

## CAPÍTULO V

## CONTINUACIÓN DE LOS ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

Micrómetros, aparatos numeradores, aparato de polarización, microespectroscopio.

## A. — MICRÓMETROS

Dos problemas debe resolver á menudo el micrógrafo: 1.º La determinación del aumento del microscopio. 2.º La averiguación del tamaño real de un elemento microscópico.

**Determinación del poder amplificante del microscopio.**—Todos los fabricantes acompañan sus microscopios de una tabla, donde figuran los aumentos obtenidos con tal combinación de ocular y objetivo; pero como no siempre esta determinación es exacta, ni aun siéndolo, es valedera para todas las longitudes del tubo del microscopio, conviene que el micrógrafo conozca los medios de averiguar por sí el poder amplificante del microscopio. En rigor, pudiera utilizarse el método matemático (ya expuesto anteriormente al tratar de la fórmula del microscopio compuesto), pero es mucho más sencillo y breve el método experimental.

Este método exige el empleo: de un pequeño instrumento llamado *micrómetro objetivo*, de la *cámara clara*, y de una *regla dividida en milímetros*.

El micrómetro objetivo es un disco de cristal que lleva grabadas con diamante rayas cuyos intervalos, de antemano determinados por el constructor, valen una centésima de milímetro. Este disco está fijo sobre un porta-objetos metálico, en uno de cuyos lados se lee el valor de las divisiones.

He aquí cómo se procede á la determinación de la amplificación del microscopio: se comienza por enfocar, como si fuera una preparación, el micrómetro objetivo, de modo que las rayas

aparezcan netamente; luego se monta la cámara clara sobre el ocular; y, en la mesa, pero á la distancia de la visión distinta (25 ó 30 centímetros), se coloca una regla dividida en milímetros. En estas condiciones, nada más fácil que ver á un tiempo, á beneficio de la cámara clara, las rayas de la regla y las del micrómetro. Suponiendo que cada intervalo de las divisiones del micrómetro vale una centésima, la cual aumentada por el microscopio se ha hecho tan grande que ocupa tres divisiones de la regla, la amplificación será de 300 veces, puesto que una centésima ocupa la extensión de tres milímetros.

**Determinación del tamaño de un objeto microscópico.**

Para resolver este problema, es preciso aplicar, además del micrómetro objetivo, otro micrómetro que, por situarse en el ocular del microscopio, toma el nombre de *micrómetro ocular*. Este consiste en una rodaja de cristal con divisiones, cuyo valor suele ser de una décima de milímetro, aunque, en realidad, podría ser cualquiera. Colócase dicha rodaja encima del diafragma del ocular, de modo que las rayas estén enfocadas con la lente superior.

La determinación de la dimensión de un objeto abarca dos operaciones: 1.º, averiguar el valor de las rayas del micrómetro ocular por comparación con las del objetivo; 2.º, sustituido

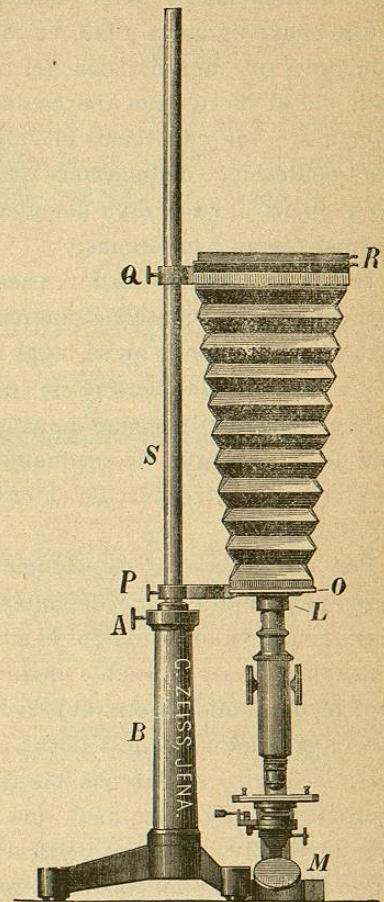


Fig. 40. — Pequeña cámara microfotográfica vertical (Zeiss).

el micrómetro objetivo por la preparación, cotejar el objeto mensurable con las divisiones del micrómetro ocular.

Para efectuar la primera operación, no hay más que examinar el micrómetro objetivo á través del ocular micrométrico; con un poco de atención, se notará en seguida cuántas rayas del micrómetro ocular igualan una ó varias del micrómetro objetivo. Supongamos que una división del micrómetro objetivo es aumentada de tal suerte, que abarca dos rayas del ocular micrométrico; puesto que conocemos el valor real de las líneas de aquél (una centésima), deduciremos que, para tal combinación de ocular y objetivo, cada raya del micrómetro ocular vale media centésima, ó sean 5 milésimas.

