



MICROSCÓPIO: UMA ABORDAGEM PARA OS CURSOS DE ENGENHARIA

Valdivan Leonardo dos Santos¹

Resumo

A preparação de amostras para a observação de superfícies em microscopia requer um procedimento Técnico específico do microscópio para o laboratório de química das Faculdades de Engenharia, nesse trabalho estaremos mostrando um breve histórico sobre o aparelho e os vários tipos de microscópio bem como seus componentes, levando em conta os vários tipos, mostrará também vários meios sistemáticos de de cada um e sua capacidade. Neste trabalho, veremos também o sistema mecânico, e o sistema óptico e principalmente o eletrônico, veremos as suas características distintas e como foi o projeto de ampliação no laboratório na Faculdade na Cidade de Guarantã do Norte, veremos à implementação de um Laboratório com seus microscópio, dentro de uma nova perspectiva para o uso feito com seus acadêmicos, e de grande valor para o andamento do seu trabalho. Assim, apresenta-se um trabalho simples mais objetivo que na qual é para análise da microestrutura em microscópio usado no curso de química geral e química de materiais com relação ao microscópio digital, e seu término mostrando o laboratório.

Palavras-chave: Microscópio. Laboratório. Técnicas.

INTRODUÇÃO

Iremos neste trabalho abordar os Microscópios, apresentaremos o histórico dos microscópios, os microscópios ópticos e alguns de seus tipos, os componentes dos microscópios ópticos e, por fim, apresentaremos o microscópio eletrônico. Com o avanço da sociedade os microscópios foram evoluindo, neste trabalho apresentamos esta evolução, do mais rupestre criado por Hans Janssen até os modernos microscópios atuais. Nosso objetivo é apresentar o assunto de forma clara e objetiva, a fim de facilitar a compreensão do assunto, tão relevante para a nossa formação acadêmica bem como mostrar o valor da pesquisa experimental.

“A pesquisa experimental procura entender de que modo, ou por que causas, o fenômeno é produzido. Para atingir os resultados, o pesquisador usa aparelhos e instrumentos que a técnica moderna coloca ao seu alcance, lança mão de

¹ Prof. Valdivan Leonardo dos Santos, é Especialista em Engenharia Ambiental pela UCAM, iniciou-se suas Especializações em engenharia e sua linha de pesquisa no estudo de Engenharia Civil em 2012.



procedimentos apropriados e capazes de tornar perceptíveis as relações existentes entre as variáveis envolvidas no objeto de estudo. "Alzira Elaine Melo Leal

facilitar a compreensão do assunto, tão relevante para a nossa formação acadêmica bem como mostrar o valor da pesquisa experimental. A pesquisa por meio de aparelhos é um trabalho em processo que controla todos os elementos de pesquisa. Adotar a metodologia com aparelho ocular significa escolher um caminho. O percurso, muitas vezes, requer tentativas de observação a cada etapa. Precisa, portanto, não somente de regras e sim de muita criatividade. A importância deste material para o laboratório dos cursos de Engenharia também é também o foco como matéria de Estudo, podemos analisar que em todas as engenharias a sua necessidade é de valor enorme.

Desenvolvimento

1. HISTÓRICO

Até nos dias atuais, há controvérsia sobre quem foi o inventor do primeiro microscópio óptico. Entretanto, atribui-se à Hans Janssen, um holandês que se dedicava à construção de lentes, isso da década de 1590. No entanto, é provável que Galileu² tenha feito modificações em seu telescópio³ utilizando-o como microscópio. O Microscópio de Janssen era um microscópio composto, ou seja, possuía uma ocular numa extremidade e a lente objetiva em outra. Não possuía espelho ou suporte, era bastante rudimentar. Os objetos opacos eram iluminados por cima. Outras duas personalidades contribuíram sobremaneira na

² Físico, matemático e astrônomo italiano (1564-1642). Responsável pela fundamentação científica da Teoria Heliocêntrica de Copérnico e da sistematização da mecânica como ciência. Nasce em Pisa, filho de um músico aristocrata.

