

## Microscopía

Luis Felipe Jiménez\*

Los microscopios son instrumentos que modulan energía y permiten extender la capacidad de observación de los seres humanos. El desarrollo del conocimiento de la estructura y función de la célula sin duda se debe, en buena medida, al desarrollo de los microscopios.

Se puede reconocer tres tipos principales de microscopios: 1) los microscopios ópticos, fotónicos o de luz, desarrollados principalmente en el siglo XVII, 2) los microscopios electrónicos que se desarrollaron en la década de los años treinta y 3) los microscopios de barrido por sonda, inventados en los ochenta. Los microscopios ópticos abarcan a los de campo claro, de contraste de fases, de campo oscuro, de contraste diferencial de interferencias (DIC) según Nomarsky, de polarización, de epifluorescencia y el confocal de barrido por rayo láser. Los microscopios electrónicos pueden ser de barrido (incluyendo los de bajo vacío o presión ambiental) o de transmisión (incluyendo los de pérdida de energía de electrones). Los microscopios de barrido por sonda (*scanning probe microscopes*) tienen dos variantes generales: 1) microscopios de tunelamiento (STM) y microscopios de fuerza atómica (AFM).

En la microscopía de luz y en la microscopía electrónica, se utilizan luz y lentes de vidrio o un haz de electrones y lentes electromagnéticas, respectivamente, para formar imágenes, de acuerdo con los principios de la óptica geométrica y de la óptica electrónica y de acuerdo con la ecuación de resolución de Abbe:

$$r=0.61 \quad \lambda/\text{sen}\alpha(n)$$

En donde  $r$  es el valor de la resolución o la distancia mínima que tienen que estar separados dos objetos para ser observados como entidades separadas,  $\lambda$  es la longitud de onda de la radiación que se utiliza como fuente de iluminación y  $\text{sen}\alpha(n)$  es la apertura numérica. Lo anterior significa que un microscopio es más

potencioso si utiliza como fuente de iluminación longitudes de onda pequeñas o si el diámetro de las lentes es más grande.

En la microscopía de luz, las  $\lambda$  que se utilizan están comprendidas en la fracción del espectro electromagnético de la luz visible (de aproximadamente 400 a 700 nm). La resolución en microscopía de luz puede alcanzar valores de alrededor de 0.2  $\mu\text{m}$ , en comparación con la resolución del ojo humano que se estima en 0.2 mm.

En la microscopía electrónica, debido a que la longitud de onda de la radiación que se utiliza como fuente de iluminación de objeto puede variar de acuerdo con la ecuación de De Broglie:

$$\lambda = h/mv$$

En donde  $h$  es la constante de Planck,  $m$  la masa de la partícula en cuestión y  $v$  la velocidad con la que se mueve. Las longitudes de onda utilizadas son muy pequeñas y al ser usadas en la ecuación de Abbe, se alcanzan valores de  $r$  muy bajos, es decir, la resolución se incrementa notablemente, hasta obtenerse valores del orden de las milimicras o nanómetros. En resumen, la longitud de onda se puede hacer más pequeña si la partícula utilizada alcanza velocidades muy grandes, cercanas a la velocidad de la luz

En la microscopía de barrido por sonda no se usan lentes y no hay una fuente de iluminación. A pesar de ello, esta familia de instrumentos permite estudiar las características de la superficie de los materiales con resolución de micrómetros ( $\mu\text{m}$ ), nanómetros (nm) e incluso ångströms ( $\text{\AA}$ ).

La microscopía de tunelamiento fue inventada por Gerd Binnig y Heinrich Rohrer en 1981 y la microscopía de fuerza atómica por Binnig, Quate y Gerber en 1986 (Binnig y col., 1986). Los microscopios de barrido por sonda constan de: 1) una punta muy fina de un material a base de sílice, 2) un sistema de posicionamiento de la punta, 3) un sensor de la posición de la punta, 4) un sistema a base de material piezoeléctrico para el barrido de la punta sobre la muestra, 5) un sistema de cómputo que maneja el sistema de barrido y convierte datos en imagen.

Para obtener imágenes con el microscopio de tunelamiento, es necesario que la muestra esté dotada de —o se le añada— la capacidad de ser material

conductor, pues el fenómeno del efecto túnel se produce en esas condiciones entre la punta del microscopio y la muestra a observar.

Esta representa un aspecto que limita la observación cuando se requiere observar material biológico, pues este no tiene esa capacidad. Pocos años después de la invención del microscopio de tunelamiento, se inventó el microscopio de fuerza atómica, que resolvía ese problema pues tenía la capacidad de detectar la fuerza entre la muestra y la punta del instrumento, generando imágenes de la superficie.

Con el desarrollo de la microscopía de fuerza atómica, se abrió la posibilidad de generar imágenes con la resolución de la microscopía electrónica, pero con la ventaja de tener la posibilidad de trabajar en condiciones de presión atmosférica y más aún, en muestras en líquidos, lo que permite entonces estudiar eventos en solución fisiológica. Las primeras aplicaciones de la microscopía de fuerza atómica en el estudio de los seres vivos se produjo con el análisis de la estructura de moléculas aisladas tales como las proteínas y los ácidos nucleicos. Se tomó como referencias algunas moléculas bien conocidas como el DNA y la colágena.

#### **Nota**

\*Al momento de esta publicación: Luis Felipe Jiménez es Profesor del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Texto publicado en *Luna Córnea 21/22. Del ångström al infinito*  
México, Centro de la Imagen/Conaculta, 2001.