

## CAPÍTULO III

CONTINUACIÓN DE LA PARTE ÓPTICA DEL MICROSCOPIO  
COMPUESTO

## Propiedades de los objetivos. — Oculares.

**Poder definidor del objetivo.** — Es la cualidad que tienen los objetivos bien corregidos de las aberraciones cromática y de esfericidad, de traducir con limpieza y corrección el contorno de los objetos microscópicos.

Como es sabido, la aberración de esfericidad se explica por los físicos considerando que toda lente está formada de una serie de prismas cuyas facetas poseen una inclinación tanto mayor cuanto más próximos se hallan á la periferia (1). Los rayos incidentes que atraviesen las regiones centrales de la lente (correspondientes á un prisma de caras poco inclinadas) se desviarán mucho menos que los que crucen las regiones periféricas, formándose, en consecuencia, y en distintos puntos del eje principal, una serie de focos del mismo objeto.

La aberración de esfericidad se corrige en los objetivos de dos modos: mediante diafragmas que eliminan los rayos marginales, ó combinando las lentes de tal suerte que la aberración de esfericidad de las unas se oponga á la de las otras.

La *aberración cromática* de las lentes es consecuencia de la propiedad que tienen los prismas de descomponer la luz blanca en sus siete colores elementales (la lente es un conjunto de prismas). La desigual refrangibilidad de los rayos del espectro (los violados se inclinan más y constituyen foco delante de los amarillos y rojos) da lugar á que las imágenes reales producidas por

(1) Véase la teoría del prisma en los *Tratados de óptica*.

las lentes aparezcan faltas de limpieza y con los contornos irisados.

La aberración cromática ó de refrangibilidad, se corrige como ya expusimos, reuniendo una lente convergente de *crown-glas* (silicato de potasa y cal) con otra divergente de *flint glas* (silicato de plomo y potasa). El *crown* y el *flint* tienen un índice de refracción semejante, pero un poder dispersivo diferente. Se concibe, pues, que si emparejamos una lente convergente del cristal poco dispersivo (*crown*) con otra divergente (pero menos divergente que la otra convergente) del cristal muy dispersivo (*flint*), la luz descompuesta, al pasar por la primera lente, se recompondrá en la segunda, sin que desaparezca del todo la convergencia.

Todo objetivo está corregido, por lo menos, para dos rayos del espectro (rojo y azul); en los apocromáticos, la coincidencia focal se extiende á tres colores.

**Poder penetrante.** — El poder de penetración ó profundidad focal es la propiedad que ciertos objetivos poseen de presentar perfectamente detallados, y en una misma posición del enfoque, varios planos del espesor de una preparación.

La fuerza de penetración de un objetivo está en razón inversa de la abertura numérica, como ha demostrado Abbe, quien ha establecido la fórmula  $\frac{1}{a}$ , es decir, que la unidad de penetración se divide por la abertura numérica ( $a$ ). Así, cuando menos aumente y resuelva un objetivo, mayor será su profundidad focal.

**Angulo de abertura.** — Es uno de los factores más importantes de la construcción del objetivo, porque, como veremos luego, con la amplitud de este ángulo se relaciona el poder de resolución.

El ángulo de abertura de un objetivo es el formado por los rayos extremos de un objeto que concurren á proyectar la imagen. Es preciso distinguir dos aberturas: la *geométrica* y la *numérica*.

La *geométrica* corresponde á la definición indicada, y puede fácilmente medirse por varios procedimientos, entre otros, por el siguiente, debido á Amici: Se comienza por quitar del microscopio el espejo, el concentrador y el ocular; se baja luego el ob-

jetivo hasta insinuar su lente frontal en el agujero de la platina ; en seguida se colocan en la mesa, á los lados del pié del microscopio, dos papeles ó dos objetos brillantes que se irán separando hasta que sus imágenes comiencen á desaparecer dentro del objetivo. Ahora no hay sino tomar en un papel la distancia de separación de los objetos y la altura del objetivo, y trazar un ángulo que reúna dichas tres partes ; este ángulo será la abertura geométrica. Poséelo de modo exclusivo los objetivos á seco, y rara vez pasa de 80°.

La determinación del ángulo de abertura puede hacerse también por otros medios, tales como la tabla de Stephenson y el apertómetro de Abbe.

La *abertura numérica* es un concepto introducido recientemente en la óptica por Abbe ; puede expresarse diciendo que es la capacidad que tiene un objetivo de utilizar, para la formación de la imagen, un número más ó menos considerable de los rayos luminosos que recibe.

