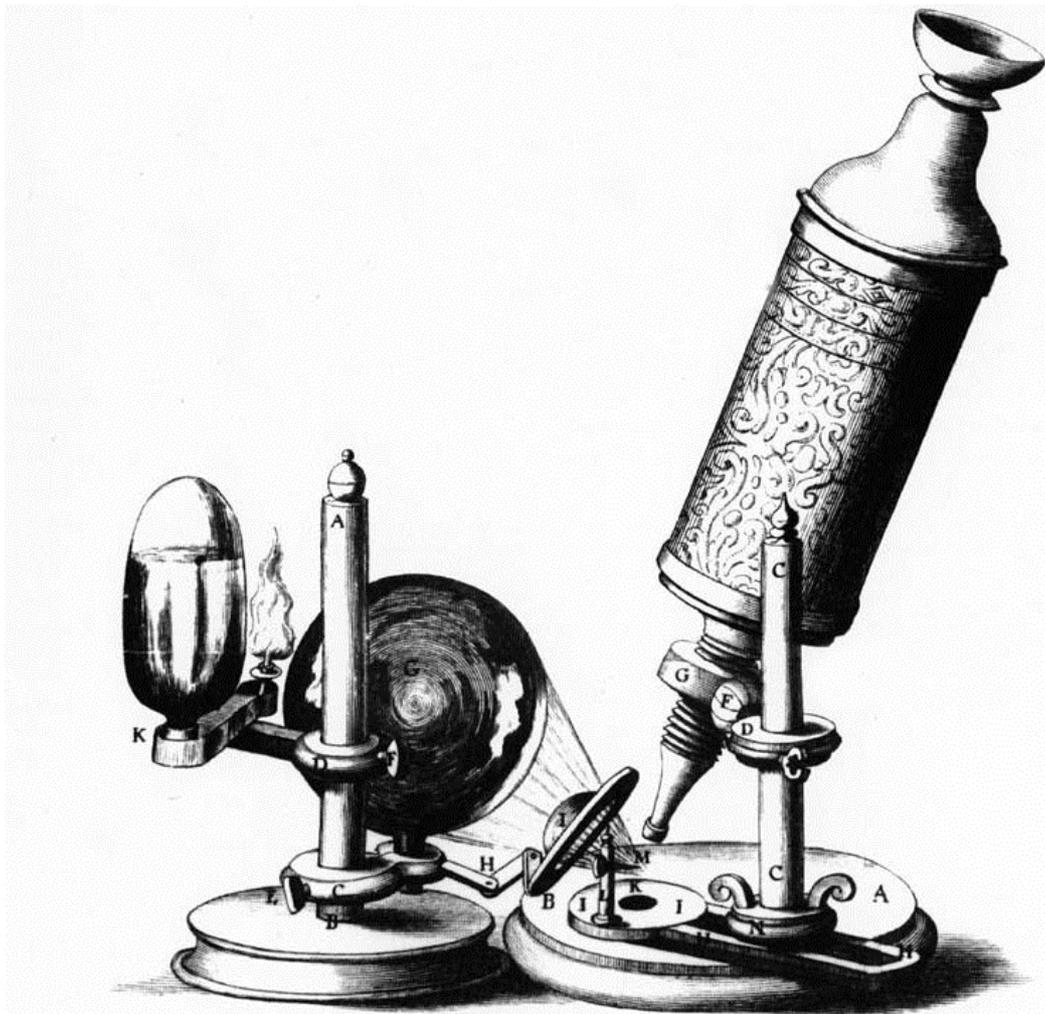


Antonio Martinotti

Storia minima del microscopio

Da un incontro col Gruppo Micologico Torinese
Aprile 2019



Premessa

Questa breve descrizione della storia della microscopia penso che possa essere utile sia ai fruitori del microscopio, che non conoscendo le origini dello strumento utilizzato siano curiosi di saperne di più, sia a coloro che vi si accostano per la prima volta.

La mia indagine fa un breve resoconto dello strumento in quanto tale ma anche della sua evoluzione nel tempo; vengono citate le più comuni tecniche di osservazione senza ricorrere alla descrizione minuziosa di tecnicismi per i quali si rimanda alla numerosissima letteratura specializzata presente nelle librerie scientifiche.

A chi, incuriosito dalla lettura di questo libretto volesse esplorare il mondo della microscopia, consiglio di trovare lo scritto da un naturalista francese nel 1937 inneggiante alle gioie dell'osservazione del mondo microscopico che ci circonda ma alla maggior parte di noi è sconosciuto.

Si chiamava Marcel Roland, il titolo dell'opera "Le meraviglie del microscopio" pubblicato anche in Italia nella collana economica di Rizzoli (BUR) assieme ad altre opere dello stesso autore.

E' ancora rintracciabile in Internet nel mercato del libro usato al prezzo di pochi euro.

Il libro succitato ha fatto scattare in me all'età di 15 anni una curiosità che non si è ancora sopita nonostante io abbia ormai superato abbondantemente l'ottantina.

Tra gli oggetti da me maggiormente osservati e studiati spiccano soprattutto le diatomee, microalghe, diffuse abbondantemente in tutte le acque del mondo e presenti sul nostro globo da tempo immemorabile. Esse da sole, con la fotosintesi, producono più del 50 per cento di tutto l'ossigeno esistente sul pianeta terra.

Queste creature sono contenute in minutissime teche silicee da loro stesse formate e costituite da due valve incastrate l'una nell'altra. Le valve hanno dei minutissimi forellini che permettono loro il contatto col mondo esterno, la nutrizione e la deambulazione, poiché, pur essendo dei vegetali, le diatomee si muovono strisciando sui substrati dove si posano.

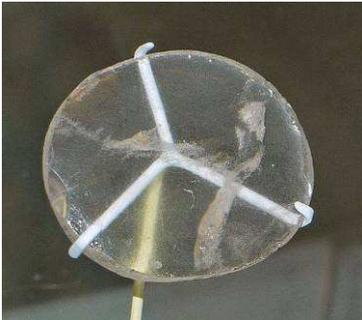
E' la particolarità di questi gusci a suscitare meraviglia: alcuni ricordano in tutto e per tutto i rosoni delle cattedrali gotiche, altri fragili navicelle trasparenti, o, nel caso delle forme coloniali, lunghissime collane di cristallo.

Questi minuscoli gusci, privati del loro contenuto organico, immersi in resina sintetica e inseriti tra i due classici vetrini da microscopio, possono conservarsi indefinitamente nel tempo.

Non stupisca perciò se, nella maggior parte delle fotografie presenti in questo lavoro, esse vengano prese ad esempio per illustrare le varie tecniche osservative.

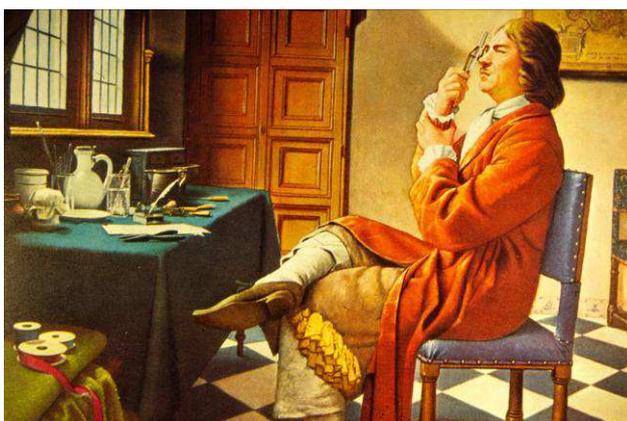
Dall'antichità ai giorni nostri

Che cos'è un microscopio? Penso che molti di voi saprebbero rispondere a questa domanda e qualcuno lo avrà anche usato per lavori di ricerca scientifica o per il montaggio di componenti di minime dimensioni, ma quasi sicuramente ne ignorano le sue origini storiche e la sua evoluzione nel corso dei secoli. Anche una semplice lente convessa può essere considerata un microscopio perché fornisce immagini virtuali e ingrandite dell'oggetto che si osserva.