Hecha esta determinación, pasamos á la operación segunda, que consiste en sustituir el micrómetro objetivo por una preparación, manteniendo en su lugar el ocular micrométrico. Demos ahora por sentado que una de las células, cuya talla deseamos medir, llena dos divisiones del micrómetro ocular; valiendo cada una de éstas (según determinamos anteriormente) 5 milésimas, es claro que el corpúsculo en cuestión posee un diámetro de 10 milésimas.

Por lo expuesto, se ve claramente que el micrómetro ocular desempeña aquí el oficio de un término de comparación intermedio (cuyo valor se fija por el micrómetro objetivo), pero indispensable, por ser imposible medir directamente el objeto microscópico con el micrómetro objetivo.

No hay necesidad de valorar á cada momento las divisiones del micrómetro ocular con las del objetivo; bastará que esta operación se haya efectuado una sola vez para cada combinación de objetivo y ocular, conservando las cifras halladas y anotando la longitud del tubo. De este modo, el micrómetro ocular será sólo utilizado.

Algunos constructores de microscopios nos ahorran hasta la previa operación antes citada, puesto que entregan, con sus modelos de microscopio, una tabla donde figuran los valores que, para cada combinación de objetivo y ocular, tienen las rayas del micrómetro ocular.

Existen otros micrómetros más complicados, tales como el mi-

crómetro objetivo de tornillo de Schieck y el micrómetro ocular de tornillo; pero la descripción de estos aparatos, por otra parte innecesarios, traspasaría los límites en que deseamos encerrarnos.

### B. — APARATO NUMERADOR DE GLÓBULOS

El más sencillo de los instrumentos utilizados para contar el número de corpúsculos suspendidos en un líquido, es el llamado *hematímetro de Hayem*, adoptado también por Thoma en Alemania (fig. 41).

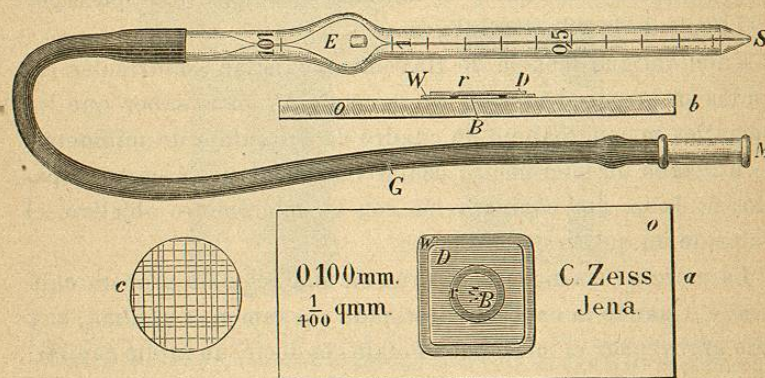


Fig. 41. — Aparato numerador de los glóbulos, según Thoma. — O, portaobjetos con la célula calibrada (B); S, mezclador de la sangre; E, cavidad ampliada del mezclador; W, célula vista en sección; C, cuadrícula de la célula vista al microscopio.

Se trata de un porta-objetos de cristal (O), una de cuyas caras ofrece una excavación de un quinto de milímetro de profundidad. Esta cavidad se cubre con una laminilla plana, con lo que queda circunscrito un espacio ó célula de un quinto de milímetro de espesor (D). En la pared inferior de la célula se han trazado cuadritos, cuyos lados miden igualmente un quinto de milímetro.

Para utilizar el hematímetro, se comienza por diluir la sangre al 1 por 100 con un suero artificial ó solución salina inofensiva;

se llena la célula con la mezcla sanguínea y, cubierta por la laminilla, se lleva el hematímetro al microscopio.

Los hematíes, por virtud de su peso específico, no tardan en caer en el suelo de la célula, donde podrán enfocarse al mismo tiempo que las rayas de la cuadrícula (C). Midiendo, como más atrás hemos dicho, tanto el espesor de la célula como los lados de la cuadrícula un quinto de milímetro, está claro que los hematíes contados en el área de un cuadrado, corresponden, en realidad, á la capacidad de un cubo que posea facetas de un quinto de milímetro. Ahora, para saber el número de corpúsculos que se contienen en un milímetro cúbico de sangre, es preciso multiplicar los hematíes contados por 125 (relación entre el cubo de un quinto de milímetro de lado y el milímetro cúbico), y después por 100 título de la dilución sanguínea.

En el antiguo modelo de Hayem no existían cuadrículas rayadas en la pared inferior de la célula; y para saber que los hematíes se contaban en un cuadro de un quinto de milímetro, se utilizaba un micrómetro ocular cuadrulado, á cuyos espacios se daba, por comparación con un micrómetro objetivo, el valor de un quinto de milímetro.

