este último caso, la distancia focal imagen del ojo es $f' = 2,43$ cm.

En la Figura 1 se indica la marcha de los rayos en la formación de la imagen de un objeto situado en el plano correspondiente al punto próximo de un ojo estándar. El rayo (1) que sale de la punta de la flecha del objeto, de coordenadas (s, y) , y que pasa por el centro óptico del cristalino (origen de coordenadas) no se desvía al entrar en el espacio imagen. El rayo (2), que sale del mismo punto y avanza paralelo al eje óptico, cuando llega al

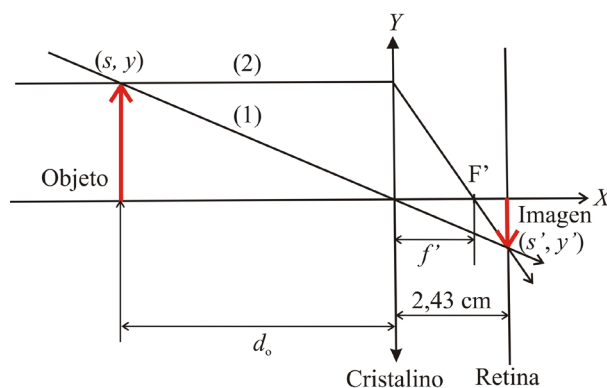


Figura 1. Marcha de rayos en la formación de la imagen a simple vista cuando el objeto está situado en el plano correspondiente al punto próximo.

ojo se desvía pasando por su foco imagen F' (fijado en su posición por el proceso de acomodación) y se cruza en la retina con el rayo (1) para formar la imagen (s', y') de la punta de la flecha. En este caso, la distancia focal f' se hace menor de 2,43 cm para que la imagen se forme donde debe.

Como puede verse en la Figura 1, la imagen de la flecha es invertida. Su altura y' se puede calcular con las leyes de las lentes en la aproximación paraxial. Lo que determinan éstas es qué punto (s', y') del espacio imagen le corresponde al punto (s, y) del espacio objeto de manera biunívoca:

$$\frac{1}{s'} - \frac{1}{s} = \frac{1}{f'} \quad (1)$$

$$\frac{y'}{y} = \frac{s'}{s} \quad (2)$$

En estas expresiones se utilizan las normas DIN 1335 en las que las distancias objeto s e imagen s' son tratadas como coordenadas según el eje X (eje óptico del sistema) y las alturas y e y' del objeto y de la imagen como coordenadas según el eje Y con origen en el centro del cristalino (ver Figura 1).

En las expresiones (1) y (2) conocemos el valor de la distancia imagen, que es la distancia entre el cristalino y la retina: $s' = 2,43$ cm. A partir de la expresión (2) podemos obtener el valor de y' en función de s e y , que es lo que viene representado en la Figura 2 para un objeto de altura $y = 1$ mm. La coordenada y' es negativa (lo

que quiere decir que la imagen está invertida en la retina), pero va aumentando en valor absoluto desde algo menos de una centésima de milímetro, para una distancia objeto de 4 m, hasta alcanzar su valor máximo (cerca de una décima de milímetro) cuando el objeto está a 25 cm del ojo, donde se sitúa el punto próximo. Es decir, la imagen en la retina es aproximadamente diez veces menor que el objeto en las mejores condiciones de observación a simple vista¹. Si las dimensiones del objeto fueran inferiores a la décima de milímetro, su imagen en la retina sería del orden de la centésima de milímetro (10 μm) y no afectaría más que a uno o dos de sus conos o bastones (píxeles del ojo), que tienen dimensiones del orden de 7 μm . Ya no se podría distinguir su forma. De ahí la necesidad de amplificar la imagen con una lente.