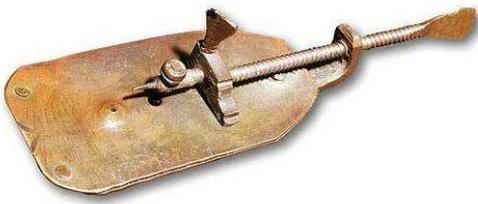
La lente semplice era nota sin dall'antichità. Il primo rinvenimento in uno scavo archeologico risale al 720 a.C. ed avvenne in Assiria, a Nimrud nella sala del trono del re Sargon II°. Le lenti semplici erano in genere piano convesse ricavate dal cristallo di rocca, talvolta montate in una cornice di ottone con manico, avevano in genere un piccolo diametro e modesti ingrandimenti, sono presenti in ogni epoca della nostra storia e utilizzate sino ai giorni nostri.

Lenti di diametro maggiore e montate in coppia furono usate come occhiali da vista sin dal secolo tredicesimo. È già alla fine del Cinquecento due occhiali olandesi (gli Jansen, padre e figlio) accoppiando due lenti semplici convesse e sistemandole in un tubo, forse di legno o di cartone, a debita distanza l'una dall'altra ottennero strumenti che in apparenza avvicinavano le immagini (telescopio) o le ingrandivano (microscopio). Sia il telescopio che il microscopio così ottenuti furono allora considerati alla stregua di curiosità, se non addirittura di giocattoli. Con questi sistemi ottici molto primitivi le immagini risultavano invertite, poco definite e pertanto di scarsa praticità.



Questo signore dal nome impronunciabile è un olandese di Delft nato nel 1632. È universalmente riconosciuto come l'inventore del primo microscopio degno di questo nome. Si chiamava Anthony Van Leeuwenhoek ed era un mercante di stoffe. Questi mercanti erano usi ad adoperare lenti a basso ingrandimento (5-10 X) per contare i fili componenti la trama del tessuto e presenti in un cm quadrato onde valutarne la preziosità.

Sicuramente Van Leeuwenhoek era un curioso, dote fondamentale per fare delle scoperte. Lo affascinava la struttura microscopica degli oggetti naturali che gli capitava di osservare, l'osservazione era però limitata dai bassi ingrandimenti. Volendo andare oltre fu spinto a costruirsi lenti di maggior potere, piccolissime e ottenute stirando alla fiamma una cannula di vetro trasparente fino ad ottenere una piccola goccia di vetro di circa un millimetro di diametro.



La lente ottenuta e collocata fra due piastine di ottone forate unite con rivetti costituì **il primo vero microscopio della storia**. Poteva raggiungere i 100 ingrandimenti (forse fino a 300).

Ne costruì circa 150 perfezionandoli e al giorno d'oggi ne sono sopravvissuti nove, sparsi nelle collezioni museali.

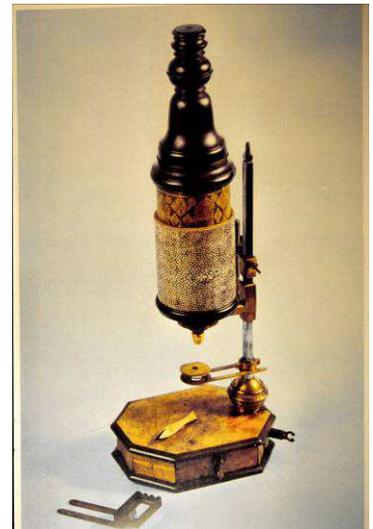
Van Leeuwenhoek spinse le sue osservazioni in campo naturalistico osservando le acque stagnanti scoprendo batteri, protozoi, microalghe, ecc ...stilò relazioni sulle sue osservazioni che poi spedì alla Royal Society di Londra suscitando ammirazione per il suo rigore scientifico. Divenne presto famoso al punto da ricevere la visita dello zar Pietro il grande, che si trovava in Olanda per uno dei suoi numerosi viaggi esplorativi, e dell'allora Regina d'Inghilterra desiderosi di scoprire attraverso i suoi microscopi un mondo sino ad allora sconosciuto.

Il microscopio composto

Fu nel corso del 1700 che il microscopio fu notevolmente perfezionato.

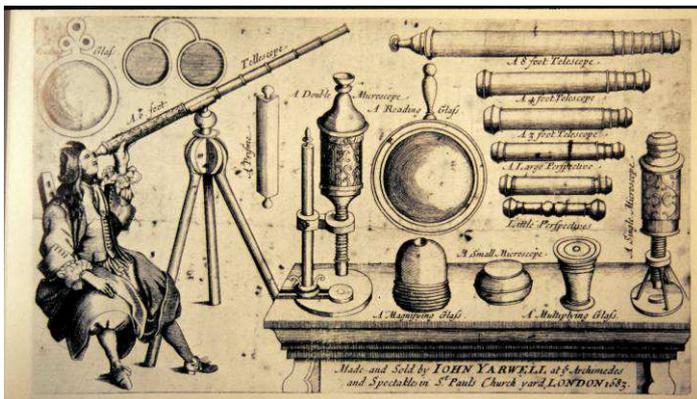
Fu composto da due lenti distanziate: una lente semplice fungente da oculare posta davanti all'occhio dell'osservatore e distanziata da questa, una lente detta obiettivo posta avanti all'oggetto da osservare. Il tutto era inserito in un tubo di legno o di cartone e montato in verticale su un'asse scorrevole e fissato ad una base. Il tubo poteva essere allontanato o avvicinato all'oggetto da osservare mediante una vite di comando posta a lato del tubo stesso.

Questo strumento nato come una curiosità, venne ben presto impiegato in campo scientifico permettendo scoperte entusiasmanti come la circolazione del sangue nei capillari dell'arto di una rana, gli spermatozoi umani, le cellule animali e vegetali.



Medici come Hooke (natura delle cellule animali e vegetali), Harvey (circolazione del sangue) e naturalisti come Malpighi, Spallanzani, Van Leeuwenhoek scrissero memorie che costituirono testimonianze esaurienti sull'uso del microscopio nella ricerca scientifica.

Anche il nostro Galileo Galilei si cimentò nella costruzione di simili strumenti.



Sin dal Seicento lo sviluppo della costruzione di microscopi (e dei telescopi inventati quasi contemporaneamente) spinsero tanti fabbricanti a reclamizzare i propri strumenti per la vendita ad acquirenti sempre più numerosi vuoi per ricerche scientifiche o anche solamente per curiosità.

