

A scanning electron micrograph (SEM) of a plant's root system, showing a dense network of root hairs. The root hairs are long, thin, and curved, extending from the surface of the root. The background is a textured, granular surface, likely soil or a growth medium. The overall image is in grayscale, with the root hairs appearing as bright, curved lines against a darker background.

¿Cómo
funciona?

De la luz a los electrones

¿Cómo llegamos a la microscopía electrónica?

Luis Ángel Guillén Cebrero
Pedro Luis Palacios Chimeo*

Universidad de Guadalajara (UDG), campus CUCEI.

*Autor para la correspondencia:
luis.guillen2912@alumnos.udg.mx

Resumen

La idea de cómo percibimos el mundo ha cautivado la curiosidad humana desde sus inicios. Las limitaciones de nuestros sentidos han llevado a la planificación de dispositivos, como el microscopio, que nos permiten explorar y dimensionar los fenómenos físicos que nos rodean. Hoy, los avances tecnológicos nos permiten visualizar la materia a nivel atómico con ayuda de microscopios electrónicos, lo que nos ha llevado a entender mejor el funcionamiento del mundo microscópico.

Palabras clave: Microscopía; luz; electrones.

1. Microscopía de luz

El estudio de la percepción visual se remonta al origen de la ciencia y filosofía. Los primeros (de los que se tiene registro) en tratar de dar explicación fueron los griegos; Platón, bajo las premisas de Pitágoras y Empedocles, supuso que la sensación de visión era el contacto entre dos rayos luminosos, uno emanado por el ojo y otro por el objeto [1]. Esta idea persistió con incredulidad colectiva hasta que el físico musulmán Ibn Al Haizam (965-1040) explicó que la visión es el resultado de la luz “reflejada” en los objetos, la cual viaja a los ojos. El avance más significativo en la comprensión de este fenómeno físico se dió con los trabajos de Johannes Kepler, Isaac Newton y John Locke principalmente, quienes se aventuraron a explicar el color, geometría y composición que hace posible “ver” los objetos [2].

Conforme el entendimiento de la visión mejoraba se hacía notorio que nuestros sentidos

eran insuficientes para apreciar a detalle este fenómeno físico, lo que impulsó el desarrollo de herramientas ópticas. Así, un joven físico inglés llamado Robert Hooke creó un “microscopio” de mano que le permitía ver con un aumento de hasta 20 veces, acuñando por primera vez el término “célula”. Una década más tarde, un comerciante holandés llamado Antonie van Leeuwenhoek, diseñaba un lente que le permitía ver con un aumento de hasta 275 veces a una resolución de 1.4 μm , descubriendo algo invisible hasta ese entonces, el mundo microscópico, abriendo así toda una nueva rama en la ciencia [2].

Cuando hablamos de lente nos referimos a un cristal con fines ópticos, y si bien su perfección se dió en los siglos XVII-XX, el más antiguo del que se tiene registro es el lente de Nimrub, un cristal de roca que data del 2500 a. de C. cuyo uso se debate entre los expertos, pero coinciden en que tuvo finalidades ópticas [2].