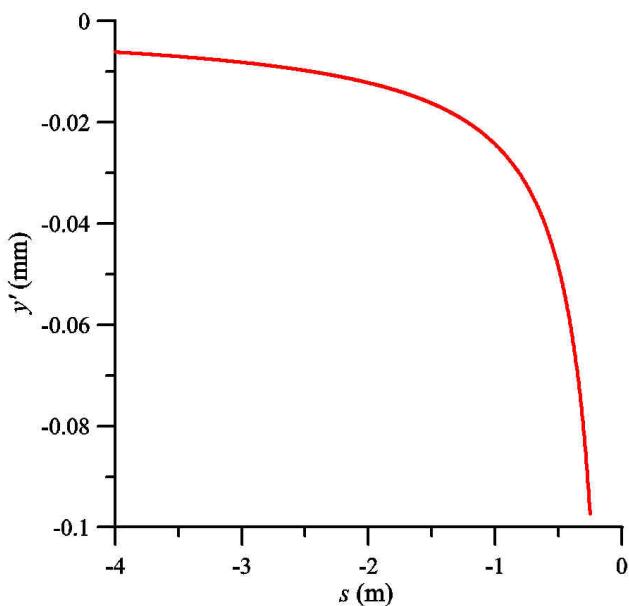


Figura 2. Altura y' de la imagen en la retina en función de la distancia objeto s .

LA LUPA O MICROSCOPIO SIMPLE

El comerciante y científico holandés Anton van Leeuwenhoek (1632-1723) inventó el microscopio simple para ver detalles de especímenes biológicos en el año 1674 [1].

Cuando Leeuwenhoek ideó su microscopio ya se conocía cómo funcionaban las lentes y cómo se formaba la imagen en el ojo. Si delante de él colocamos una lupa (lente convergente) a una distancia L (ver Figura 4), el punto objeto (s, y) se transforma en el punto imagen

¹ En muchos libros se dice también “a ojo desnudo” por influencia del francés o del inglés.



Figura 3. Retrato al óleo de Leeuwenhoek realizado por el pintor Jan Verkolje.

por la acción de la lente. Si el objeto está situado entre el centro óptico de la lente y su foco objeto F , la imagen que se obtiene a través de ella es virtual, es decir, los rayos (1) y (2) que salen del punto (s, y) no se cortan en el espacio imagen de dicha lente, sino que sus prolongaciones (líneas discontinuas) lo hacen en el espacio objeto en el punto (s', y') . Podemos calcular las coordenadas de este último punto² utilizando las ecuaciones (1) y (2) aplicadas a este caso.

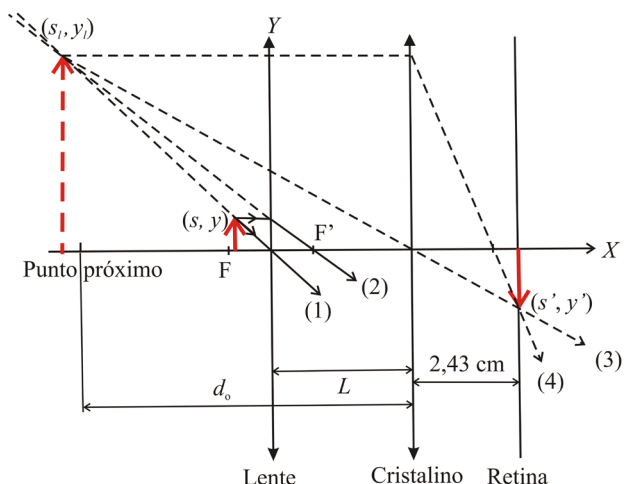


Figura 4. Marcha de rayos en la formación de la imagen en la retina a través de una lente.

² En la Figura 4 hemos tomado como origen de coordenadas el centro de la lente.

Sabiendo que las coordenadas del foco imagen F' de la lente son $(f', 0)$ con $f' > 0$, y combinando las ecuaciones (1) y (2), obtenemos las siguientes expresiones para s_i e y_i :

$$s_i = \alpha s \quad ; \quad y_i = \alpha y \quad ; \quad \text{con} \quad \alpha = \frac{f'}{f' + s}$$

Estamos interesados en que la lente produzca una imagen que esté a su izquierda y a una distancia del ojo (cristalino) que sea superior a la distancia d_o del punto próximo. Eso es sólo posible si la distancia objeto s es, en valor absoluto, inferior a la distancia focal imagen f' . En este caso el parámetro α es positivo y, en consecuencia, s_i es negativo al serlo también s , pero y_i es positivo por serlo y : la imagen es virtual y derecha, como se indica con trazo discontinuo en la Figura 4.