**Evoluzione del microscopio
dal Seicento fino a fine Ottocento.**



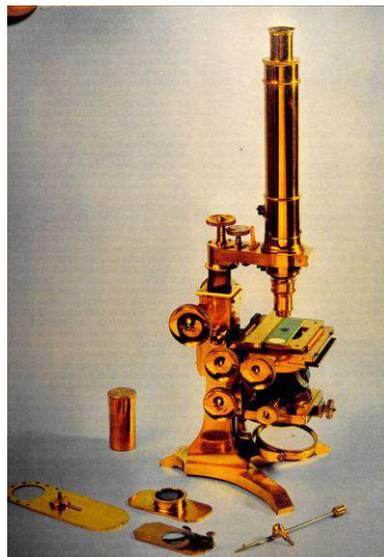
Microscopi tipo Culpeper



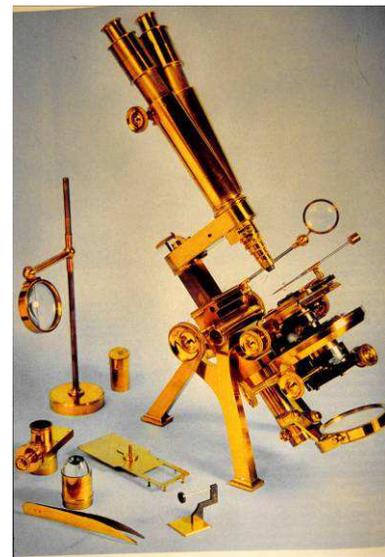
Microscopi tipo Martin



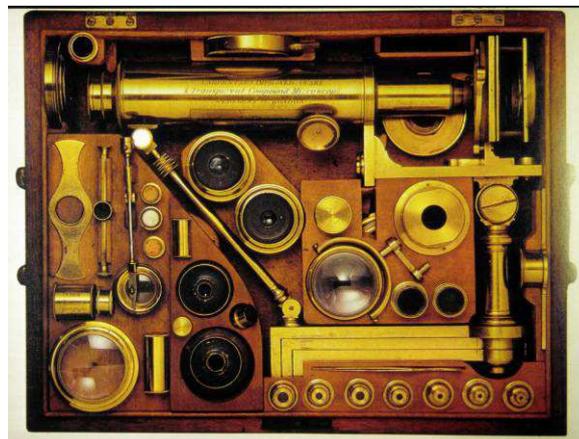
Microscopio di Adams



Microscopio di Ross



Microscopio di Leland



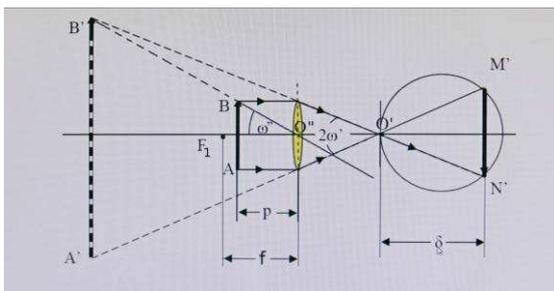
Microscopio da viaggio

L'Optica del microscopio

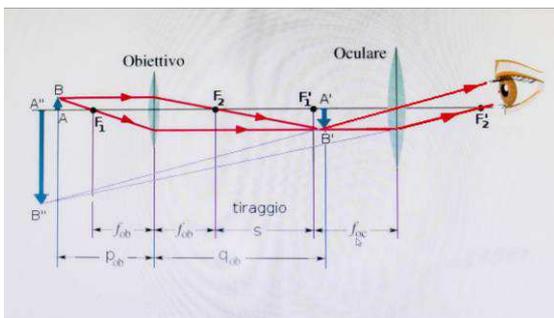
Il microscopio semplice come dice la definizione è dotato di un solo obiettivo e non necessita di altre lenti; il microscopio composto invece è munito di una lente prossima all'occhio dell'osservatore, chiamata **oculare** e di un'altra chiamata **obiettivo** posta al disopra dell'oggetto da osservare. In origine oculare e obiettivo erano costituiti da lenti semplici che avevano però l'inconveniente di assommare i relativi difetti costruttivi peggiorando notevolmente l'immagine tanto da preferire ancora la lente semplice anche se l'ingrandimento ottenuto era minore.

La lente semplice, specialmente ai bordi, si comporta come un prisma scomponendo la luce nelle varie lunghezze d'onda e generando aloni colorati molto fastidiosi per l'osservazione. L'inconveniente venne risolto nella metà del 18° secolo dal fisico Fraunhofer (1752) e dal costruttore Dollond (1757) che assommando due lenti semplici, una positiva ed una negativa ma con diverso indice di rifrazione si ridusse notevolmente il difetto indesiderato. Tali lenti furono chiamate **acromatiche**. Solamente dopo questa importante innovazione il microscopio composto poté essere impiegato con successo. I costruttori dell'epoca crearono degli autentici capolavori con ottiche che ancora rivaleggiano con i moderni oculari e obiettivi. Nel microscopio composto l'ingrandimento è dato dalla moltiplicazione del potere dell'oculare per quello dell'obiettivo, ad esempio oculare 10 x e obiettivo 20 x = 200 x totali.

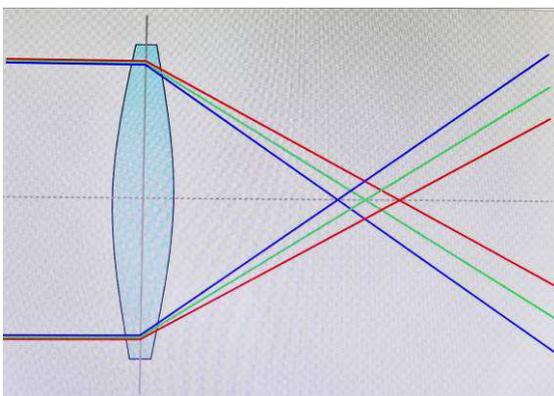
I microscopi dotati di simili ottiche poterono raggiungere agevolmente i 1000 ingrandimenti permettendo di scoprire e studiare i batteri o le cellule del corpo umano.



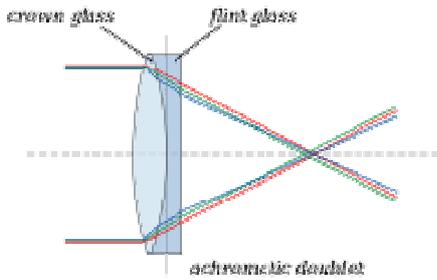
Ecco una rappresentazione schematica abbastanza chiara di come si forma l'immagine ingrandita di un oggetto vista attraverso una lente (microscopio semplice)



ed un sistema a due lenti (microscopio composto).



Questa è la dimostrazione grafica del perché si formano gli aloni colorati ai bordi di una immagine data dalla lente convessa impiegata nei microscopi sino all'avvento della lente acromatica (1760 circa). La luce che fuoriesce dalla lente e formante l'immagine dell'oggetto scissa nelle lunghezze d'onda dello spettro luminoso si pone a fuoco su piani differenti e non in un unico punto, formando una successione di diverse immagini colorate. Questa è l'aberrazione cromatica che penalizza fortemente la bontà delle immagini ottenute.



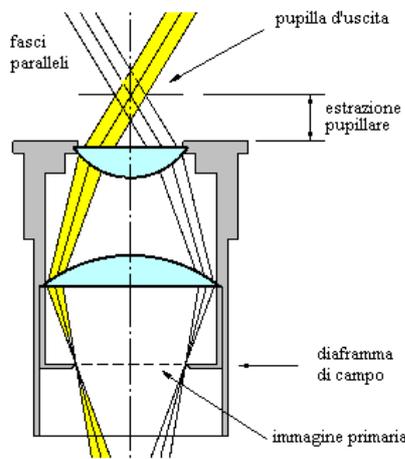
La lente acromatica ideata nel 1750 e realizzata come già detto un decennio dopo, consta di due lenti semplici, una positiva e l'altra negativa, accostate o incollate. Esse hanno due differenti coefficienti di dispersione in grado di mettere a fuoco nello stesso punto le diverse lunghezze d'onda che formano l'immagine eliminando quasi totalmente l'aberrazione cromatica.

Con la lente acromatica finalmente i microscopi composti potevano soppiantare definitivamente i microscopi semplici.

Un ulteriore miglioramento qualitativo si ebbe con l'adozione delle lenti apocromatiche in fluorite impiegate solamente negli obiettivi di assoluto pregio e quindi assai costosi.

Gli oculari e gli obiettivi

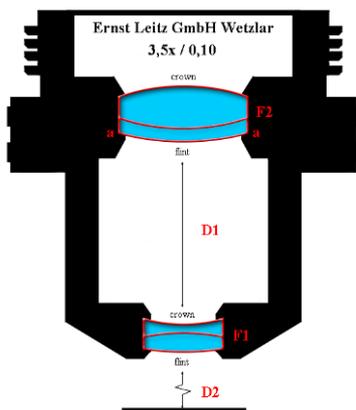
Insieme costituiscono la parte più importante del corredo ottico del microscopio.



Gli oculari hanno un gruppo di due o più lenti accorpate in un preciso schema e inserite in un tubetto metallico che va posizionato all'estremità visiva del microscopio. Essi permettono di ingrandire ulteriormente le immagini ottenute con il sottostante obiettivo moltiplicandone l'ingrandimento proprio. Di oculari ne esistono diversissime tipologie ma le più usate sono in definitiva solamente tre:

Quelli di Huyghens, (fine 1600) costituiti da due lenti semplici ancora piuttosto validi e poco costosi, quelli di Ramsden (1783) che permettono l'inserimento tra i due gruppi ottici di micrometri e di reticoli, e quelli di Kellner (1873) che si avvalgono di un sistema di lenti acromatiche. Tutti questi oculari hanno ingrandimenti propri che vanno da 5x sino a 20x.