La mezcla de sangre se efectúa en una pequeña probeta calibrada. Cuando la cantidad destinada al examen es mínima, hay que aprovechar el mezclador Potain, es decir, un tubito capilar, en cuyo término existe una ampolla (S). Este capilar está de tal suerte calibrado, que la ampolla (E) posee una capacidad cien veces mayor que el tubito fino yacente por debajo. Para usarlo, se llena primeramente de sangre el trayecto capilar; luego se aspira suero artificial hasta rellenar la ampolla; se agita la mezcla resultante del líquido, y se sopla sobre la célula calibrada una gota.

### C. — APARATO DE POLARIZACIÓN

El aparato de polarización consta de dos piezas separadas: el *analizador* que se monta sobre el ocular, y el *polarizador* que se fija debajo de la platina, en el paraje donde se colocan los

diafragmas del concentrador. Tanto el *polarizador* como el *analizador*, encierran un prisma de Nicol, ó sea un paralelepípedo de espato de Islandia, seccionado según la línea que junta los ángulos obtusos, y cuyas mitades se han reunido en su posición natural con bálsamo del Canadá. Como es bien sabido, el espato de Islandia es birefringente, ó, en otros términos, goza de la propiedad de producir dos imágenes de un sólo objeto luminoso. Siempre que un rayo penetra en el espato oblicuamente con relación á la sección principal (plano que contiene el eje ó línea que une los vértices de los ángulos obtusos del cristal), prodúcese dos rayos refractados: uno llamado *ordinario*, que se des-

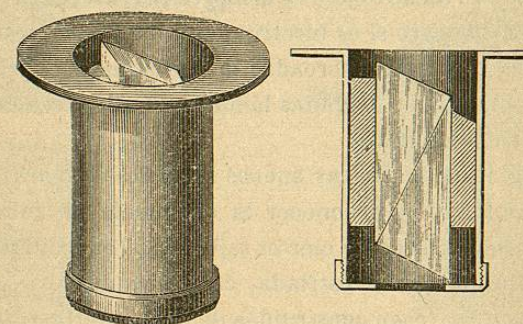


Fig. 42. — Polarizador. La figura de la derecha representa un corte vertical del aparato y muestra el prisma de nicol; la figura de la izquierda representa el nicol en su montura.

vía fuertemente; otro calificado de *extraordinario*, que se inclina mucho menos. El primero, emerge vibrando en todos sentidos; el extraordinario, sale *polarizado*, es decir, vibrando solamente en un plano paralelo á la sección principal.

El prisma de Nicol realiza una ingeniosa disposición cuyo objeto es excluir el rayo ordinario y dejar paso franco al extraordinario ó polarizado. En efecto, merced á la capa de bálsamo separatoria de las dos mitades de cristal, el rayo ordinario, que llega al medio resinoso con un ángulo mayor de  $69^\circ$  (ángulo límite entre el espato y bálsamo), sufre la reflexión total, siendo absorbido por la armadura metálica ennegrecida; mientras el extraordinario, que alcanza el bálsamo bajo una inclinación

menor que el ángulo límite, pasa á lo largo de todo el prisma de Nicol, pudiendo aisladamente aprovecharse para la iluminación del microscopio.

Colocados el analizador y el polarizador en sus sitios respectivos, y haciendo girar el primero de modo que los planos de polarización de ambos nicols sean paralelos, el observador verá el campo iluminado como de ordinario; mas si se mueve el analizador hasta que los planos de polarización se crucen en ángulo de  $90^\circ$ , el campo se torna completamente obscuro. Esta es la posición en que el aparato se utiliza para la determinación de si un objeto microscópico es monorefringente (*isótropo*) ó birefringente (*anisótropo*). Si dicho objeto es monorefringente, el campo permanece obscuro; pero si es birefringente, la luz se restablece. Ciertas partes aparecen coloreadas de vivos matices. Situando encima del polarizador delgadas láminas de mica, se acrecienta la sensibilidad del aparato.

En histología puede prestar buenos servicios el aparato de polarización, ayudando á reconocer la existencia de substancias birefringentes en el seno de ciertos tejidos. Tal sucede, por ejemplo, con la fibra muscular estriada, cuyas bandas oscuras y líneas de Krause aparecen construídas de una materia *anisótropa*.

Pero las aplicaciones más importantes del aparato de polarización se refieren al análisis de las rocas, al reconocimiento de cristales microscópicos, al de los productos orgánicos, etc. Todos los cristales del sistema cúbico son monorefringentes, y birefringentes los del sistema romboédrico.