Para que el valor absoluto de s_i sea mayor que d_o (condición para que el ojo pueda enfocar en la retina) es necesario que se verifique la siguiente condición: $s_i \leq L - d_o$, de donde se deduce que la coordenada s_o de mayor valor absoluto que cumple dicha condición es:

$$s_o = -\frac{f'(d_o - L)}{f' + (d_o - L)}$$

Por la Figura 1 sabemos que cuando el objeto (en este caso la imagen virtual producida por la lente) se encuentra a la distancia d_o del ojo es cuando la imagen es mayor en la retina. Por consiguiente, la relación y_i/y nos proporciona el mayor aumento con que se ve la imagen a través de la lente con respecto a cómo se ve a simple vista. A esta razón se le denomina aumento PA del aparato visual [2]:

$$PA = \frac{y_i}{y} = \frac{f'}{f' - s_o} = 1 + \frac{d_o - L}{f'} \quad (3)$$

Por lo tanto, cuando la distancia L entre el ojo y la lupa es inferior a la distancia d_o , se produce aumento en la imagen observada con la lupa con respecto a la imagen observada a simple vista. En el caso de la lupa de Sherlock Holmes, que tiene una distancia focal f' de unos 15 cm y el detective la utiliza colocándola a una distancia L de unos 5 cm del ojo, el aumento se limita a poco más del doble, es decir, $PA = 2\times$, según la nomenclatura profesional.

En la Figura 5 se indica la variación del aumento con la distancia focal de la lente en el caso de un ojo estándar joven aplicado contra ella (L prácticamente nula). Como puede verse, el aumento crece cuando la distancia focal disminuye, llegando a ser mayor de $500\times$ para distancias focales del orden de 0,5 mm. A la construcción

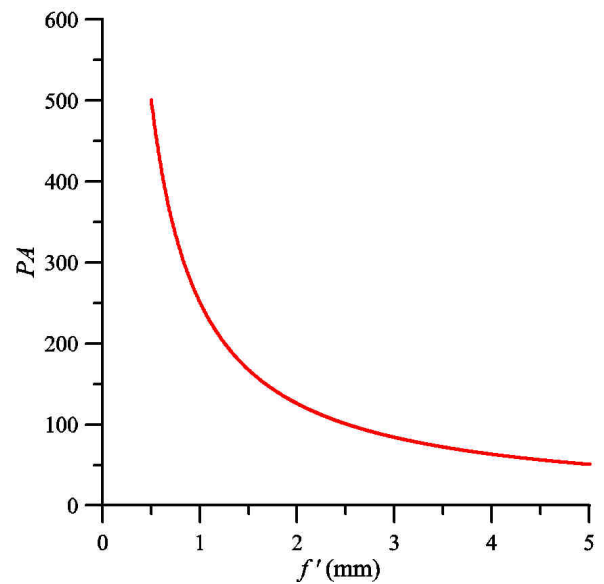


Figura 5. Aumento PA para una lupa en función de la distancia focal.

de este tipo de lentes se dedicó Anton van Leeuwenhoek y con los microscopios que construyó pudo estudiar especímenes biológicos hace ahora unos 350 años, con lo que las Ciencias Naturales experimentaron un fuerte desarrollo.

EL MICROSCOPIO DE ANTON VAN LEEUWENHOEK

El primer microscopio simple que utilizó Anton van Leeuwenhoek a sus dieciséis años, en 1653, tenía unos tres aumentos ($3\times$), es decir, una distancia focal de unos 13 cm, y lo utilizaba para analizar los tejidos en la tienda de telas de Ámsterdam donde trabajaba como aprendiz [1]. Dos décadas después, establecido en Delft con su propio comercio de telas y mercería, construyó microscopios con aumentos comprendidos entre $200\times$ y $300\times$. Había conseguido fabricar lentes de distancias focales inferiores al milímetro. Las lentes estaban constituidas por esferitas de vidrio, cuyo radio R podemos evaluar con la fórmula del constructor de lentes de la Óptica Geométrica aplicada a este caso [2]:

$$\frac{1}{f'} = (n-1) \frac{2}{R}$$

Tomando el índice de refracción del vidrio $n = 1,52$ y teniendo en cuenta que las distancias focales debían estar comprendidas entre 0,8 mm y 1,4 mm (ver Figura 5), los radios de las esferas estarían comprendidos entre 0,83 mm y 1,46 mm. Anton guardó celosamente el secreto de la obtención de estas lentes tan pequeñas, pero se han conservado algunos microscopios de los más de