Gli obiettivi, se si escludono quelli primitivi a lente semplice, a partire dall'adozione delle lenti acromatiche (1750 circa) sono stati costantemente perfezionati onde eliminare le varie aberrazioni ottiche che li affliggevano. Attualmente gli obiettivi più usati sono quelli acromatici parzialmente corretti, ma per i microscopi cosiddetti da ricerca vengono forniti particolari sistemi supercorretti quali quelli planacromatici, apocromatici e planapocromatici tutti particolarmente costosi ma che forniscono immagini al top della perfezione. Gli ingrandimenti propri degli obiettivi vanno da 2x sino a 60x per obiettivi "a secco".



Per ingrandimenti molto spinti ma che richiedono la massima risoluzione vengono proposti gli obiettivi ad immersione ove la lente frontale viene immersa in una goccia di olio di cedro posta preventivamente al disopra del vetrino copri oggetto per cui la luce proveniente dal sottostante condensatore penetra nell'obiettivo senza soluzione di continuità a tutto vantaggio di una maggiore

luminosità e di una migliore definizione dell'immagine.

In questi obiettivi la lente frontale va pulita accuratamente dopo ogni prolungata osservazione poiché l'olio di cedro essendo resinoso si dissecca compromettendo irrimediabilmente successive osservazioni.

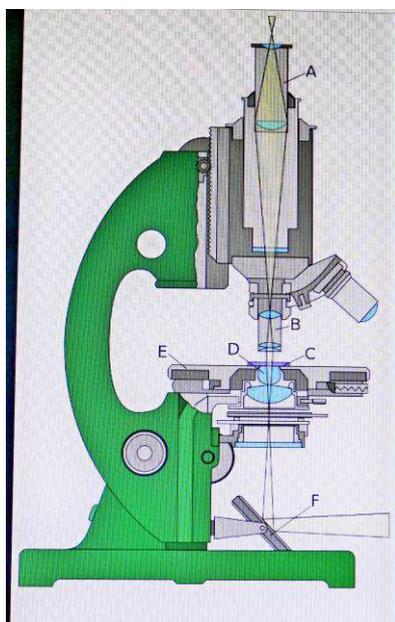
Obiettivi particolari sono stati progettati per speciali osservazioni ad esempio: in luce polarizzata, in contrasto di fase, in contrasto interferenziale differenziale ed in fluorescenza ma di questi se ne accennerà più avanti.

L'illuminazione

Anche l'illuminazione del preparato migliorò col tempo: dalla luce della candela si passò progressivamente alla lampada a petrolio (più intensa), poi a quella a gas, alle lampade al tungsteno, alle lampade alogene e ora a quelle a led che hanno il notevole vantaggio di non riscaldare il preparato durante un'osservazione prolungata.

Tra la fonte dell'illuminazione ed il preparato venne posto a partire dal 19° secolo un complesso di lenti che condensava ulteriormente la luce sul preparato permettendo osservazioni molto più spinte (la luce diminuisce coll'aumentare dell'ingrandimento). I primi condensatori erano costituiti da una sfera di vetro cava e riempita di acqua pura, poi a partire dalla metà del 1800 grazie agli studi di un geniale ottico della ditta Zeiss venne costruito un condensatore acromatico e aplanatico (detto di Abbe) ad alta correzione e luminosità tutt'ora in uso ai giorni nostri.

Lo stativo



I microscopi primitivi erano costruiti utilizzando un tubo di legno o di cartone contenente il sistema ottico e fissato in modo da poter scorrere verso l'alto o verso il basso ad un'asta di legno o metallica a sua volta inserita in modo stabile in una spessa base di legno che fungeva da piedistallo al disotto del tubo ottico, un piccolo tavolino, forato in centro, fungeva da appoggio per il preparato da osservare in trasparenza.

Un sottostante specchietto orientabile indirizzava la luce attraverso il foro illuminando il preparato posto sul tavolino, questo schema costruttivo rimase pressoché invariato sino ai giorni nostri anche se tecnicamente migliorato con l'impiego di materiali metallici quali ottone, ferro o ghisa verniciati e più recentemente una particolare materia plastica molto resistente anche se le parti scorrevoli o soggette ad usura restano comunque metalliche.

Nel 19° secolo con l'avvento delle lenti acromatiche che eliminavano i fastidiosi aloni colorati circondanti l'oggetto osservato, l'immagine divenne più nitida migliorando in modo

prima impensabile l'osservazione.

Gli ingrandimenti poterono superare agevolmente le 500 volte e con particolari obiettivi anche i mille ingrandimenti sempre mantenendo una qualità d'immagine piuttosto elevata. Tali microscopi permisero a studiosi come Pasteur di scoprire i minuscoli agenti patogeni di malattie come colera, carbonchio, rabbia.

Le case costruttrici rivaleggiarono migliorando oltre all'ottica anche la forma e la stabilità degli stativi utilizzando anziché cartone e legno, metalli come ottone lucidato o ghisa smaltata, quest'ultima dall'inizio del 20° secolo.

Strumenti molto elaborati furono costruiti per i potenti del tempo, per arricchire le loro wunderkammer (stanze delle meraviglie) che contenevano ogni sorta di stranezze e oggetti naturalistici.



Alcuni (pochi) furono costruiti in argento. Famoso quello costruito da Adams (1761) per il re Giorgio III° d'Inghilterra, monumentale e spettacolare, alto circa 60 cm in argento massiccio con la parte statica riccamente decorata. L'uso dello strumento risultava estremamente complicato e dubito che il re l'abbia utilizzato più di una volta.

Le case costruttrici

Non sarebbe storia se non venissero citate le numerose case costruttrici che si sono avvicinate nei secoli per la produzione artigianale o industriale di ottimi microscopi migliorandone continuamente le prestazioni.

All'inizio del diciassettesimo secolo il microscopio venne utilizzato soprattutto in Inghilterra e questo primato durò sino all'epoca vittoriana. Sono famosi i microscopi costruiti da Marshall (1665) per Hooke e da altri

fabbricanti: Martin ((1750), Jones, Culpeper, Cuff e Adams sino alla fine del 1700. Nel 1800 si distinsero costruttori quali Cary, Jones, Power e Leland, Ross e ancora ,Beck, Swift e Watson. Questi ultimi continuarono a produrre sino a quasi i giorni nostri.

Nel secolo 19° si diffuse in Europa il modello continentale adottato da affermate case costruttrici in Germania: Zeiss e Leitz e in Austria la Reichert (ora accorpata con l' American Optical) che ancora a tutt'oggi dominano coi loro prodotti il mercato mondiale. Altri paesi europei quali l'Olanda, la Francia, e la Repubblica Ceca, produssero ottimi strumenti ma complessivamente meno diffusi.

Tra le case costruttrici europee va citata la svizzera Wild (ora accorpata alla Leitz) che oltre alla produzione di eccezionali strumenti topografici e fotogrammetrici, dalla metà del secolo scorso ah prodotto microscopi di assoluta qualità impiegati in molti prestigiosi istituti di ricerca.

In Italia si produssero microscopi sin dal secolo 17° ad opera di costruttori artigiani quali Campani, Divini e dallo stesso Galileo (ma per uso personale). Tali strumenti vennero impiegati con successo nelle ricerche scientifiche ed in medicina.

Nell'Ottocento sono rimasti famosi i microscopi costruiti dall'ottico e astronomo Amici ed anche quelli di Koristka (un valente tecnico della tedesca Zeiss trasferitosi in Italia). La ditta Koristka si fuse in seguito con le allora nascenti Officine Galileo che produssero sino agli anni 70 del secolo scorso ottimi microscopi.

In America a partire dall'800 si costruirono microscopi su modelli di case costruttrici europee e talora in collaborazione con queste. Ricordiamo fra tante le case costruttrici Smith, Spencer, Bausch e Lomb, e Zentmaier. Alcuni di questi costruttori sono tutt'ora produttivi (Spencer, Bausch e Lomb e più recentemente American Optical).

In Giappone a partire dai primi anni del secolo scorso si produssero microscopi in pratica copiati dai modelli europei e venduti a prezzi decisamente concorrenziali. Negli anni successivi furono migliorati al punto che a tutt'oggi risultano tra i migliori del mondo. Le case costruttrici meritevoli di citazione sono Nikon e Olympus e che producono ancora ottimi strumenti per la scienza e l'industria.

