

El microscopio de campo oscuro

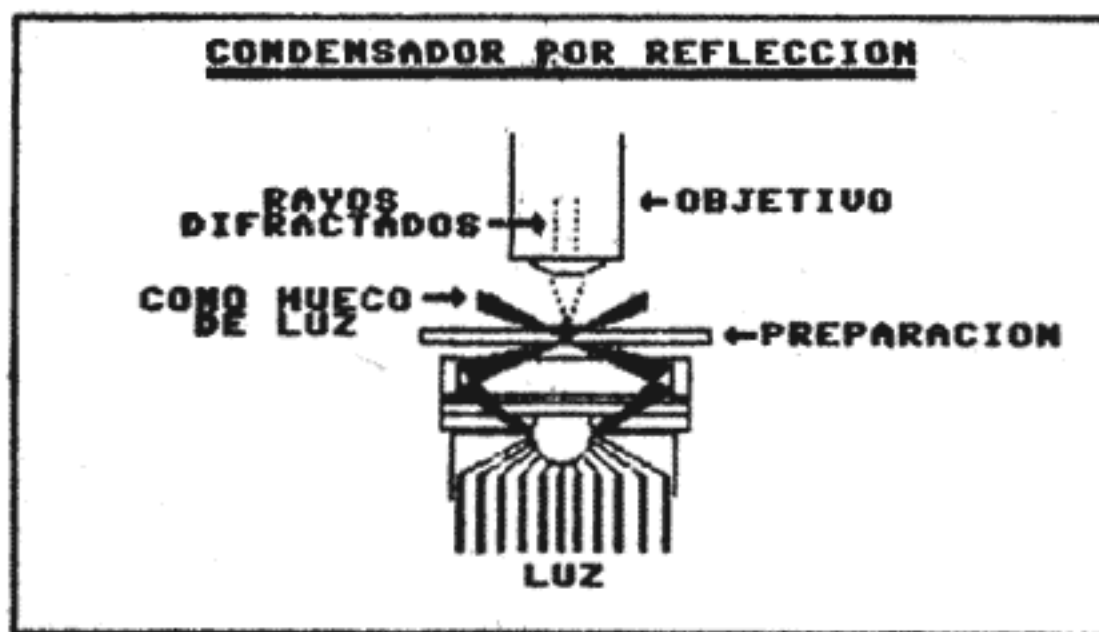
ALEJANDRO MARTINEZ M.*

El microscopio de campo oscuro es una modificación al sistema de campo claro, que consiste en bloquear los rayos centrales que alcanzan al condensador, por medio de un disco o algún otro tipo de dispositivo, de manera tal que el cono iluminador es un cono hueco de luz, con mayor apertura numérica que la del objetivo. Esta forma de iluminación permite que sólo aquellos rayos que han sido desviados por la muestra observada, sean captados por el objetivo. Es decir, la imagen microscópica está formada en este caso sólo por rayos difractados y constituye un sistema cuyo funcionamiento se basa en el fenómeno de Tyndall.

La técnica de campo oscuro es muy útil para observar materiales en suspensión, permitiendo detectar con gran facilidad partículas sólidas con índices de refracción muy cercanos al del medio en que se encuentran, por esta razón, es un sistema de gran utilidad para realizar conteos de número de partículas en una muestra. De igual forma, resulta una herramienta útil para visualizar estructuras muy delgadas que rebasan los límites conspicuos de la célula u organismo observado.

La desventaja principal de esta técnica

* Laboratorio de Microcine, Facultad de Ciencias, UNAM



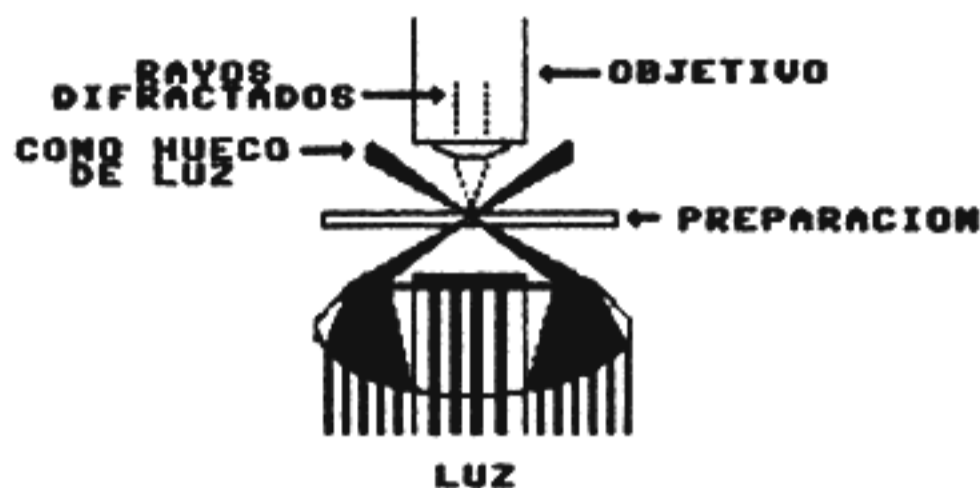
Esquemas de los tipos de condensadores para microscopía de campo oscuro por transmisión.

es que presenta imágenes con poca resolución, esto debido a la técnica misma, ya que al formarse imágenes microscópicas que solamente están constituidas de rayos difractados, hacen evidente la falta de los rayos directos para presentar completa la información estructural de la muestra, si la comparamos con el microscopio de campo claro.