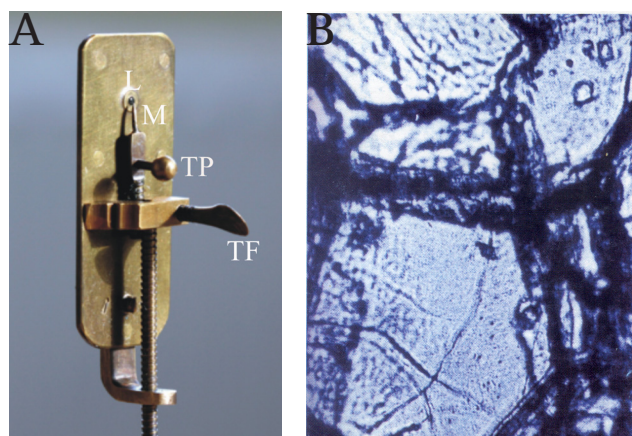


Figura 6. (A) Microscopio de Leeuwenhoek: L, lente; M, aguja portamuestras; TP, tornillo posicionador; TF, tornillo de enfoque. (B) Imagen obtenida con un microscopio similar al de la Figura 6A: muestra original de Leeuwenhoek de médula Elder Pith Sambucus.

quinientos que construyó y las imágenes que se obtienen con ellos son de una gran nitidez. En la Figura 6A se puede contemplar uno de ellos.

La lente L se encuentra alojada entre dos pequeñas placas de latón en las que se ha practicado un agujero de diámetro un poco inferior al de ella. En la parte delantera del dispositivo se coloca la muestra sobre la punta de la aguja M y se ajusta su posición con ayuda del tornillo TP. El observador se acerca el dispositivo al ojo por la parte posterior de las placas de latón para observar a través del agujero. Con ayuda del tornillo TF se acerca o se aleja la aguja M hacia la lente L hasta conseguir el enfoque adecuado.

Sobre los trabajos de Leeuwenhoek y otros microbiólogos de la época se puede consultar un buen artículo en español, “El nacimiento del microscopio”, de Brian J. Ford, en la revista mexicana “Contactos” [3], en la que se puede contemplar la imagen de la Figura 6B obtenida con un microscopio de este tipo.

Aunque no se conocen bien los secretos de Leeuwenhoek, diferentes autores han propuesto la fabricación de microscopios de este tipo, incluida la fabricación de las lentes. Un trabajo notable es el de C.L. Stong [4], en el que, además de describir el microscopio de Anton van Leeuwenhoek, propone una manera artesanal de fabricar las lentes. Consiste en utilizar una varilla de vidrio transparente y calentarla con la llama de un mechero de gas hasta que se ablande. Entonces se retira la varilla de la llama y se estira rápidamente hasta que se forme un hilo de vidrio de la anchura de un cabello en su parte central. Este hilo puede alcanzar unos 30 cm de largo. Con la varilla enfriada se quiebra el hilo de manera que

quede un trozo de él de unos 10 cm, unido a una de las partes no deformadas de la varilla para que pueda ser manipulado. El extremo libre de este hilo se calienta lentamente a la llama del mechero para que, al ablandarse, se vaya formando una pequeña bola³. De esta manera se obtiene una esferita de vidrio de buena calidad óptica y de un diámetro aproximado de entre 1 mm y 2 mm. Esta esferita se coloca en el hueco destinado para ella en el microscopio de Anton van Leeuwenhoek y se emplea como lente.

EL DISPOSITIVO CASERO CONSTRUIDO EN NUESTRO LABORATORIO

En nuestro laboratorio hemos fabricado un microscopio de este tipo pero utilizando la lente de un puntero láser. Estas lentes suelen ser pequeñas y de una distancia focal de una decena de milímetros. La idea la hemos tomado del artículo publicado por Ernesto Cyrulies y Mariana Schamne en la revista Eureka [5], en el que proponen la utilización de lentes de teléfonos móviles (de distancia focal algo más pequeña que la de los punteros láser), ayudándose además de cámaras fotográficas para poder realizar los análisis de las imágenes al ordenador.