Se recordará que, al tratar de los objetivos de inmersión, hemos dicho que en éstos entraban dos especies de rayos luminosos : los que serían recibidos del objetivo, aunque éste trabajase en seco, dada la amplitud de su ángulo de abertura, y aquellos más oblicuos que ingresan en la lente frontal merced á la influencia del líquido de inmersión. Estos dos factores luminosos entran en la abertura numérica en la relación que marca la fórmula siguiente, establecida por Abbe :  $a = n \sin u$ , es decir, la abertura numérica ( $a$ ) es igual al índice de refracción del líquido de inmersión ( $n$ ), multiplicado por la mitad del seno del ángulo de abertura ( $\sin u$ ).

En general, y para un sistema cualquiera, la abertura geométrica estará en razón inversa de la distancia focal ; así, de dos lentes de igual superficie, pero de las que una tenga la distancia focal de 4 y la otra de 2 milímetros, esta última será la de mayor abertura geométrica.

La abertura numérica crece, á igualdad de ángulo, con el índice de refracción del líquido ; así, de dos objetivos de foco idéntico, el que funcione por inmersión en el aceite de cedro poseerá mayor abertura numérica que el que opere en el agua.

**Poder de resolver.**— Es la cualidad de que gozan los objetivos de hacer ver finas rayas, contrastes ligeros de índice de refracción y detalles delicados de estructura de los objetos microscópicos.

No es lo mismo *aumentar* que *resolver*. El aumento se relaciona con la brevedad focal del objetivo, y se determina por la fórmula más atrás citada ; pero la resolución, si bien exige como una de sus condiciones la cortedad de la distancia focal, depende muy principalmente de la cuantía de la abertura numérica. Se concibe bien, por tanto, que los esfuerzos de los ópticos tiendan á producir objetivos en los cuales, aprovechando, ya cristales de alto índice, ya el gran poder refringente de ciertos líquidos de inmersión, la abertura numérica alcance todo el posible desarrollo. Ya dijimos más atrás que en esta vía el último paso habíalo dado Zeiss con la construcción de su objetivo de abertura numérica 1,63, á inmersión en el monobromuro de naptalina. La aplicación de un líquido de inmersión de índice más poderoso, tal como el ioduro de metilo (1,743) ó los medios arsenicales, podría acrecer todavía la abertura numérica y, en consecuencia, el poder resolutivo del microscopio.

El poder resolvente de un objetivo aumenta en la luz monocromática, y particularmente en la representada por las ondulaciones más breves del espectro (azul, violado, ultravioletado).

Abbe ha hallado la fórmula siguiente :

$$\delta = \frac{\lambda}{2a}, \text{ en la cual } \delta \text{ expresa el detalle mínimo á resolver ó}$$

la menor distancia visible entre dos rayas,  $\lambda$ , la longitud de onda, y  $2a$  el doble de la abertura numérica (1).

Así, para los rayos violados cuya longitud de onda es de 0,4861  $\mu$ ,  $\delta$  será igual á  $\frac{0,4861 \mu}{2a}$ , mientras que para los rayos verdes (raya E),  $\delta$  será igual á  $\frac{0,5269 \mu}{2a}$ .

Se ve, pues, que  $\delta$ , ó el más pequeño detalle perceptible, será más diminuto iluminando la preparación con la luz azul ó vio-

(1) Esto se entiende para la iluminación oblicua ; en la iluminación central la fórmula es :  $\delta = \frac{\lambda}{a}$ .

lada, que con la amarilla ó amarillo-verdosa (luz que domina en la blanca).

A favor de la fórmula citada, podemos averiguar el número de espacios ó de fracciones correspondientes al milímetro que cabría resolver con un objetivo de abertura numérica conocida y con una luz de longitud de onda determinada. Supongamos que utilizamos la luz química (longitud de onda  $0,4000 \mu$ ), y el objetivo, 1,40 abertura numérica, y que en lugar de  $\delta$ , con arreglo á lo indicado, ponemos el milímetro en fracciones de diezmilésimas. Tendremos 10.000 diezmil, divididas por  $\frac{0,4000 \mu}{2,80}$ , lo que nos dará el número de rayas que dicho objetivo resolvería en la extensión del milímetro.

La fórmula de Abbe marca la dirección de los posibles progresos en la capacidad resolvente del microscopio. Si  $\delta$ , ó el detalle á resolver es igual á  $\frac{\lambda}{2\alpha}$ , está claro, como ha dicho Czapski (1), que no hay sino dos caminos para disminuir la dimensión de  $\delta$ : ó aumentar el divisor  $2\alpha$  (abertura numérica), ó disminuir en lo posible el dividendo  $\lambda$ , utilizando las ondas más breves del espectro (onda violada). La abertura numérica se compone de dos factores: el ángulo de abertura y el índice de refracción del líquido ( $\alpha = n \sin u$ ); ahora bien, el ángulo de abertura ha llegado á su límite práctico en los objetivos apocromáticos poderosos, y el progreso se ha de realizar descubriendo substancias de un índice de refracción más elevado que las conocidas.