Da alcuni anni anche la Cina si sta affacciando al mercato della microscopia mondiale producendo ottimi strumenti dal prezzo decisamente concorrenziale e costruendo inoltre per famose case europee che minacciano di dover cessare la produzione a causa dell'alto costo della mano d'opera specializzata nei loro rispettivi paesi.

La lotta alle malattie epidemiche

Nel secolo 19° Pasteur, Herlich e Koch hanno potuto studiare e debellare malattie da agenti patogeni, (rabbia, carbonchio, tubercolosi, malaria, sifilide, prima curate con metodi empirici di dubbia efficacia) grazie ai progressi dei microscopi ormai otticamente quasi perfetti.

Nel secolo 20° Sabin e Fleming scoprirono gli agenti causa di terribili malattie quali la poliomielite e la setticemia concorrendo alla loro eliminazione su scala mondiale.

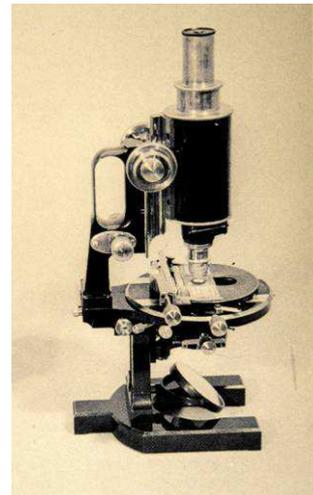
I microscopi da fine 800 ai giorni nostri



Microscopio Leitz



Microscopio Watson



Microscopio Zeiss



Microscopio Zeiss

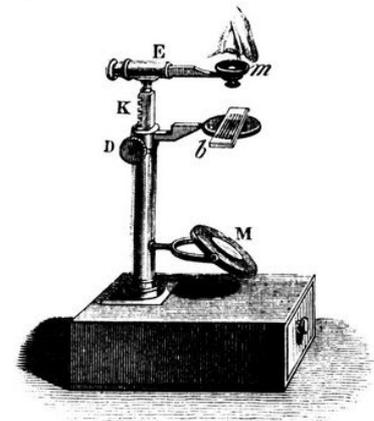


Microscopi made in China



I microscopi da viaggio

A partire dalla metà del 1700 furono costruiti e venduti numerosi piccoli microscopi da viaggio con lenti semplici a basso ingrandimento ad uso di botanici e naturalisti per le loro ricerche sul campo o per effettuare dissezioni di vegetali o piccoli animali. Questo tipo di strumento, ammodernato, è usato anche ai nostri giorni da alcuni ricercatori.



Il microtomo



Se si vogliono osservare in trasparenza oggetti per loro natura piuttosto spessi, occorre ridurli in fettine sottilissime, alcuni micron, che, opportunamente preparate, verranno poste tra due vetrini porta oggetto e copri oggetto e quindi osservate al microscopio. Per fare ciò è stato costruito un particolare strumento simile ad una precisissima affettatrice in grado di ricavare dall'oggetto da studiare le fettine anzidette.

Se l'oggetto è piuttosto consistente può essere inserito in un apposito morsetto e tagliato mediante la lama scorrevole verso di esso. Se l'oggetto è costituito da parti molli allora occorre irrigidirlo inglobandolo in paraffina liquefatta al calore e che raffreddandosi solidifica.

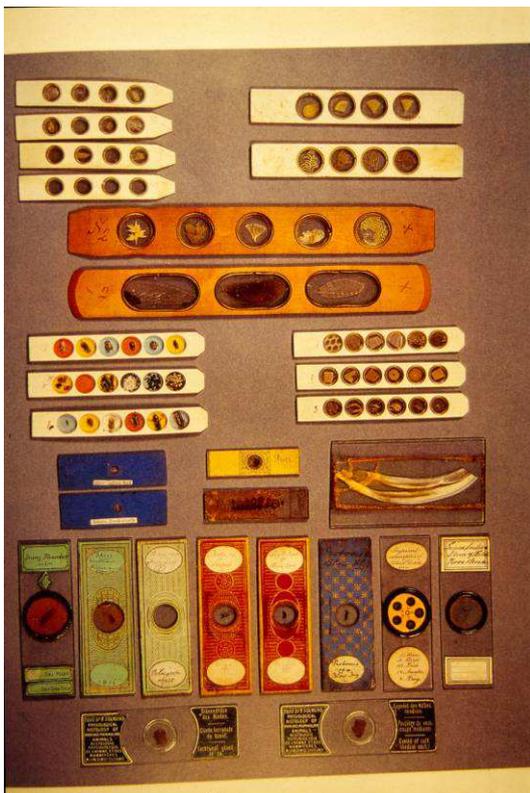
E' anche possibile congelare l'oggetto spruzzandolo di anidride carbonica liquida e quindi affettare immediatamente prima che scongeli.



La preparazione dei campioni così ottenuti è lunga e complessa prima di poter ottenere un preparato stabile, poterlo inserire tra i due vetrini summenzionati e fissarlo con apposite resine naturali o sintetiche per conservarlo in modo perfetto nel tempo.

Il complicato processo della preparazione (colorazione, disidratazione, fissaggio, ecc) viene ormai eseguito in modo completamente automatico.

I preparati microscopici



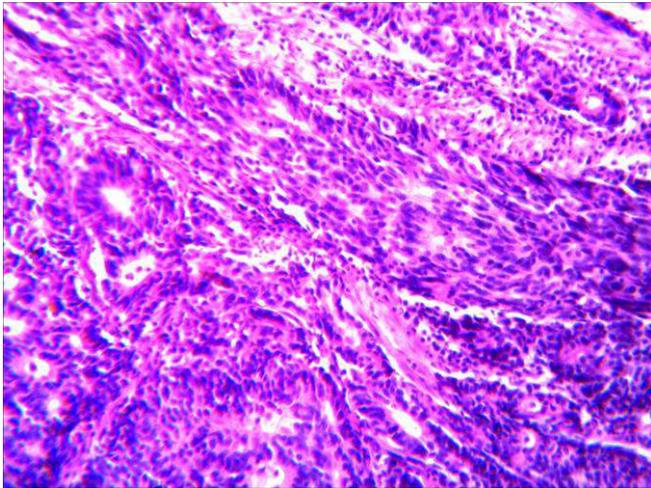
A partire dal 1700 si iniziò ad allestire preparati stabili per permettere osservazioni anche distanti nel tempo a tale proposito gli oggetti da osservare furono ridotti a spessori e dimensioni minime immersi in una goccia di una particolare resina naturale detta balsamo del Canada' posta su di un vetrino di buon spessore detto portaoggetti ricoprendo poi il tutto con un altro vetrino detto copri oggetto molto più sottile e di dimensioni più ridotte.

Su apposite etichette incollate al porta oggetto venivano date le informazioni riguardanti il campione da esaminare. Queste tecniche conservative, anche se con diverse modalità di allestimento, sono in uso anche ai giorni nostri. Ciò che è variata nel tempo è la tecnica della preparazione dei campioni, sempre molto complessa, e che ora viene eseguita, soprattutto per i materiali istologici, in modo totalmente automatico.

Serie di vetrini per microscopia allestiti dal 1700 al 1800 e ora oggetto di collezionismo

Le tecniche osservative

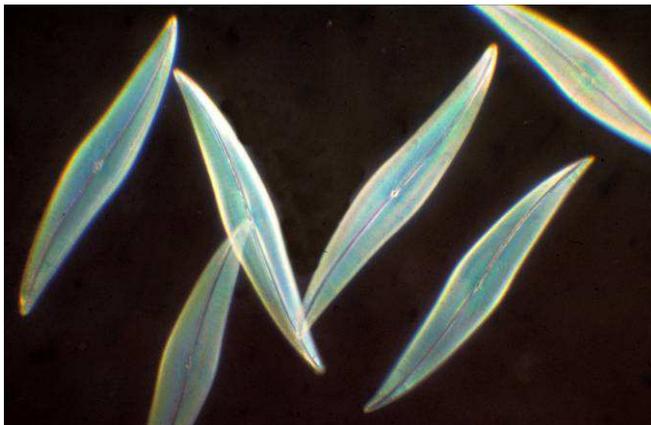
Per aumentare il contrasto dell'immagine osservata al microscopio ottico sono state escogitate diverse tecniche e le più note sono qui sotto elencate:



Cellule tumorali dello stomaco umano

La colorazione

L'assorbimento di specifici coloranti da parte dei tessuti animali o vegetali che possono mettere in evidenza i componenti della cellula (es: nuclei e altri organuli) di solito indistinguibili con la sola illuminazione per trasparenza.