En la Figura 7A puede verse la parte frontal de nuestro microscopio simple casero y en la Figura 7B la parte lateral. La pieza A, de metacrilato y de dimensiones $0,5 \times 6 \times 25 \text{ cm}^3$, equivale a las dos piezas de latón yuxtapuestas en el microscopio de Leeuwenhoek. En ella está incrustada la lente L montada sobre una pieza cilíndrica de latón. La pieza B, también de metacrilato y de dimensiones $0,9 \times 3 \times 9 \text{ cm}^3$ es el portaobjetos donde se coloca la muestra (equivale a la aguja M del microscopio de la Figura 6A). La pieza C, también de metacrilato y de dimensiones $0,5 \times 6 \times 10 \text{ cm}^3$, alberga al portaobjetos y se monta sobre la pieza A con los cuatro tornillos D (dos de ellos están ocultos en las Figuras 7A y 7B), provistos de resortes bastante rígidos. Estos tornillos sirven de guía para el deslizamiento de la pieza C, que puede acercarse y alejarse de la lente para enfocar el objeto. Los tornillos TF se utilizan para efectuar dicho enfoque de tal manera que la imagen se forme en la retina del observador. El microscopio puede montarse sobre el borde de una mesa para que la observación se pueda realizar cómodamente.

³ La tensión superficial hace que el vidrio pastoso tienda a agruparse en forma esférica, como sucede con las gotas de los líquidos.

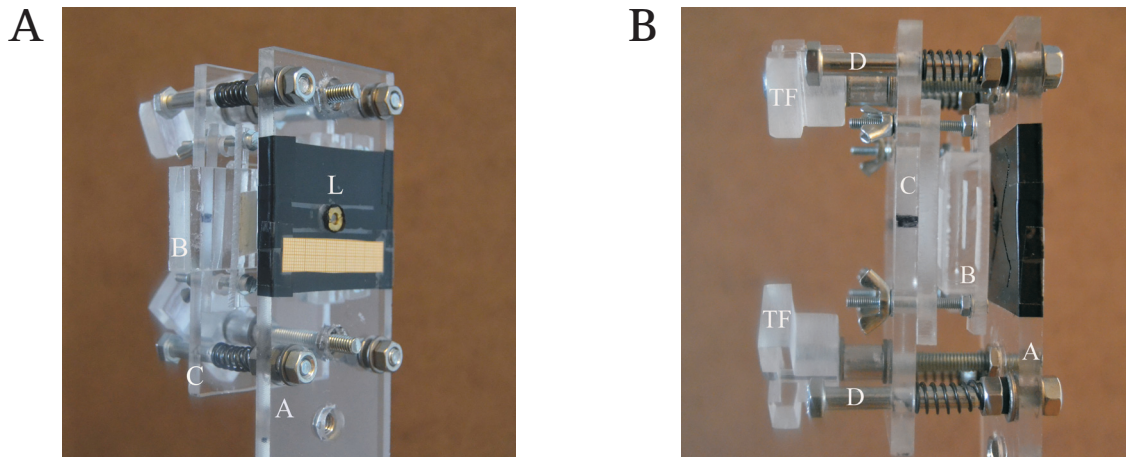


Figura 7. (A) Vista de la parte frontal del microscopio casero. (B) Vista de la parte lateral del microscopio casero.

La distancia focal de la lente y el aumento PA del microscopio

Cuando las lentes son diminutas, como es el caso de las de los punteros láser o de los de los teléfonos móviles, su distancia focal es difícil de determinar, pero puede ser medida con precisión por un método propuesto por nosotros [6]. El método es muy preciso, pero requiere tener un banco óptico con un haz bien colimado y fotómetros bien calibrados para la medida precisa de la intensidad luminosa. En el caso presente hemos utilizado otro método, menos preciso pero más apropiado para un trabajo en el laboratorio de estudiantes. Consiste en enviar sobre