³ Instrumento óptico capaz de ampliar a imagem dos corpos celestes através de uma combinação de lentes ou espelhos. O primeiro telescópio foi desenvolvido em 1609 pelo italiano Galileu Galilei



solução da microscopia óptica: Robert Hooke (Londres) e Antony van Leeuwenhoek (Holanda). Ambos construíram suas próprias lentes.

Robert Hooke (1665) observava insetos e os descrevia minuciosamente. Fazia demonstrações semanais na Royal Society of London. Um dos seus experimentos foi observar aparas de cortiça. Como a cortiça é feita de células mortas, restando apenas as paredes de celulose, Hooke observou espaços vazios, delimitados por estruturas que denominou de pequenas celas (no diminutivo em português células). Daí, a primeira descrição de células. Hooke sabia que o poder de aumento de uma lente biconvexa dependia da sua curvatura (quanto mais próxima da forma esférica, maior o aumento). Por outro lado, Leeuwenhoek, na Holanda, examinava os mais diferentes materiais e só os descrevia após diversas observações, para ter certeza de que as imagens fantásticas que via não eram ilusão mantinha os materiais montados no microscópio e construía outro para nova observação. Por isso, construiu mais de 500 microscópios. Eram microscópios bastante simples, com somente uma lente, mas que fornecia aumento de 266 X e uma resolução de 1,35 mm. Desenhava o que observava e deve-se a ele as primeiras observações de bactérias (da sua boca) e protozoários. Uma vez Leeuwenhoek resolveu examinar suas próprias vezes e encontrou, segundo sua própria descrição, “pequenos animais se movendo intensamente”. Pelos seus desenhos, hoje sabemos que suas fezes estavam infectadas por Giárdia (protozoário parasita de intestino). Vemos que podemos através dos aparelhos que é um meio de buscar a excelência nas pesquisas como podemos afirmar que também é uma pesquisa pura:

“Objetiva gerar conhecimentos novos úteis para o avanço da ciência sem aplicação prática prevista. Envolve verdades e interesses universais. Não tem por finalidade a



Vemos que dentro desta história manifesta-se o poder da Investigação, o avanço da ciência e do trabalho que os usa, como, Biologia, Química, e outras ciências ligado a engenharia. Nos cursos de Engenharia na sua totalidade temos vários ramos: Engenharia Civil, Engenharia Ambiental, Engenharia Mecânica, Engenharia de Minas, Engenharia Agrônoma, Engenharia Genética entre outras.

2. O MICROSCÓPIO ÓPTICO

O microscópio óptico compõem-se de uma parte mecânica, que serve de suporte, e uma parte óptica, construída por três sistemas de lentes: o condensador, a objetiva e a ocular. Chama-se poder de resolução de um sistema óptico a sua capacidade de separar detalhes. Na prática o poder de resolução é expresso pelo limite de resolução, que é a menor distância que deve existir entre dois pontos para que eles apareçam individualizados. Um bom microscópio não é aquele que dá o maior aumento. Não importa quantas vezes aquela lente aumenta e sim o seu poder de resolução. Este, por sua vez, depende de alguns fatores, entre eles o número de abertura da lente e do comprimento de onda utilizado no microscópio.

O limite de resolução corresponde à menor distância entre dois pontos em que eles ainda podem ser distinguidos separadamente. Desse modo, o Poder de Resolução do microscópio corresponde aos menores limites de resolução possíveis. Então, o melhor microscópio é aquele com o número de abertura maior pois seu limite de resolução será menor. O limite de resolução do olho humano é em torno de 0,2mm, embora os míopes sejam capazes de resolver pequenos objetos de limite até de 0,15 mm. O melhor microscópio óptico possui



limite de resolução de 0,2mm. Se usarmos na microscopia óptica a luz do extremo violeta do espectro, de comprimento de 400 nm, encontraremos ainda uma resolução melhor, de 0,174 nm.

Quando menor o comprimento de onda melhor a resolução. O microscópio eletrônico, que utiliza elétrons (comprimento de onda de 0,2 nm), tem como limite de resolução $0,2 \text{ nm}$ ou $2\lambda^0$. O nanoscópio (microscópios de tunelamento) possui $0,2\lambda^0$ de limite de resolução.

2.1. Campo claro

É a modalidade mais simples de microscopia. Todos os microscópios ópticos funcionam com campo claro. É utilizado para observação de materiais corados, geralmente entre lâmina e lamínula.