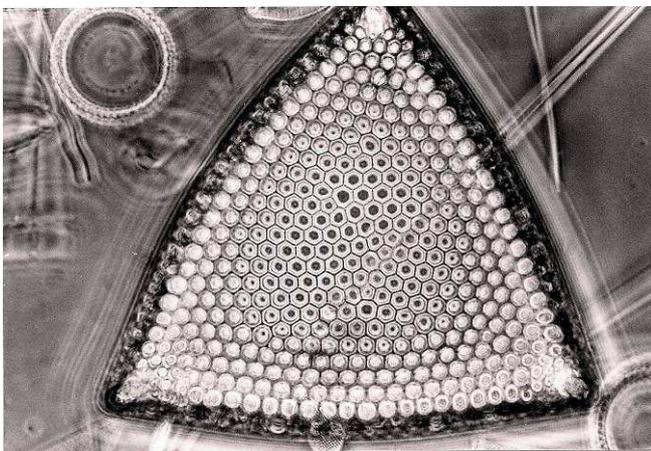


Diatomee del genere Pleurosigma

Il campo scuro

Un particolare tipo di condensatore, occluso nella sua parte centrale, crea un anello luminoso periferico che si concentra sull'oggetto da osservare lasciando però lo sfondo completamente oscuro come risulta evidente nella fotografia.

Esso è particolarmente utile per l'osservazione di oggetti particolarmente trasparenti che in campo chiaro risulterebbero poco visibili.



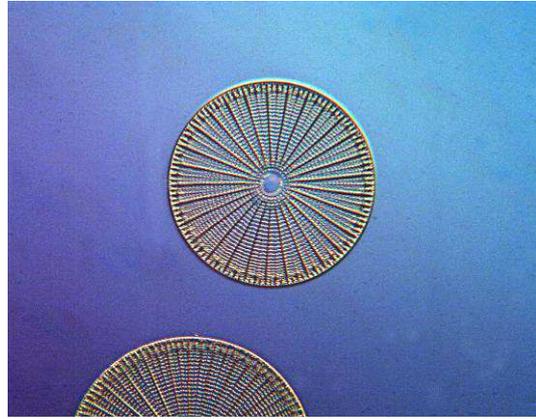
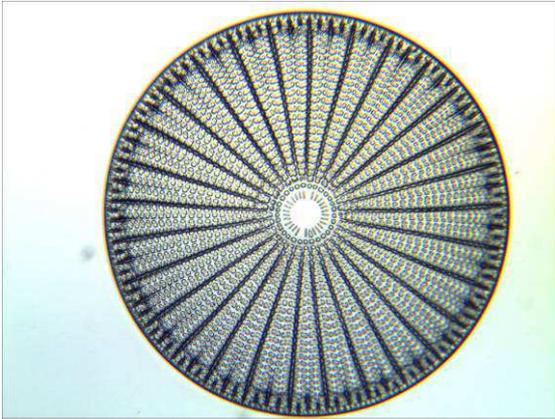
Diatomee del genere Triceratium

Il contrasto di fase

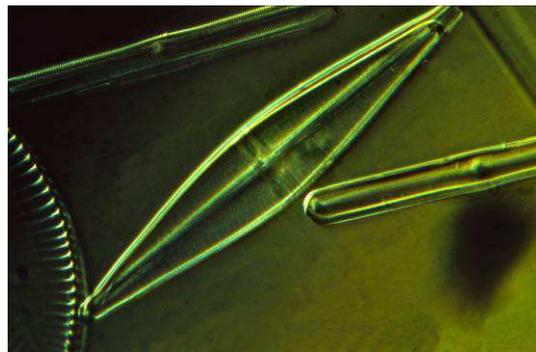
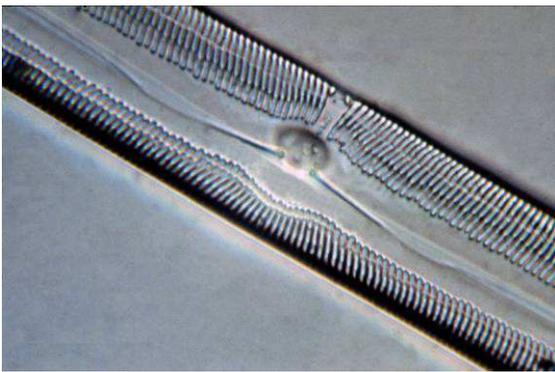
Mette otticamente in evidenza le strutture del campione senza dover ricorrere alla colorazione ma sfruttandone le differenze dei costituenti, mediante anelli, detti appunto "di fase", posti all'interno di particolari obiettivi e nel condensatore. Questi producono una particolare deviazione nel percorso ottico della luce visibile evidenziando le differenze strutturali del campione. L'immagine che si produce risulta chiara in campo grigio ma a volte con una serie di fastidiose alonature di contorno difficilmente riducibili.

Il contrasto interferenziale differenziale (dic)

(Nomarski 1952) che è un sistema ottico particolarmente complesso e costoso col quale si produce un'immagine dove l'oggetto appare in bianco e nero su fondo grigio. Grazie ad un'illuminazione obliqua il campione in esame appare tridimensionale con luci ed ombre ma senza l'alone di diffrazione prodotto dal contrasto di fase. Con questo sistema si producono sensazionali fotografie che spesso vengono premiate in importanti concorsi fotografici.



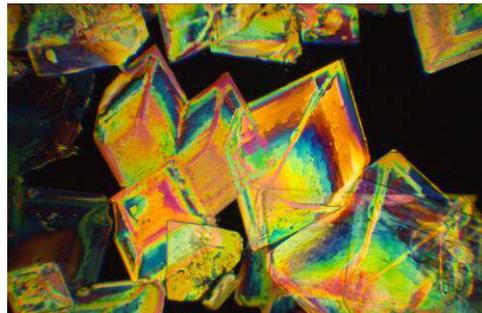
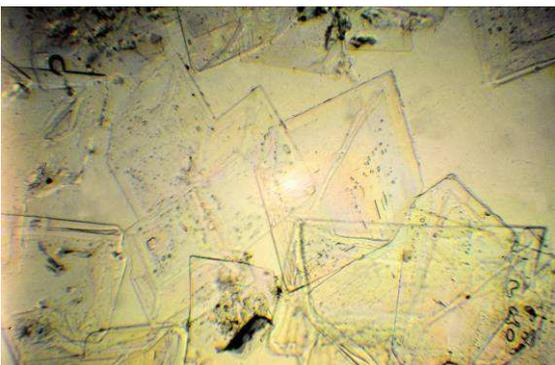
Diatomea del genere Aracnoidiscus: in campo chiaro e in contrasto interferenziale



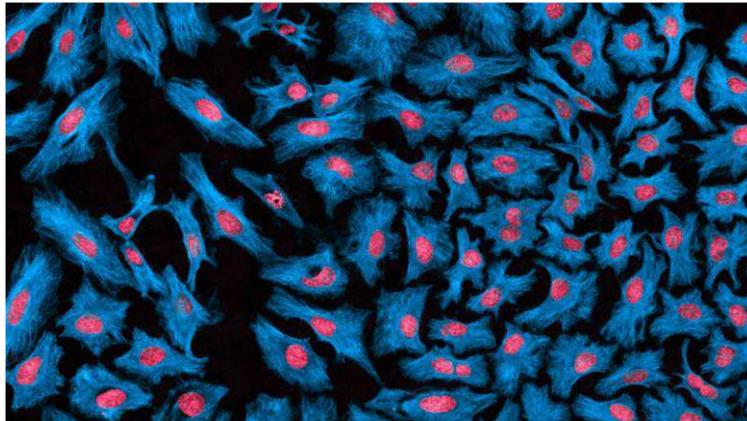
Diatomea del genere Pinnularia

Diatomea del genere Stauroneis

Il microscopio polarizzatore (o mineralogico), in uso sino dal 19° secolo che permette, mediante filtri polarizzanti (analizzatore e polarizzatore posti al disopra e al disotto del campione) di individuare i minerali componenti la roccia in analisi. Essa, dopo essere stata debitamente ridotta a spessori micrometrici mediante lapidellatura, può venire osservata per trasparenza. I filtri polarizzatori incrociati a 90° permettono il passaggio di una particolare onda polarizzata che, colpendo il minerale in esame, induce il minerale ad emettere un proprio specifico colore che lo identifica in modo inequivocabile. In pratica ogni minerale ha un suo colore di interferenza, tranne il quarzo che risulta perfettamente incolore.