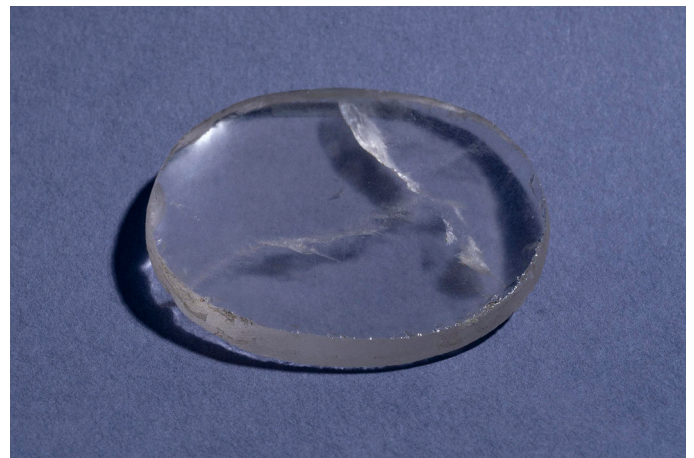


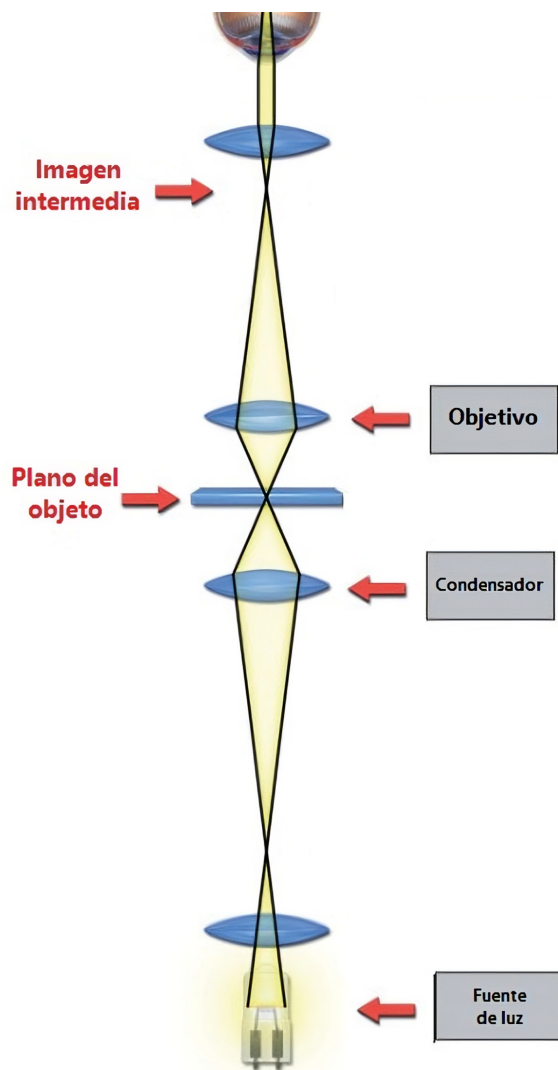
Figura 1: Lente de Nimrub. Incrustación ovalada de cristal de roca: rectificada y pulida, de una cara plana y otra ligeramente convexa [3].

1.1. Fundamentos

Cada microscopio debe tener por lo menos una fuente de luz, un sistema de iluminación, llamado condensador, que concentra los haces de luz en una pequeña área del espécimen y un sistema de lentes objetivo en el cual se recolectan los haces que se difractaron en el espécimen para aumentar la imagen que se ve de él, y claro, otro sistema óptico que se encarga de que la iluminación en el espécimen sea uniforme (Figura 2).

1.2. La microscopía de fluorescencia

La mayoría de los microscopios se basan en las propiedades de absorción y reflexión de la muestra que se está estudiando. Sin embargo, existen otros tipos de microscopios que captan la luz emitida por ciertas moléculas del material cuando son excitadas por ondas elec-



tromagnéticas de diferente longitud de onda. Este método puede venir en diferentes variantes, las cuales tienden a tener una resolución máxima de alrededor de 100 nm, mientras que otras utilizan técnicas de superresolución, como FPALM (Flourescence photoactivated localization microscopy), que les permiten aumentar su resolución a 10 nm, pudiendo así ver la localización de moléculas tan pequeñas como la proteína verde fluorescente cuyas dimensiones rondan los 5 nm [4].

2. Microscopía electrónica

Una alternativa a la microscopía de luz con mucho impacto en la ciencia actual es la microscopía electrónica, cuyos orígenes datan en 1926 cuando el físico alemán Ernst Ruska presentó su tesis doctoral en donde detallaba el funcionamiento y diseño de un microscopio electrónico, basándose en el trabajo teórico del físico francés Louis-Victor de Broglie acerca de las propiedades ondulatorias de los electrones. Las anteriores fungen el papel de la luz en estas tecnologías. Pero no fue hasta 1931 que junto a su asesor, el físico alemán Max knoll, creó el primer microscopio electrónico de transmisión (TEM) [2], cuyos diseños actuales son muy utilizados junto al microscopio electrónico de barrido (SEM). Este último diseñado por el físico alemán Manfred von Ardenne en 1935 [6].

2.1. ¿Qué cambia con los electrones?