2.2. Campo Escuro

São microscópios que utilizam condensadores especiais. A luz fica de tal modo inclinada, que não penetra diretamente na objetiva. A luz atinge o material e somente a porção desviada pelo objeto penetra na objetiva, formando a imagem.

Se não houver objeto (material biológico), o campo fica totalmente escuro. Esta modalidade da microscopia é utilizada para material de tamanho muito pequeno (plâncton, bactérias, cristais, pólen etc) que sejam muito transparentes e apresentem pouco contraste para serem observados em campo claro. O fundo fica escuro e o material brilhante. Partículas sub-microscópicas ficam visíveis.

2.3. Microscópio de polarização



O emprego de um feixe luminoso polarizado permite estudar certos aspectos da organização molecular dos constituintes celulares. Ao atravessar a célula, o feixe de luz pode passar por estruturas cristalinas ou constituídas por moléculas alongadas e paralelas, que dividem o feixe polarizado em dois, cujos planos são perpendiculares. Estas estruturas são chamadas anisotrópicas e são birrefringentes, pois apresentam dois índices de refração diferentes, conforme a incidência de luz. As estruturas celulares que não apresentam tal organização não modificam o plano de polarização da luz, e são ditas isotrópicas. Este microscópio é semelhante ao convencional, exceto por apresentar um sistema diferente de iluminação e jogos de filtros-um que filtra a luz antes da mesma alcançar o material e outro que filtra a luz emitida pelo mesmo.

O espécimen a ser estudado deve ser previamente marcado com algum composto fluorescente (moléculas que absorvem luz num determinado comprimento de onda e emitem em outro comprimento, maior). Somente a luz emitida pelo objeto é observada, ficando desse modo brilhante contra um fundo negro. Permite a detecção, a nível celular, de sub-estruturas que estejam marcadas por fluorocromos. Os mais utilizados são a fluoresceína (que emite luz verde quando excitada com luz azul) e a rodamina (que emite vermelha quando excitada com luz verde-amarela).

2.4. Microscópio de contraste de fase

Baseia-se nos princípios físicos da difração da luz. Foi idealizado pelo holandês Zernike, que ganhou o prêmio Nobel em 1953. Permitiu grandes avanços no estudo de células sem coloração, vivas ou não.



Este microscópio é dotado de um sistema óptico especial que transforma diferenças de fase dos raios luminosos em diferenças de intensidade. Assim, as diferenças de fase, para as quais o olho não é sensível, tornam-se visíveis, pois são traduzidas em diferenças de intensidade luminosa, facilmente perceptíveis. O microscópio de contraste de fase pode ser usado de modo que as estruturas celulares apareçam escuras (fase positiva) ou claras (fase negativa).

A velocidade da luz ao atravessar um corpo e o índice de refração deste dependem da quantidade de matéria presente, isto é, da densidade do corpo. Quanto maior a densidade, menor será a velocidade da luz no interior deste corpo. Menor será também o índice de refração. O microscópio de contraste de fase é empregado em especial para o estudo das células vivas. É de grande utilidade para a observação de células cultivadas, cujo, crescimento e divisão mitótica podem ser facilmente seguidos sem o emprego de corantes. Também utilizando em Engenharia Ambiental.

2.5. Microscópio confocal

É um microscópio com uma série de peculiaridades que permite observar material espesso, sem corar, vivo ou não, pois focaliza em diferentes planos focais, obtendo-se cortes ópticos. Estas imagens são estocadas num computador, proporcionando reconstruções tridimensionais e a visualização da célula como um todo. Permite desse modo, cortes de uma estrutura que, na verdade, está intacta. Trabalha com a óptica de um microscópio de fluorescência e pode ser encontrado no mercado na versão convencional ou modelo invertido. Utiliza laser como fonte luminosa, focalizando um único ponto, em qualquer profundidade da estrutura. Permite a detecção de detalhes biológicos (ou não)