Infine il microscopio a fluorescenza utile nelle ricerche oncologiche. Mediante l'impiego di specifici marcatori fluorescenti si rendono visibili i componenti della cellula tumorale eccitata con una particolare lunghezza d'onda la quale permette il riconoscimento di molecole su base immunitaria sfruttando le reazioni antigene-anticorpo.



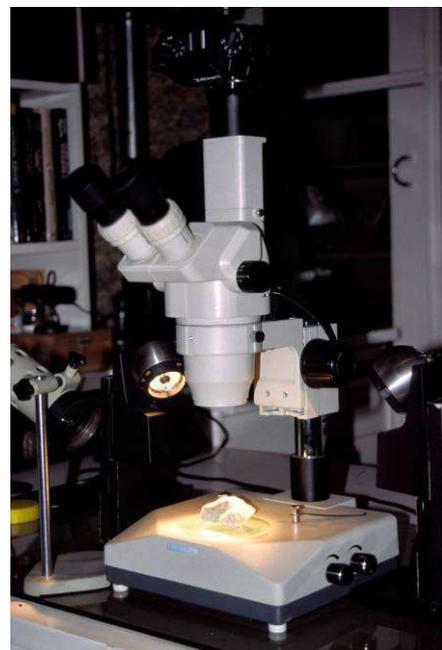
Il microscopio binoculare:

Per la dissezione e l'osservazione di oggetti di maggiore dimensione furono costruiti microscopi bioculari e biobiettivi che davano una immagine stereoscopica dell'oggetto in esame con ingrandimenti che raggiungevano un massimo di 100x.

Questi microscopi sono tuttora impiegati in campo scientifico o industriale per il montaggio di minuscoli componenti meccanici o elettronici.

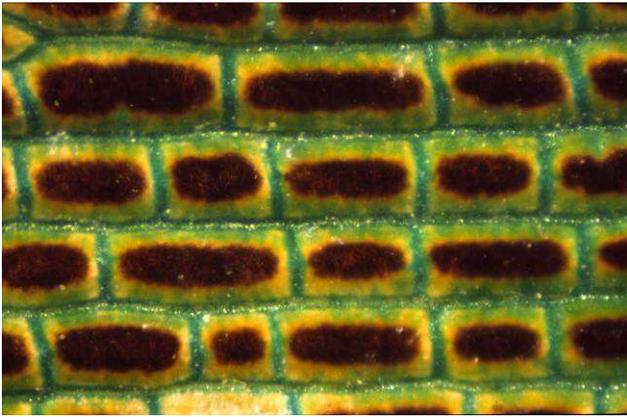
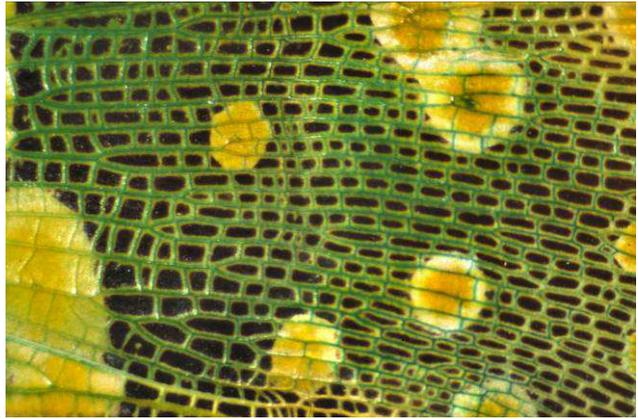


Microscopio fine Ottocento con obiettivi intercambiabili



Moderno microscopio zoom

Esempi di immagini fotografate con un moderno microscopio zoom:

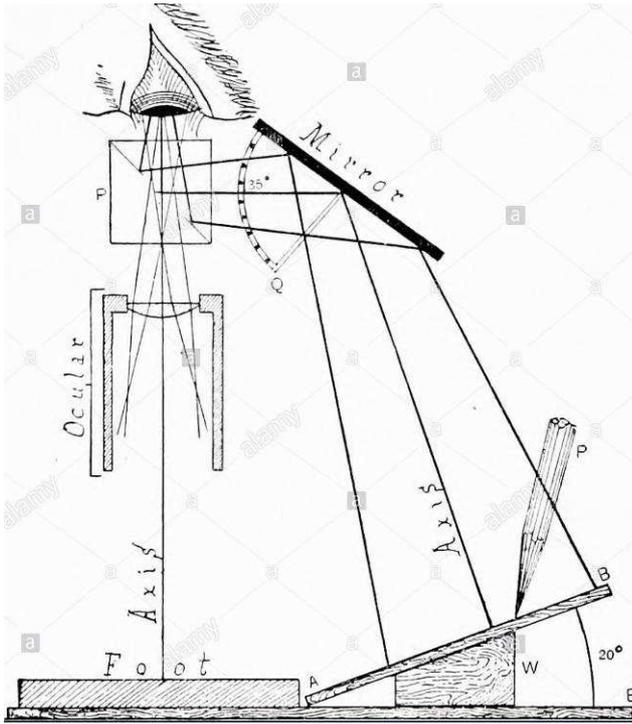


Cicala thailandese del genere Fulgora



Curculionide (coleottero) thailandese

La riproduzione delle immagini



si potevano seguire i contorni e disegnare i particolari dell'oggetto osservato.

Gli antichi micrografi anche se validi disegnatori, riproducevano ciò che osservavano dando il più delle volte fantasiose interpretazioni personali (es. lo spermatozoo a forma di omuncolo rannicchiato come un microscopico feto dotato però di coda) alterando così la vera forma del soggetto.

Con l'avvento della proiezione delle immagini in camera oscura (1700 circa) seguendo i contorni dell'immagine proiettata su di un foglio da disegno e le figure così riprodotte risultarono molto più realistiche

Con la camera lucida, perfezionata verso la fine di quel secolo, le immagini potevano essere riprodotte mediante disegno in piena luce in quanto, con un particolare sistema di prismi e specchi applicati all'oculare, l'immagine dell'oggetto da riprodurre si sovrapponeva otticamente all'immagine della mano munita di penna e posata sul foglio da disegno dopodiché

Il microscopio fotografico

Sin dalle metà del 1800 con l'invenzione della macchina fotografica si poterono scattare fotografie che purtroppo esigevano pose piuttosto lunghe data la bassa sensibilità delle emulsioni allora disponibili e alla bassa luminosità delle lampade impiegate come sorgenti luminose. Con ciò era possibile la fotografia di oggetti assolutamente inanimati.

In tempi recenti, grazie al potenziamento delle sorgenti luminose (alogene e led) i microscopi bioculari sono stati dotati di un terzo oculare su cui innestare macchine fotografiche con pellicola ad alta sensibilità che permettevano di catturare un'immagine dal vivo, e in tempo reale, durante il corso dell'osservazione stessa.

Con l'avvento delle macchine fotografiche digitali l'immagine osservata può essere acquisita e immagazzinata nella memoria del computer oppure proiettata nello stesso istante su uno schermo e condivisa con altri studiosi o spettatori.