Cuando un haz de electrones está atravesando el cuerpo del espécimen se produce una interacción con la materia del mismo, generando distintas señales que son captadas por los aparatos de medición del microscopio. Las señales que nos importan en este escrito son las que están conformadas por los electrones, generados por la interacción del haz principal con la nube electrónica del átomo, llamados electrones secundarios y electrones de Auger, y los propios electrones del haz principal que son desviados al interactuar con los campos eléc-

Figura 2: Figura esquemática que muestra los tres principales componentes que generalmente tiene un microscopio de luz, a saber, la fuente, un condensador y un lente objetivo. Imagen tomada de [4] y editada para propósitos de este escrito.

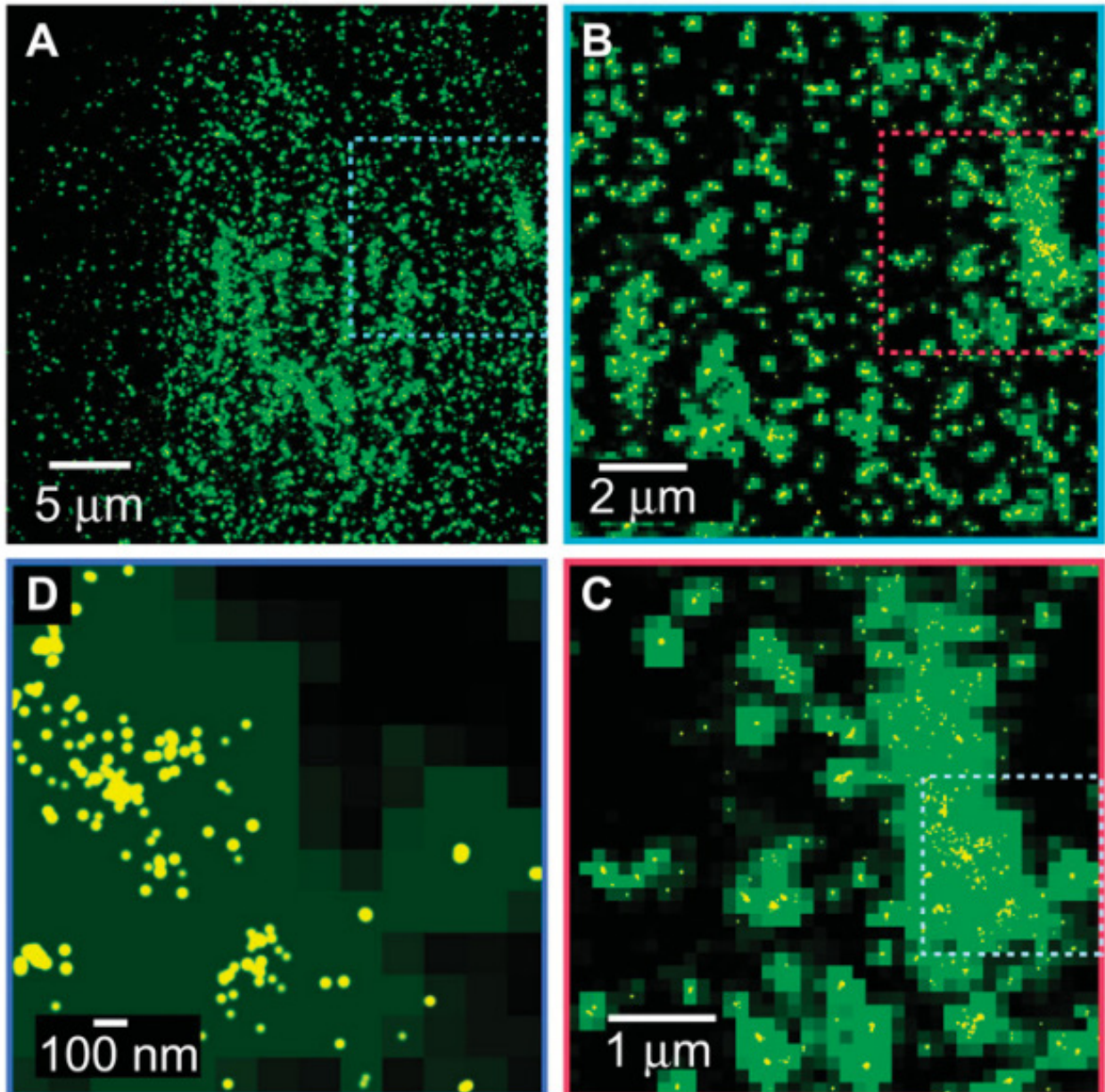


Figura 3: Posiciones de 48,746 proteínas verdes fluorescentes fotoactivas, en amarillo, obtenidas mediante un microscopio de fluorescencia usando la técnica de superresolución FPALM. Imagen obtenida de [5].

tricos de los núcleos atómicos, los electrones retrodispersados.