de intensidade muito baixa e de baixo contraste em células vivas ou metabolicamente ativas, amplificando os sinais luminosos. Permite a observação de estruturas ainda que possuam limite de resolução abaixo a de um microscópio óptico. Exemplo: microtúbulos foram observados com este microscópio se movendo sobre uma lâmina após serem ativados com ATP. Utiliza sistemas de vídeo processados digitalmente, obtendo-se assim informações preciosas a respeito de estruturas (celulares ou não). A luz emitida de regiões fora do plano focal não é observada. Assim a imagem é nítida e não sofre interferências. A luz do laser passa por um pequeno orifício (pinhole) e ilumina um único ponto do espécimen. A fluorescência emitida pelo material é coletada e conduzida para um detector, que possui um segundo orifício pequeno (confocal pinhole). Desse modo, a luz emitida por este local do espécimen converge para esta abertura e entra no detector. A luz emitida de outras regiões do espécimen que não esteja no plano de foco não entra pelo pequeno orifício. (pinhole) e assim não fará parte da imagem final.

Cada plano de foco é coletado seqüencialmente por uma varredura do material (daí ser chamado de scanning). Ocorre assim um rastreamento. Forma-se uma imagem bi-dimensional bem nítida e limpa. O feixe é defletado por um espelho colocado entre o espelho dicróico e a lente objetiva, de tal modo que o ponto luminoso e o segundo orifício (confocal pinhole) do detector estejam precisamente em registro. Comumente usado pela Engenharia Genética.

3. COMPONENTES DO MICROSCÓPIO ÓPTICO

3.1. Sistema mecânico



- **Base:** É a parte mais pesada e é a responsável pela sustentação da estabilidade do microscópio;
- **Estativa ou corpo:** De construção sólida, é o local indicado para segurar o microscópio durante a sua movimentação e transporte.
- **Revólver (porta objetivas):** De forma circular, serve para fixar as objetivas.
- **Tubo de observação:** Local onde está(ão) localizada(s) a(s) ocular(es) e o jogo de prismas;
- **Tubo duplo ou triplo:** Destinado a quatro ou seis oculares, respectivamente,
- **Ajuste da distância interpupilar:** O microscopista deve ajustar a distancia interpupilar, sempre que for usar o microscópio óptico.
- **Comandos de focalização:** São comandos coaxiais, montados em um eixo comum.

3.2. Sistema óptico

O sistema óptico é responsável pelo poder de aumento do microscópio. O aumento total é o produto das duas etapas:

3.2.1. Lentes

As lentes, de um modo geral, são construídas com vidro, quartzo ou plástico. Há dois tipos de lentes, as convergentes (positivas) e as divergentes (negativas).

3.2.1.1. Ocular



É uma lupa. As mais simples possuem no seu interior duas lentes e um diafragma. A lente ocular tem a função de ampliar a imagem produzida pela objetiva e a lente de campo tem a função de corrigir as aberrações, diminuindo a imagem, mas mantendo-a nítida.

3.2.1.2. Prisma

Para os microscópios binoculares, trinoculares e/ou para as observações simultâneas, são utilizados prismas de cristal que duplicam a imagem, uma para cada ocular.

3.2.1.3. Objetivas

Constituem a parte mais importante do microscópio. A resolução alcançada e a maior parte a qualidade da imagem final dependem das lentes objetivas. São formadas internamente por várias lentes. Algumas objetivas chegam a ter no seu interior mais que 10 lentes. As objetivas de maior aumento que ficam mais próximas à lâmina (objeto examinado) são retráteis para diminuir os riscos de quebrar a lâmina no momento da focalização. Tipos de objetivas:

1. **Acromáticas:** São as mais simples e baratas. São aquelas sem nenhuma sofisticação .
2. **Semi-apocromáticas:** São também chamadas de Fluorita, porque este material entra na sua construção, dando alguma correção para as aberrações;
3. **Apocromáticas:** Abrangem todo o espectro.



4. **Planacromáticas:** São corrigidas quanto a curvatura de campo. Ótimas para fotomicrografias pois o campo fica todo em foco.

5. **Planapocromáticas:** São as melhores objetivas. Quem as possui, geralmente as mantém guardadas e bem cuidadas quando fora de uso.

3.2.1.4. Condensador

O condensador também é formado por várias lentes internas. Tem por finalidade concentrar a luz de modo que a objetiva receba um cone cheio de luz.