Il microscopio elettronico a trasmissione e a scansione

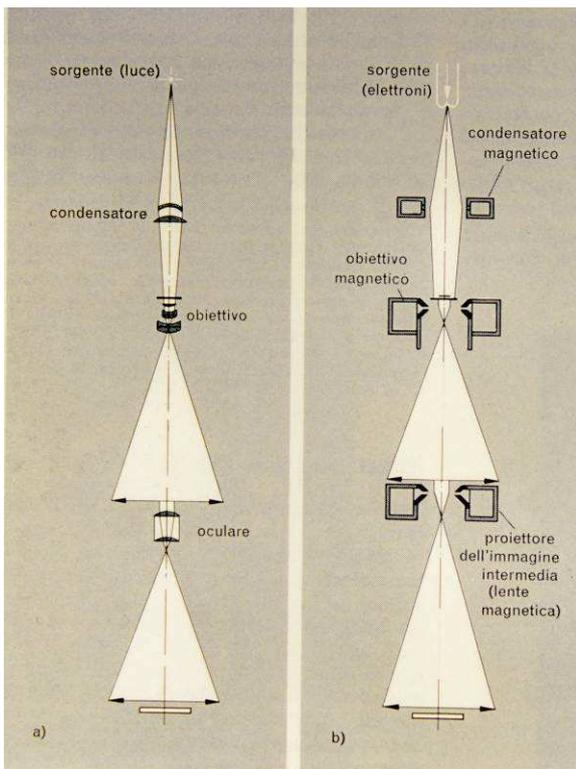


Illustrazione schematica a confronto del microscopio ottico e del microscopio elettronico a trasmissione.



microscopio elettronico a trasmissione (TEM)

A causa della limitazione del potere separatore dovuta alla natura fisica delle lenti in vetro si è pensato di superare l'ostacolo utilizzando lenti magnetiche che permettono il passaggio di minori lunghezze d'onda a tutto vantaggio della risoluzione dei dettagli sino a circa un milione di ingrandimenti, utilissimi per scoprire la natura intrinseca dell'oggetto osservato e di alcuni agenti patogeni quali i virus, prima solamente supposti e che sfuggono tuttora all'osservazione col microscopio ottico.



microscopio elettronico a scansione (SEM)

A tale proposito furono studiati e realizzati a partire degli anni 30 in Germania i microscopi elettronici a trasmissione (TEM) e in seguito i microscopi elettronici a scansione (SEM) che permettono di ottenere immagini tridimensionali dell'oggetto osservato anche oltre i 100 mila ingrandimenti.

L'unico inconveniente è che il campione oggetto di osservazione, se non è metallico, risulta perfettamente trasparente al raggio elettronico che lo esamina e pertanto invisibile. Per ovviare il problema l'oggetto deve essere rivestito di uno strato infinitesimo di particelle metalliche facendo evaporare elettricamente e istantaneamente all'interno di una campana di vetro, nella quale è stato creato il vuoto quasi

assoluto, un frammento di metallo purissimo creando un plasma che si deposita in strato monoatomico sul preparato da osservare, senza alterare struttura dell'oggetto e definizione dell'immagine.

Il microscopio a scansione fu realizzato a partire dagli anni 40 del secolo scorso grazie alle tecniche di scansione delle immagini studiate e realizzate per le emissioni televisiva commerciali e poi utilizzate anche per altre applicazioni nel SEM un pennello elettronico sottilissimo analizza una piccolissima parte della superficie del campione suscitando l'emissione di elettroni che compongono un'immagine elettronica del soggetto ingrandita notevolmente e che captata da una sonda sensibile viene trasferita ad uno schermo televisivo ch la rende visibile all'osservatore.

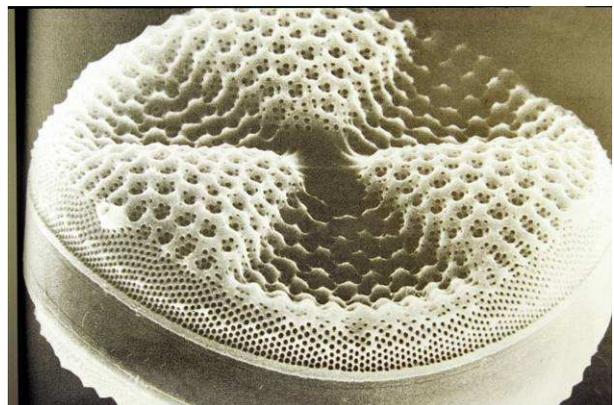
La manipolazione di questi delicati e costosissimi strumenti non è certo alla portata dei comuni ricercatori; essi vanno gestiti da tecnici altamente specializzati pena il danneggiamento dello strumento stesso.

**Immagini a confronto:
diatomee osservate al microscopio ottico e al microscopio elettronico**

Diatomea del genere Auliscus:



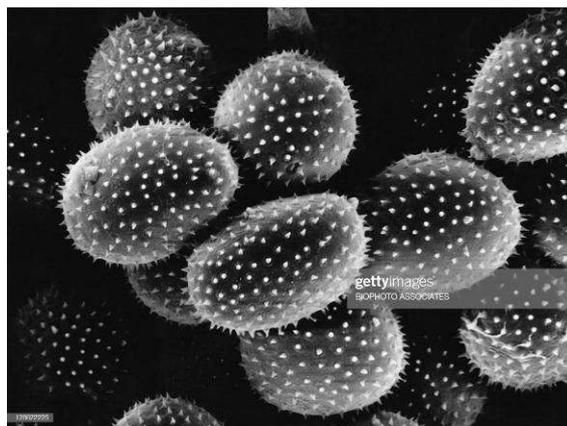
Diatomea del genere Actinoptycus:



Cristalli di neve fotografati col microscopio ottico e col microscopio elettronico a scansione



Spore fungine



Non ci è dato sapere quali sorprese ci riserverà la tecnologia del futuro ma certo ci rendiamo conto che in poco più di 50 anni la microscopia ottica e soprattutto elettronica ha fatto progressi inimmaginabili per gli scienziati dell'inizio del XIX° secolo.

A conclusione di questo lavoro intendo dare un'ulteriore informazione sul numero degli artigiani e delle case costruttrici di microscopi nel mondo a partire dalle origini.

Questi dati sono tratti da un lungo elenco ragionato (18 pagine) ad opera del dr. Giovanni Pietro Sini, (autore tra l'altro di numerose e dettagliatissime pubblicazioni sull'ottica dei microscopi) e reperibile in internet alla voce "Elenco di costruttori di microscopi ottici dalle origini alla seconda metà del 1950".

PAESE D'ORIGINE	N° DEI COSTRUTTORI	DATA INIZIO ATTIVITA
Austria	3	1840
Belgio	2	1830
Cecoslovacchia	1	1900
Francia	21	1620
Germania	46	1660
Giappone	3	1920
Inghilterra	85	1650
Italia	11	1610
Olanda	15	1610
Polonia	2	1900
Portogallo	1	1840
Russia	5	1900
Svizzera	3	1900
USA	13	1830

RINGRAZIAMENTI :

Se non fosse stato per il Dr. Roberto Giuffrida che mi ha invitato a tenere una conferenza sulla storia del microscopio al Gruppo Micologico Torinese, del quale egli ne è il Presidente, questo trattatello non avrebbe mai visto la luce e pertanto gliene sono grato.

Un particolare grazie anche al Dr. Paolo Apicella, oltre che medico anche valente micologo, per l'aiuto datomi nella stesura del presente lavoro.

Ringrazio inoltre il Prof Marco Galloni docente di Anatomia Veterinaria all'Università di Torino e caro amico da decenni, per la rilettura del testo e la descrizione di particolari tecniche di microscopia elettronica a me ignote.

Infine un affettuoso grazie va a mia moglie che con infinita pazienza ha provveduto ad elaborare testo e fotografie al computer di casa, cosa per me assolutamente ostica e pertanto ineseguibile.

Alcune delle fotografie presenti nell'opera sono dell'autore, altre sono state tratte da testi in mio possesso e altre da quello sterminato serbatoio di notizie che è internet.

Non ho ritenuto necessario stilare un elenco bibliografico delle numerosissime pubblicazioni di microscopia presenti in letteratura poiché le elementari informazioni presenti nel testo fanno perlopiù parte del mio bagaglio culturale o provengono da informazioni datemi dagli amici succitati o ancora dalla ulteriore consultazione di tali argomenti in internet.

Antonio Martinotti

Aprile 2019