Estas interacciones con la materia se dan gracias a que el electrón tiene carga, a diferencia de la luz que cuando se ve como partícula esta es neutra, puesto que son las interacciones electroestáticas las que dan esta riqueza.

Otra cosa consecuencia de usarse electrones es que ya no podemos hacer uso de un sistema de lentes de vidrio como en la microscopía de luz. En lugar de eso se usan bobinas que generan campos eléctricos o magnéticos

que desvían la trayectoria de los electrones hasta formar un haz concentrado de ellos, el análogo al condensador, o para ser dirigidos a los detectores, como el lente objetivo. Este sistema de bobinas se conoce como lentes electromagnéticos debido a que cumplen la misma finalidad que los lentes de vidrio e incluso existen varias analogías entre los comportamientos y problemas de ambos tipos de lente. Un ejemplo de lo anterior es la aberración esférica, que en los lentes ópticos no tiene un peso muy decisivo en la resolución pero en los lentes electromagnéticos sí.

2.2. SEM y TEM

Dependiendo de qué producto de la interacción se quiera medir es que se tendrá un modelo diferente de microscopio, cada uno enfocado en diferentes tareas, entre los que destacan los ya mencionados SEM y TEM. El primero lanza unos electrones que pasan por un sistema de lentes electromagnéticas que enfoca y redirige al haz de estos hacia una sección en específico de la superficie para mapearla mediante la medición de los electrones secundarios (SE) y la imagen se obtiene por unos detectores [7]. Ya que la baja energía de estos electrones solo permite a los que están en la superficie salir al exterior, pero para ello se requiere que la muestra sea conductora o en su defecto que se esparzan nanopartículas metálicas en la superficie, puesto que los SE eran electrones de los átomos del espécimen

antes de la interacción con el haz principal, cabe destacar que el haz que se acelera es lo suficientemente delgado como para evitar el desenfoque.

El TEM, por otro lado, irradia la superficie de un material muy delgado (espesor de entre 5 a 10 nm), con un haz uniforme de electrones. Así, cuando el haz traspasa el material, muchos de esos electrones ven sus trayectorias desviadas o dispersadas mientras que otros lo pasan sin ningún cambio. Esto genera que la densidad de electrones por unidad de área que traspasa el material cambie respecto a la densidad inicial, y es con este cambio que se puede estimar la forma del material, e incluso su densidad, haciendo un mapeo digamos “calcado” de la forma del material [8].

Estas cualidades han hecho del TEM y SEM unos instrumentos indispensables en áreas como la biología, específicamente en el estudio de los biomateriales, y los nanobiomateriales, la nanotecnología, permitiendo la visualización de nanoestructuras como nanotubos, nano rendijas o puntos cuánticos, así como en la cristalografía para el estudio de la química y forma de los cristales, en caso de que el SEM este equipado de un espectrómetro de rayos X [7,8]. [iBIO](#)

Glosario

Lente: sistema de refracción que en el microscopio de luz consiste de un material cristalino en una pieza, convexa o cóncava, con fines ópticos.

Célula: forma de vida mas pequeña posible capaz de vivir por si misma.

Nanómetro: nm, medida de longitud que equivale a la milmillonésima parte del metro.

Luz coherente: es aquella conformada por ondas electromagnéticas que están en fase, es decir, que si conoces la ubicación de una de las crestas o valles de una onda, entonces podremos conocer la ubicación de todas las demás que conforman al rayo.