En suma, los avances en la potencia de resolución del objetivo podrán lograrse de dos modos: 1.º, usando líquidos de inmersión de índice elevado; 2.º, trabajando con luz violada. Ambas condiciones exigirán que los constructores inventen objetivos *ad hoc*, corregidos esférica y cromáticamente para las ondulaciones más breves, pero todavía visibles, del espectro.

**Oculares** (fig. 29).—El ocular es un tubo corto que consta de dos lentes y un diafragma intermedio. Estas lentes son plano convexas, con la convexidad vuelta al objetivo. La lente más próxima

(1) S. Czapski: Die voraussichtlichen Grenzen der Leistungsfähigkeit des Mikroskops. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie, etc. Bd. VIII, 1891.

al observador se llama *ocular* propiamente dicho, mientras que la inferior toma el nombre de *lente del campo*. El oficio de esta última, es concentrar la luz destinada á formar la imagen real del objetivo, para que la lente superior ejerza su acción sobre todo el campo luminoso. La lente del campo no coadyuva, pues, al aumento (antes al contrario, disminuye algo la base del cono de proyección del objetivo); actúa solamente dilatando el perímetro observable de la imagen.

El papel desempeñado por la lente del campo se demuestra examinando sin ella una preparación: nótese que la zona visible de la imagen es muy estrecha, no permitiéndonos juzgar del conjunto de ésta, sino á beneficio de movimientos de la preparación. La luminosidad misma disminuye notablemente.

La imagen real proyectada por el objetivo es recibida un poco por encima del foco de la lente superior. Se concibe fácilmente, después de lo expuesto más atrás, que cuanto más corta sea la distancia focal de la lente superior, mayor será la amplificación. Los fabricantes construyen varios números de oculares, cuyo aumento varía desde dos á doce veces ó más.

La nomenclatura de los oculares suele ser arbitraria (números ó letras), no guardando ninguna relación con el aumento. Recientemente, Zeiss ha adoptado, para designar sus oculares de compensación, la base racional del número de veces que estas lentes multiplican la imagen engendrada por el objetivo. Así, el ocular 8, aumenta ocho veces la imagen de proyección ó del objetivo.

**Oculares ortoscópicos.**—El ocular ordinario, llamado también de Huyghens, no es acromático, ni necesita serlo para las observaciones comunes; pero en los trabajos micro-fotográficos conviene á veces oculares perfectamente acromatizados, los cua-

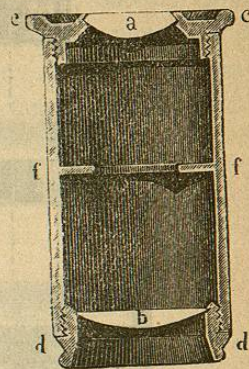


Fig. 29. — Corte vertical del ocular: a, ocular propiamente dicho; b, lente del campo; f, diafragma.

les, contruidos primeramente por Kelner, llevan el nombre de *oculares ortoscópicos*.

*Oculares micrométricos*.—Son aquellos que, además de las

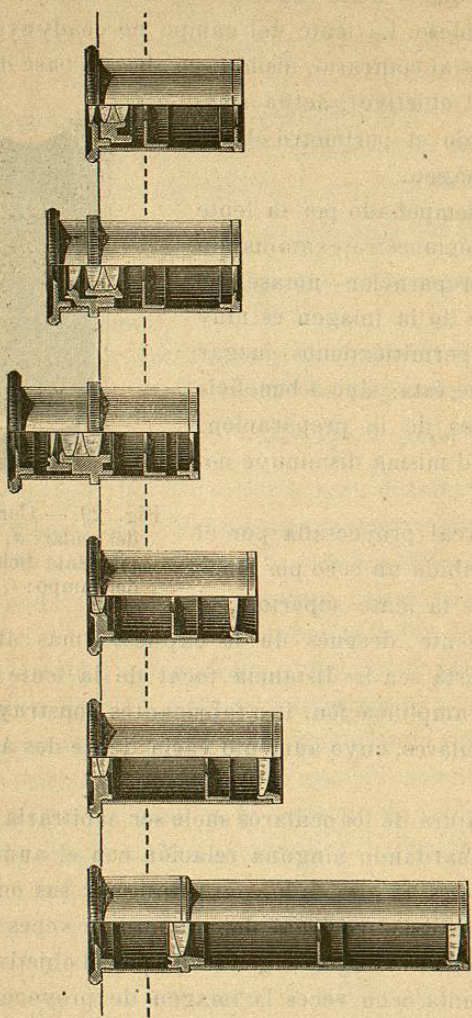


Fig. 30. — Serie de los oculares compensadores de Zeiss, correspondientes á los aumentos 2, 4, 6, 8, 12 y 18. La línea de puntos marca el plano focal de los oculares.

lentes superior é inferior, encierran un micrómetro, es decir, un disco de cristal con finas rayas. Más adelante trataremos de su uso.