Existen varias posibilidades para lograr la iluminación de campo oscuro, que dependen del tipo de condensador y hay dos tipos: condensadores por refracción y condensadores por reflexión. En ge-

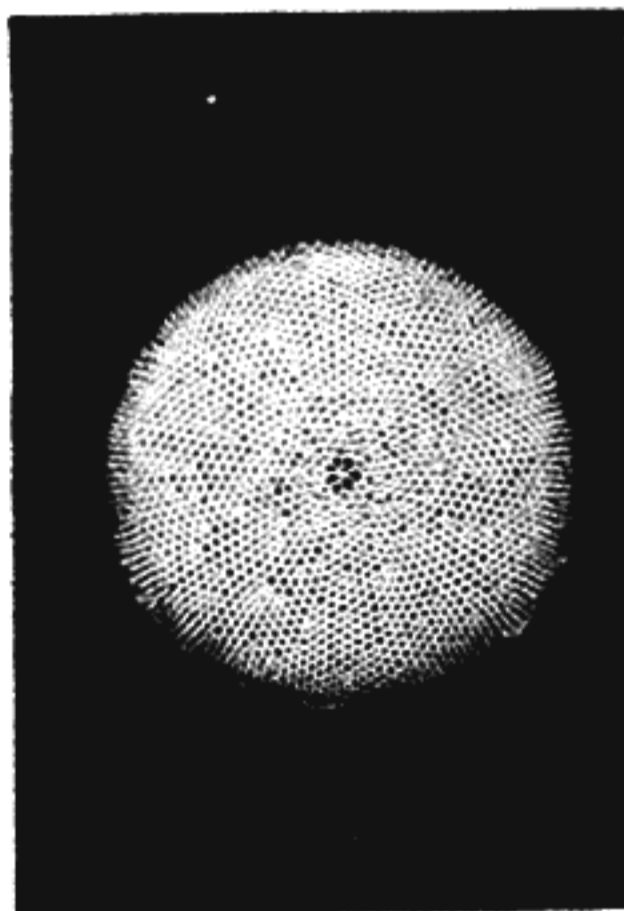
neral los condensadores por refracción tienen un disco central que obstruye el paso de la luz, formando así un cono hueco de luz. El disco se puede colocar sobre la lente frontal del condensador o en el plano focal posterior del mismo, es decir, a la altura del diafragma de apertura, o bien en el portafiltros; pueden ser usados con una amplia variedad de aumentos del objetivo (2.5X a 100X). Y su ventaja principal estriba en ser relativamente económicos y ser dentro de su campo muy versátiles en el uso para objetivos de poco aumento, hasta 40X. Asimismo, este tipo de condensado-

CONDENSADOR POR REFRACCION



res pueden improvisarse añadiendo simplemente un disco de cartón negro sobre la lente frontal del condensador (el diámetro del disco deber ser ligeramente menor que el de la lente frontal del objetivo). Es importante anotar el hecho de que para usar objetivos 100X en campo oscuro, estos han de tener incorporado un diafragma variable tipo iris que permita reducir la apertura numérica del objetivo, generalmente se reduce de 1.3 o 1.0 a 0.8, con el fin de mantener mayor apertura numérica del cono iluminador respecto de la del objetivo.

La desventaja principal de los condensadores para campo oscuro por refracción está en que la densidad luminosa que proporcionan es muy baja, si se considera que su porcentaje aproximado es el 20% del total de la luz que alcanza al condensador, una segunda desventaja es que en general estos condensadores se encuentran en el mercado con aperturas numéricas de hasta 0.9.



Diatomea del género *Coscinodiscus* vista a través de un microscopio de campo oscuro, equipado con un condensador por refracción. En la imagen se observan con claridad los detalles estructurales que se hacen evidentes por el incremento de contraste negativo (con respecto al microscopio de campo claro)

Una variante de estos condensadores para campo oscuro por reflexiones, la presentan los condensadores tóricos o toroides. Estos condensadores tienen una lente tórica añadida a un condensador cardioides. Dicha lente concentra el 100% de la luz que llega al condensador y la envía al espejo cardioides de forma tal que el objeto sea iluminado con el 100% de la luz que llega del condensador. Se puede decir que este tipo de condensador es el mejor, cuando las condiciones de trabajo involucran aumentos superiores a 40X en los objetivos.

La técnica de campo oscuro puede combinarse con otras como la microscopía de fluorescencia y la polarización, sumándose entonces las ventajas de estas técnicas a las del campo oscuro. Muchos autores recomiendan esta combinación de técnicas para los trabajos cotidianos en microscopía de fluorescencia.

CONDENSADOR TOROIDAL