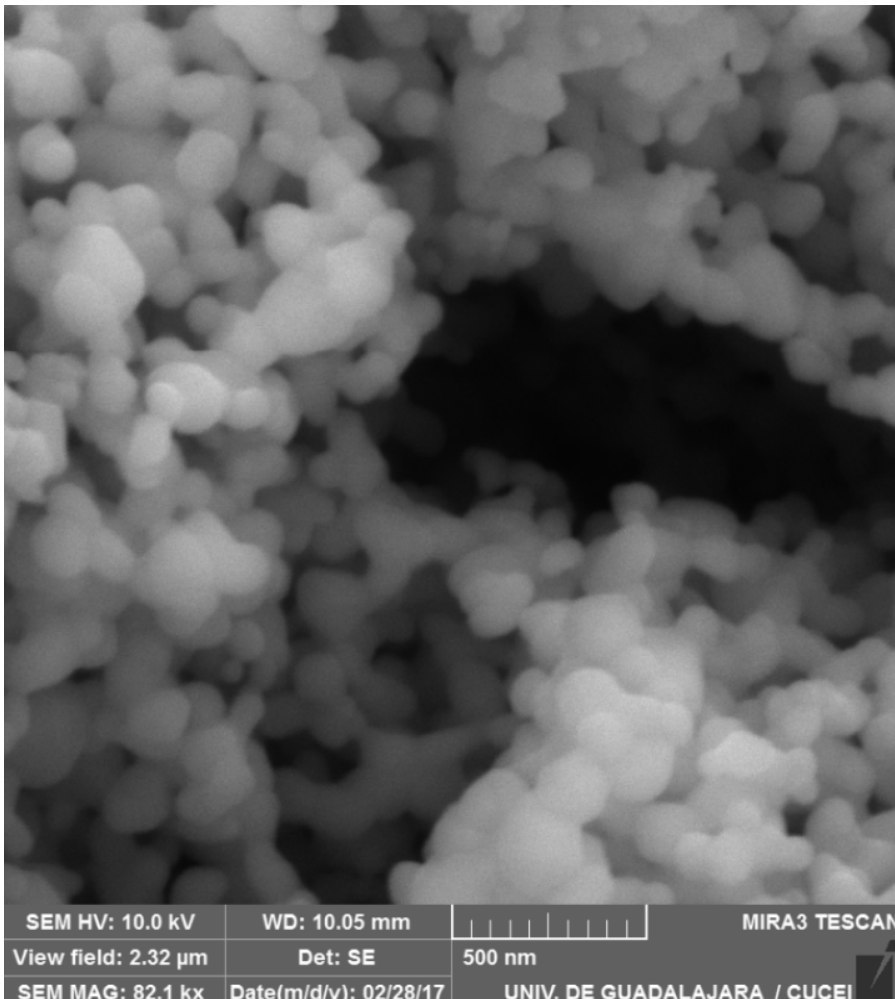
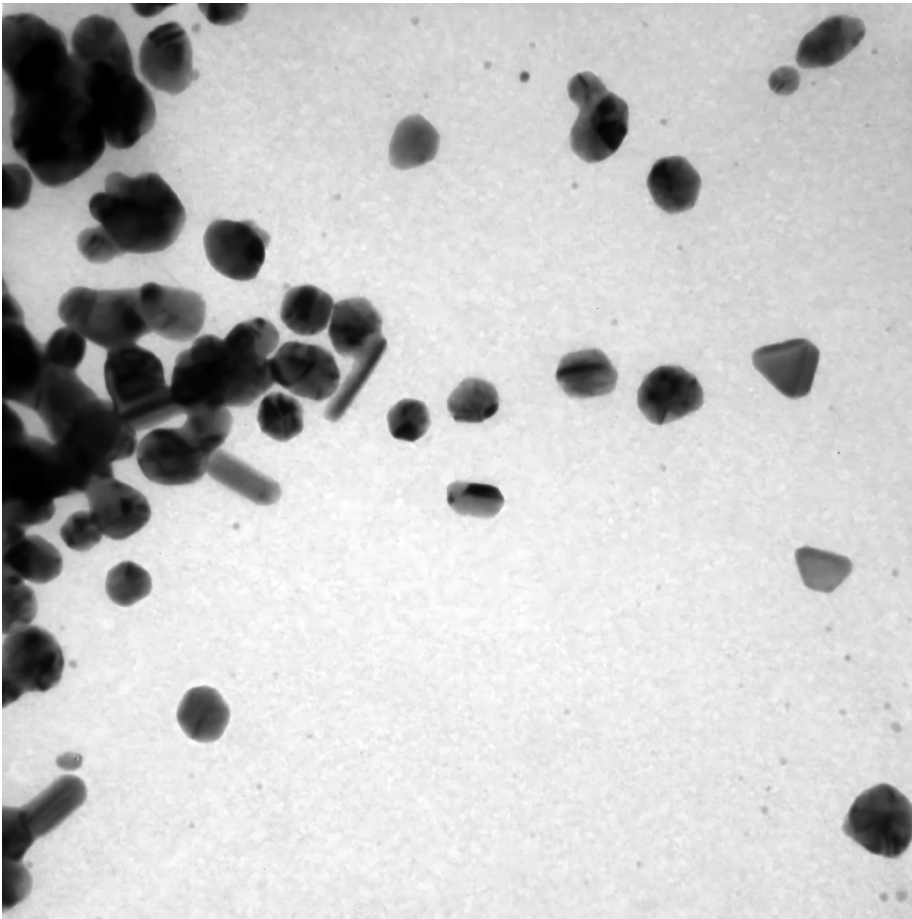