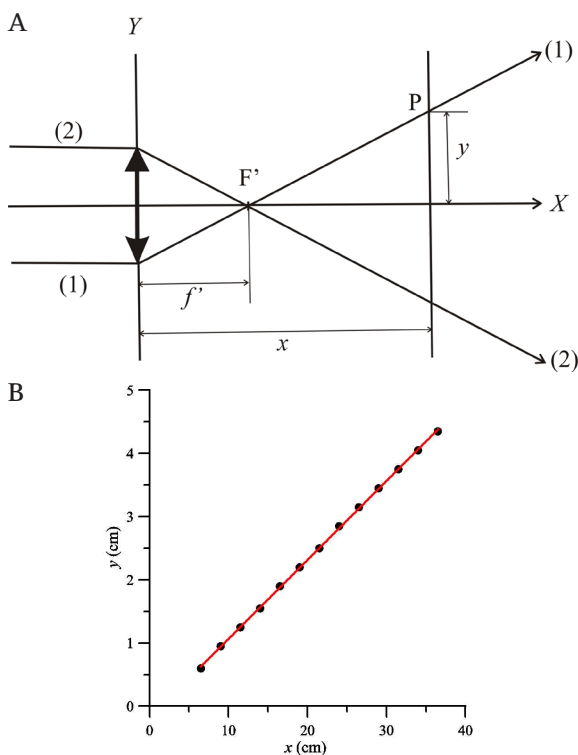


Figura 8. (A) Esquema del experimento para la determinación de la distancia focal de la lente. (B) Variación de y frente a x .

la lente un haz colimado y medir el diámetro de la sección normal al eje óptico del rayo que diverge cuando la luz atraviesa la lente (ver Figura 8A). Con el origen de coordenadas en el centro óptico de la lente, se coloca una pantalla en la coordenada x y se mide dicho diámetro. La mitad del mismo es la coordenada y del punto P del rayo (1) que pasa por el foco F' .

En la Figura 8B se puede ver que la relación entre x y y es lineal y el ajuste por mínimos cuadrados proporciona la siguiente ecuación, expresada en cm:

$$y = -0,182 + 0,125x$$

Cuando el valor de y se anula, la coordenada x correspondiente coincide con la distancia focal f' de la lente. Por lo tanto:

$$-0,182 + 0,125 f' = 0 \Rightarrow f' \cong 1,46 \text{ cm}$$

Por consiguiente, el aumento PA de nuestro microscopio es, según la fórmula (3): $PA = 18\times$. Es un aumento modesto comparado con el que obtenía Leeuwenhoek, ya que la distancia focal de nuestra lente es entre diez y quince veces mayor que la de las lentes que él fabricaba.

En las Figuras 9A y 9B se muestran las imágenes de una pata de mosca observadas en un microscopio compuesto de $64\times$ y en nuestro microscopio simple. Las fotografías han sido tomadas con un teléfono móvil colocado sobre el ocular en ambos casos. Como puede verse, en nuestro microscopio la imagen sólo está bien enfocada en la parte central, pero se pueden comparar sus dimensiones con las que se observan en el microscopio compuesto y deducir de ello el aumento PA del nuestro.

Para realizar esta comparación se puede analizar la imagen con un programa de ordenador y medir los píxeles correspondientes a alguna parte de la figura en ambos casos. Nosotros hemos medido las anchuras H máxi-

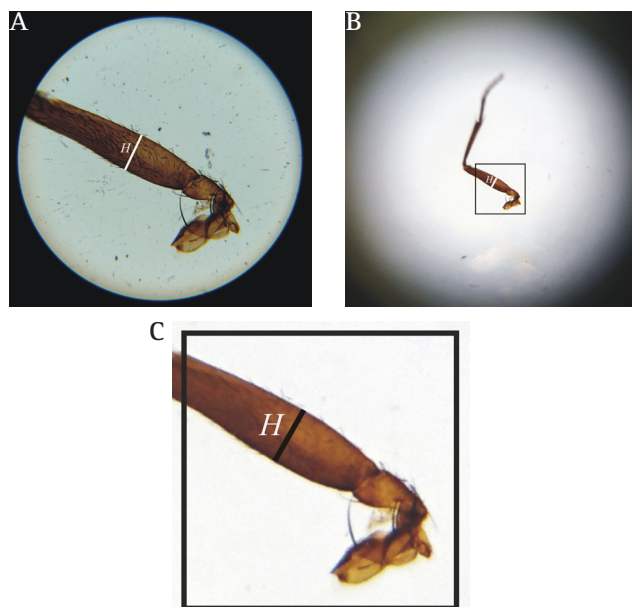


Figura 9. (A) Pata de mosca observada en un microscopio compuesto de 64x aumentos. (B) Pata de mosca observada en nuestro un microscopio de 18x aumentos. (C) Rectángulo de la Figura 9b ampliado 5 veces con el ordenador.

mas en la parte central de la pata en número de píxeles y el resultado viene indicado en la Tabla I.