#### D. — MICROESPECTROSCOPIO

El modelo que más se emplea es el de Sorby, modificado por Zeiss. Consta de dos partes: una inferior que no es más que un ocular entre cuyas dos lentes (del campo y ocular propiamente dicha), existe una rendija de labios aproximables á favor de un tornillo exterior; otra superior que contiene una combinación de prismas de visión derecha, destinados á descomponer la luz llegada del microscopio á través de la hendidura sosodicha (figuras 43 y 44).

Como es muy conveniente comparar entre sí dos espectros el de la preparaci6n con el de una substancia cualquiera, la mitad de la rendija citada lleva debajo un pequeño prisma de reflexión total que, al paso que interrumpe una parte del pincel luminoso emanado del microscopio, da acceso á un rayo lateral insinuado á través de una abertura parietal del instrumento. De esta manera, el ojo del observador contempla juntos dos espectros, el de la preparaci6n, más el de la luz extraña al micros-

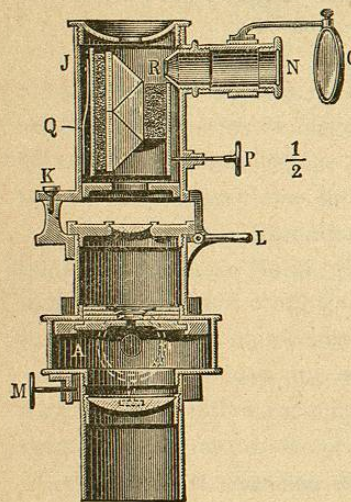


Fig. 43. — Microespectroscopio de Sorby, construído por Zeiss.

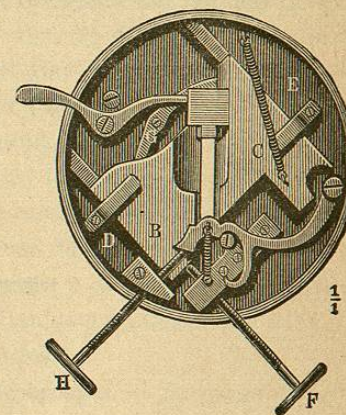


Fig. 44. — Detalles del aparato destinado á estrechar la hendidura del microespectroscopio.

copio, tamizada ó no, según convenga, por alguna substancia coloreada cuyas propiedades espectroscópicas se desean confrontar.

Cuando se quiere observar el espectro de algún elemento microscópico, se comienza por disminuir la rendija hasta tocar los contornos aparentes del objeto. El espectro se extiende perpendicularmente al segmento de la hendidura ocupada por los corpúsculos coloreados.

Zeiss añade al espectroscopio de Sorby, como puede verse en la fig. 43, N, un tubo lateral portador de una escala que, á bene-

ficio de un sistema de lentes, es proyectada sobre el espectro. Esta escala da las longitudes de onda (en fracción de micromilésima) de cada color espectral, y sirve para fijar la posición de las bandas de absorción engendradas por las sustancias ú objetos examinados.

## CAPÍTULO VI

### OBJETOS É INSTRUMENTOS NECESARIOS EN LOS TRABAJOS MICROGRÁFICOS

**Porta y cubre-objetos.—Luz.—Microtomos.—Cámaras húmedas y calientes.—Objetos de prueba.**

**Porta y cubre-objetos.**—Los *porta-objetos* son láminas de cristal de 75 milímetros de largo por unos 25 de ancho, cortadas de un cristal exento de estrías y burbujas, que sirven para el montaje de las preparaciones microscópicas.

Los *cubre-objetos* llamados también *laminillas*, son unos cristales delgadísimos, de un diámetro variable entre 15 y 30 milímetros, destinados á cubrir las preparaciones microscópicas, á fin de hacerlas planas y protegerlas de los cuerpos extraños.

Se comprende bien que el tamaño y delgadez de los porta y cubre-objetos, deben ser muy variables para adaptarse á las distintas dimensiones de los preparados.

**Luz para la iluminación del microscopio.** — La mejor es la dimanada de las nubes blancas ó de una pared clara iluminada por el sol. Serán muy provechosas también, sobre todo cuando se trabaja con fuertes aumentos, la llama blanca de una lámpara de petróleo (mecha cilíndrica y ancha) ó la brillante luz del gas que arde en el mechero Auer, el cual posee una rejilla de amianto, ó de diversos óxidos metálicos que la llama pone incandescentes.

Las lámparas fabricadas *ad hoc*, como las de Swif, Collins, Vigheley y la reciente de Koch-Wolz, son, á nuestro juicio, muy inferiores á un buen quinqué de petróleo.

**Microtomos.** — El examen microscópico de los tejidos supone, como condición indispensable, la transparencia de las preparaciones, la cual sólo puede lograrse de una de dos maneras : ó diso-