*Oculares compensadores*.—Construidos según las indicaciones

de Abbe al propósito de corregir ciertos defectos de los objetivos apocromáticos, constan de dos lentes próximas: una superior, plano-convexa, y otra inferior, biconvexa. Dichos oculares, cuyos números van del 1 al 18, sólo deben emplearse con los objetivos apocromáticos de Zeiss (fig. 30).

*Oculares de proyección* (fig. 31).—Ideados asimismo por el profesor Abbe, son unos oculares compuestos de una lente del campo plano-convexa, y de un ocular ó *projector* biconvexo más pequeño y perfectamente acromático. Encima del projector yace el diafragma, que puede apartarse más ó menos de aquél.

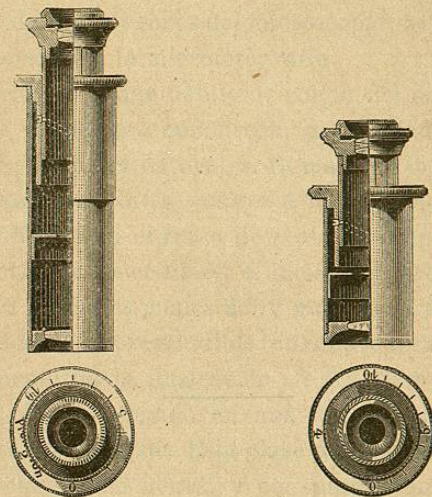


Fig. 31. — Oculares de proyección núm. 2 y núm. 4. En la parte inferior de la figura aparecen vistos por el ocular.

Estos oculares están corregidos para proyectar, á distancias de 50 á 100 centímetros, imágenes reales sumamente puras, tan ventajosas para la demostración práctica ante una clase numerosa, como para la microfotografía. Esto no ocurre con los oculares ordinarios (de Huyghens y de compensación), cuyas imágenes sólo son correctas en proyecciones á cortísimas distancias.

Zeiss tiene á la venta una serie de oculares de proyección, cada uno de los cuales lleva por nombre el número de veces que amplía la imagen del objetivo. El tamaño de la imagen proyec-

tada por el ocular (que actúa, no como los oculares ordinarios, sino como un nuevo objetivo flojo, pues da una segunda imagen real de otra real), se obtendrá fácilmente dividiendo la distancia existente entre la imagen y el ocular por la longitud focal del objetivo, y multiplicando el cociente por el número del ocular. Sea, por ejemplo, 3 milímetros la distancia focal del objetivo, 600 milímetros la de proyección de la imagen, y 4 el número del ocular, tendremos:  $A = \frac{600}{3} \times 4 = 800$ . Por lo demás, esta regla sólo es suficientemente exacta para los grandes aumentos:

## CAPÍTULO IV

### ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

#### Cámaras claras. — Microfotografía.

A tres medios puede recurrir el micrógrafo para obtener reproducciones de las imágenes del microscopio: al dibujo directo, á la cámara clara y á la microfotografía.

**Dibujo directo.** — Exige hábito de copiar del natural y gustos artísticos que no siempre concurren, desgraciadamente, en los dedicados á las ciencias naturales. El material lo forman lápices Faber de números distintos, colores á la acuarela y papel marquilla ó cartulina. Sólo el trazo de lápiz reproduce suavemente el vago contorno de las células y el incierto graneado de los protoplasmas. La pluma es menos fiel y muy dada á la dureza; no obstante, nos será imprescindible cuando queramos (lo que se hace diariamente en la ilustración de los libros histológicos), convertir un dibujo á mano en una fotozincografía destinada á la impresión con el texto. Esta clase de dibujos debe ejecutarse con tinta china bien negra, y con pluma fina, como la que emplean los litógrafos. Así y todo, conviene que la reproducción fotozincográfica encomendada al grabador, sea de menor tamaño que el dibujo, á fin de obtener mayor finura y disimular la irregularidad de las líneas.

Si se desea obtener en el dibujo original un modelado de fino grano, semejante al de las litografías, se usará un papel especial, graneado, en el cual se trabaja con lápices grasos litográficos. Los fondos de líneas paralelas ó cruzadas se lograrán fácilmente dibujando en el papel xilotipo, muy usado actualmente para los grabados de las ilustraciones. Los diseños en papel xilotipo, ó en el de grano, tienen la ventaja de poderse transformar fácilmente en bloques fotozincográficos de impresión. El micró-

UNIVERSIDAD DE NUEVO LEÓN  
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA  
"ALFONSO REYES"  
Apto. 1625 MONTERREY, MEXICO

11263