La relación $\rho = 0,244$ entre la anchura medida con el microscopio simple (Figura 9B) y la medida con el microscopio compuesto (Figura 9A) nos permite calcular por esta vía el aumento PA del microscopio simple construido por nosotros, que resulta ser:

$$PA = 0,244 \cdot 64x \cong 16x$$

A comparar con el obtenido con la fórmula (3), que es de 18x. Esta discrepancia del 15% es, sin duda, debida a la determinación de la distancia focal de nuestro pequeño microscopio.

En la Figura 9C se muestra un detalle de la imagen de la pata de mosca obtenida con el microscopio simple ampliado 5 veces con un programa de ordenador. Se puede comprobar que, aunque la imagen ampliada no es tan nítida como la del microscopio compuesto de la Figura 9A, todavía se pueden apreciar los detalles. La combinación del microscopio simple y la cámara fotográfica puede utilizarse para hacer que el aumento PA del aparato sea mayor y que se puedan medir mejor las dimensiones de los objetos observados.

Tabla I. Comparación entre las medidas de anchura H de la pata de una mosca en los dos microscopios.

Tipo de Microscopio	H (píxeles)
Compuesto (64x)	250
Simple (18x)	61

Poder de resolución del microscopio y calibración para la medida de distancias

La distancia mínima que puede apreciar el ojo humano está limitada por la difracción y se puede evaluar aplicando el criterio de Rayleigh [2]:

$$\Delta x = 1,22 \frac{\lambda f'}{D}$$

donde Δx es la mínima distancia que el ojo puede ver con nitidez, λ la longitud de onda de la radiación, f' la distancia focal del ojo y D el diámetro de la pupila. Admitiendo que $D = 2$ mm en condiciones de buena iluminación, que $f' = 24,3$ mm y tomando $\lambda = 0,55$ μm , el tamaño mínimo que puede resolver el ojo es de 8,2 μm , es decir, del orden de magnitud de las dimensiones de los conos y los bastones (píxeles del ojo). Si aplicamos el mismo razonamiento al caso de nuestro pequeño microscopio, teniendo en cuenta que aquí $D = 4$ mm y $f' = 14,56$ mm, obtenemos⁴: $\Delta x = 2,4$ μm . Es decir, la resolución del microscopio es mejor que la del ojo y puede ser utilizado para observar objetos pequeños.

Para medir las dimensiones de éstos se puede calibrar el microscopio casero observando con él una pequeña parte de papel milimetrado y fotografiándolo con el teléfono móvil. Con el programa de ordenador se determinan los píxeles que corresponden a 1 mm y así se tiene calibrado el microscopio. Con el objetivo del teléfono móvil pegado a la lente, es decir $L = 0$ en la fórmula (3), hemos obtenido el siguiente calibrado: 1 mm = 129,8 píxeles con un 1% de incertidumbre.

Tomando siempre la fotografía con la misma posición del teléfono móvil sobre el microscopio se pueden medir las dimensiones de los objetos en píxeles y, mediante el calibrado, hacer la transformación de píxeles a mm. Por ejemplo: la anchura de la pata de mosca observada en la Figura 9C es de 470 μm y la del pelillo más grueso de la parte inferior de 50 μm .

En las Figuras 10A y 10B se muestran dos fotografías tomadas con el teléfono móvil aplicado a nuestro microscopio casero.

En la Figura 10A se pueden ver bien los folículos pilosos de piel humana. Con el programa de tratamiento de imágenes se puede ampliar la fotografía y es lo que

⁴ Si consideramos que solo la parte central de la lente de nuestro microscopio enfoca suficientemente bien, es decir, si consideramos que D es del orden de 2 mm, el resultado es un poco peor.