Tipos de condensadores:

- Condensador de campo claro;
- Condensador de campo escuro;
- Condensador de contraste de fase;
- Condensador de contraste de interferência.

4. O MICROSCÓPIO ELETRÔNICO

O atual conhecimento que temos das células é um tanto quanto recente, cerca de 27 anos atrás. A maior parte deste conhecimento se deve ao microscópio eletrônico, pois ele permitiu estudar com maior definição a célula, permitindo obter conhecimentos através da observação de cortes muito finos fixados e contrastados com contrastes eletrônicos. A capacidade resolutive de qualquer microscópio é limitada pelo comprimento de onda da radiação empregada. A radiação visível permite distinguir detalhes de 0,2 μm , porém a forma de objetos menores não é visível. Com outros aparelhos modernos pode-se ter uma resolução bem melhor, sendo o caso dos aparelhos de varredura como MEV e veremos no próximo :



“Como resultado tem-se que os aparelhos modernos permitem aumentos de 300.000 vezes ou mais, para a maior parte de materiais sólidos, conservando a profundidade de campo compatível com a observação de superfícies rugosas.” (Microscopia Eletrônica, Dedavid, Berenice Anina)

Mais recentemente foi aperfeiçoado o microscópio eletrônico. Esse microscópio emprega feixes de elétrons que, acelerados por uma diferença de potencial de 60 mil volts, têm um comprimento de onda de 0,005 nm. No momento não se consegue aproveitar inteiramente a capacidade resolutive dos melhores microscópios eletrônicos por causa das dificuldades em preservar as células e, sobretudo, em obter cortes extremamente finos, imprescindíveis para o máximo de resolução.

4.1. Microscópio eletrônico de varredura

Como o microscópio eletrônico comum ou de transmissão, o microscópio eletrônico de varredura também usa um feixe de elétrons. Mas daí em diante, eles pouco têm em comum e, na verdade, são aparelhos complementares. O microscópio eletrônico de transmissão possui poder de resolução muito maior, enquanto o de varredura tem a vantagem de fornecer imagens tridimensionais pelo exame da superfície das estruturas. O microscópio eletrônico de varredura consiste em um sistema análogo do microscópio de transmissão, que produz um feixe delgado de elétrons cujo diâmetro pode ser modificado. De todos os tipos, esse é o mais usado em todos os tipos das Engenharias, fazendo assim um dos melhores aparelhos usados nas Universidades para Pesquisa.

CONCLUSÃO

O microscópio é a principal ferramenta do seu trabalho nos laboratórios biológicos, geológico e/ou de pesquisas clínicas. Ele deve ser manuseado e utilizado corretamente para alcançar o máximo de rendimento e precisão. O



microscópio óptico é composto por uma parte mecânica – composta pela base, corpo, revólver, tubo de observação, ajuste da distância interpupilar, correção da dioptria, comandos de focalização entre outros; e a parte óptica – composta pelas lentes, ocular, prisma, objetiva e pelo condensador.

Os microscópios foram evoluindo com o passar do tempo, desde o mais rudimentar criado por Hans Janssen até os modernos microscópios atuais. O laser está sendo utilizado em microscopia óptica, no chamado Microscópio Confocal, que permite observar material espesso, sem coloração, através de cores (varredura). O microscópio eletrônico possibilitou a visualização de estruturas celulares não visíveis no microscópio óptico, porque seu poder resolutivo é muito maior. O cuidado permanente com a limpeza e conservação do microscópio e também com a higiene das mãos do microscopista durante o trabalho são indispensáveis para obter uma boa qualidade da imagem e desempenho técnico, pois trata-se de um utensílio laboratorial de precisão e sensibilidade. Esteja você na Universidade ou trabalhando em algum laboratório, deixe-o sempre limpo ao terminar o seu trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JUNQUEIRA, L.C.U, CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 3.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1983.

DE ROBERTS., DE ROBERTS, Jr. **Bases da biologia molecular e celular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

ROBERTO, Wilker Ramos. **Eu – o microscópio óptico**. Goiânia : América, 1999.

VIDAL, Benedito de C; MELLO, Maria L.S. **Biologia Celular**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1987.