Figura 4: Morfología de unas nanopartículas de hierro-cobalto, imagen tomada con un SEM y donada por el Dr. Al-daberto Zamudio Ojeda.



JEOL 1010 Mag: 200 kx 100 nm

Figura 4: Morfología de unas nanopartículas de hierro-cobalto, imagen tomada con un SEM y donada por el Dr. Al-daberto Zamudio Ojeda.

Luz monocromática: es aquella que está conformada por ondas electromagnéticas que tienen la misma longitud de onda.

Difracción: ocurre cuando una onda interactúa con un objeto o una abertura, cuyas dimensiones son menores a la de su longitud de onda, generándose una nueva fuente de onda.

Longitud de onda: característica intrínseca de una onda que define la distancia entre cresta y cresta, o entre valle y valle, y que para las ondas electromagnéticas define también la energía que transportan.

Espectro electromagnético: todos los tipos de radiación que tienen tanto campos eléctricos como magnéticos, y que se desplazan en ondas. El espectro electromagnético comprende desde la radiación de energía y frecuencia bajas que se desplaza en ondas largas (como las ondas de radio y las microondas) hasta la radiación de energía alta y frecuencia alta que se desplaza en ondas cortas (como los rayos X y los rayos gamma), estando la luz visible entre estos dos bloques.

Ondas electromagnéticas: ondas generadas a partir de la perturbación del campo electromagnético. James Clerk Maxwell descubrió que la luz es en realidad una onda electromagnética.

Interferencia: fenómeno puramente ondulatorio que ocurre cuando dos ondas se encuentran en su camino, lo que hace que se sumen sus contribuciones.

Aberración esférica: fenómeno que ocurre tanto en lentes ópticos como electromagnéticos en donde los haces que pasan a través del lente no convergen en un solo plano. En los lentes ópticos esto ocurre si el cristal tiene forma esférica. En los lentes electromagnéticos ocurre por las propiedades de los campos eléctricos y magnéticos.

Referencias

- [1] Rojas, G., Jeannet, E. (2016). *Neurobiología de la percepción visual*. Editorial: Universidad del Rosario.
- [2] Sánchez Lera, R. M., Oliva García, N. R. (2015). Historia del microscopio y su repercusión en la microbiología. *Humanidades Médicas*, 15(2), 355-372. ISSN 1727-8120
- [3] The British Museum. (s. f.). *The Nimrud Lens*. British Museum. <https://www.britishmuseum.org/collection/image/396842001>.
- [4] Murphy, D.B. and Davidson, M.W. (2012). *Fundamentals of Light Microscopy and Electronic Imaging*. John Wiley & Sons. 2ed. doi:10.1002/9781118382905.
- [5] Hess, S. Girirajan, T. Mason, M. (2006). Ultra-High Resolution Imaging by Fluorescence Photoactivation Localization Microscopy. *Biophysical Journal*, 91(11), 4258-4272. doi:10.1529/biophysj.106.091116.
- [6] Reyes Gasga, José. (2020). Breve reseña histórica de la microscopía electrónica en México y el mundo. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 13(25), 79-100. Epub 25 de noviembre de 2020. doi:10.22201/cei-ich.24485691e.2020.25.69610.
- [7] Reimer, L. (2013). *Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis*. Alemania: Springer Berlin Heidelberg.
- [8] David B. Williams, C. Barry Carter. (2009). *Transmission Electron Microscopy: A Textbook for Materials Science*. Springer. 2ed. doi:10.1007/978-0-387-76501-3.