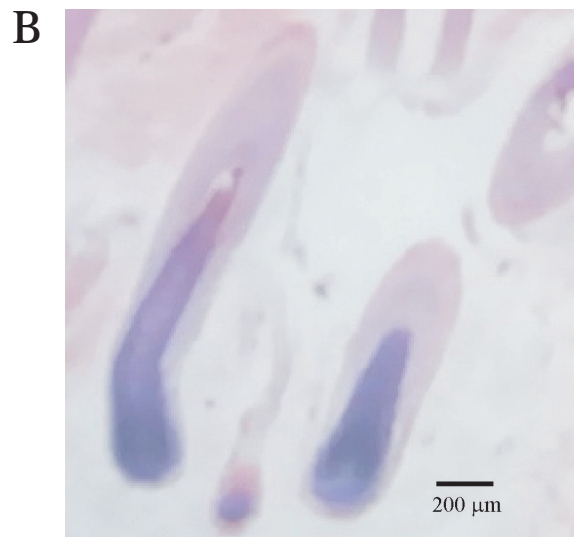
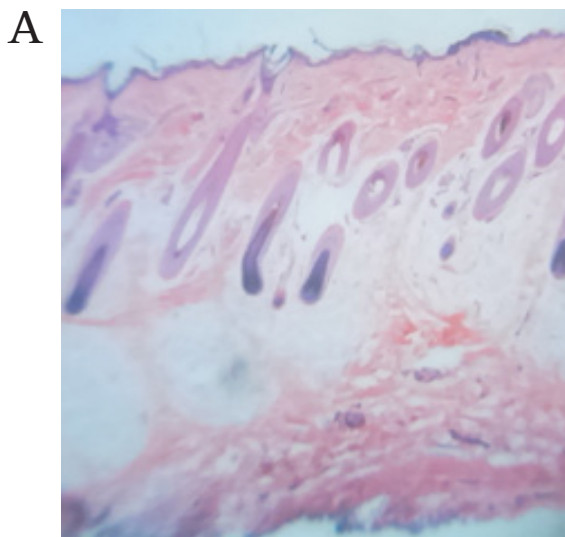


Figura 10. (A) Piel humana: folículo piloso. (B) Aumentada cuatro veces.

se muestra en la Figura 10B, en la que se puede medir el tamaño del bulbo piloso con buena precisión. En la parte más ancha alcanza los 250 μm , que es una anchura adecuada para albergar las raíces de los cabellos y sus nutrientes, ya que el diámetro de un pelo es de unos 100 μm .

CONCLUSIONES

La construcción de un microscopio simple casero nos parece de gran valor pedagógico por las dos razones siguientes. En primer lugar, en el estudio de este microscopio se pueden aplicar de manera sencilla y atractiva las leyes de la Óptica Geométrica y comprender cómo funciona el ojo como instrumento formador de imágenes. En segundo lugar, porque al hacer el estudio se pone de manifiesto que un científico debe ir más allá de lo que sus sentidos le permiten ver. Es lo que hizo Anton van Leeuwenhoek en 1674 construyendo un microscopio simple unas diez veces más potente que el que describimos en este artículo, iniciando así la microbiología. Lo primero que analizó fue una gotita de cieno verde de la superficie de un lago, lo que le hizo exclamar: *Vi tantos y tan pequeños animalitos, cuyo movimiento era tan rápido, tan variado, hacia arriba, hacia abajo, alrededor, que verlo era maravilloso* [3]. Nos parece que Anton van Leeuwenhoek llevó la luz a la Biología lo mismo que Galileo Galilei la llevó a la Astronomía. Es bueno recordarlo y mostrarle nuestro agradecimiento en este Año

Internacional de la Luz y de las Tecnologías Asociadas a la Luz.

REFERENCIAS

- [1] Anton van Leeuwenhoek. Wikipedia, la enciclopedia libre (consultada en marzo de 2016).
- [2] Hecht, E: *Óptica* (3ª edición). Ed. Addison Wesley Iberoamericana, Madrid (2000).
- [3] Ford, B.J.: *El nacimiento del microscopio*, Contactos, Revista de Educación en Ciencias e Ingeniería, 45, 29-38, México (2002).
- [4] Stong, C.L.: *The Amateur Scientist*, Scientific American, Ed. Simon & Schuster, p. 463- 476. Nueva York (1960).
- [5] Cyrulies, E. y Schamne, M.: *Construcción de un microscopio simple con la lente de un teléfono celular*, Eureka, 11(2), 263-268 (abril de 2014).
- [6] Calzadilla, O., Álvarez, M.L., Yuste, M. y Carreras, C.: *Focal length measurements in single lenses*. Proceedings of the 5th Latin-American Meeting on Optics, Lasers and their Applications, OPTILAS'95 (editores A. Augier, O. Calzadilla, A. Oliva y L. Ponce), Segunda Parte, 234-237 (La Habana-Cuba, 1996).

Manuel Yuste Llandres
Carmen Carreras Béjar
Dpto. de Física de los Materiales