

Microscopia ottica

Poiché la serie di articoli, di cui questo fa parte, è dedicata al microscopio composto, non tratteremo della storia della lente d'ingrandimento o microscopio semplice.

Del resto, tale storia risale alla più remota antichità e perciò i documenti riferentisi a quell'epoca sono assai scarsi ed incerti; sarebbe impossibile conoscere chi fu il primo ad usare lenti, come furono scoperte, quali ne furono le applicazioni e la tecnica costruttiva finché non si arriva al basso medio-evo.

Forse, dai fuochi accesi sopra un suolo sabbioso, l'uomo conobbe presto il vetro, ma questo era così pieno di impurezze che non era utilizzabile per costruire lenti; i primi vetri utilizzabili probabilmente risalgono alla fine del primo millennio d.c.

Semmai, l'uomo si interessò ai cristalli più trasparenti e, sfruttando la polverina ottenuta sbriciolando minerali molto duri, imparò a modificare la forma dei cristalli.

L'operazione più semplice è stata certamente quella di sfregare la polverina dura col pollice sulle facce del cristallo in modo da ottenerne una superficie concava.

Se il cristallo possiede dall'altra parte una superficie piana, ecco ottenuta una lente divergente, utile come monocolo per un miope.

Infatti Nerone, notoriamente miope, si serviva di uno "smeraldo" per assistere ai combattimenti dei gladiatori. Del resto, sono state trovate lenti negli scavi di Ercolano e Pompei.

Si sa (Plinio, Hist. Nat. XXXVII, 16, 2) che i romani sapevano costruire lenti oftalmiche positive e negative usando materiali naturali. Si parla anche di lenti ottenute da cristalli naturali e ritrovate negli scavi di Ninive, l'antica capitale dell'Assiria.

Si sa poi che in epoca romana venivano usate, per avere un'immagine ingrandita di oggetti o per concentrare i raggi solari, le bocce sferiche di vetro riempite d'acqua (Plinio, Hist. Nat. XXXVI e XXXVII; Seneca, Quest. Nat. 1,3,6,7; Aristofane, Le nuvole, atto II, sc. 1; ecc.).

Partendo dal vetro fuso, non è difficile arrivare al vetro "soffiato": basta soffiare in un tubo metallico immerso nel vetro fuso e si ricavano delle bocce cave, dei palloni in vetro.

Riempendo questi palloni con acqua si ottiene una rudimentale lente.

Colla stessa tecnica usata per le lenti divergenti ricavate da cristalli e sopra descritta, è possibile ottenere da una piastrina metallica un piccolo specchio concavo e questo, ponendovi vicino un oggetto, può restituire un'immagine (virtuale) ingrandita.

Certi lavori naturalistici sono stati eseguiti, in mancanza di lenti d'ingrandimento, proprio con specchi concavi.

Ma, tornando al microscopio composto, si può affermare che i primi esemplari descritti risalgono ai primi anni del 1600. Probabilmente, si arrivò alla scoperta del microscopio composto per due diverse vie ed all'incirca negli stessi anni.

Da una parte si partì da uno strumento "composto" già conosciuto: il telescopio ad oculare divergente; si osservò che, avvicinando lo strumento all'oggetto (ed allontanando di pari passo l'oculare dall'obbiettivo), si potevano osservare oggetti vicini e si arrivava a vederli più grandi di quanto non fosse possibile avvicinandoli fino al punto prossimo (1) dell'occhio nell'osservazione diretta. Si trattò dunque di un'estensione graduale del cannocchiale; da questo schema all'uso di un obbiettivo a corta focale il passo è breve ed il microscopio composto è già formato nei suoi elementi essenziali.

Questa prima strada fu probabilmente quella seguita dal nostro Galileo, che era già padrone dell'uso del telescopio.

Perciò risulta comprensibile perché Galileo usasse in un primo tempo come oculare da microscopio l'oculare divergente già da lui usato per il telescopio.

D'altra parte, è probabile che si sia arrivati direttamente al microscopio composto con oculare convergente partendo dalla lente d'ingrandimento, cioè da uno strumento "semplice"; si sa che, nel tentativo di aumentare l'ingrandimento e diminuire le aberrazioni della lente semplice, si erano cercate varie combinazioni di lenti semplici: due piano-convexe con le convessità affacciate, o con le convessità dallo stesso lato, o una lente biconvessa combinata con un menisco, ecc.

È possibile che, allontanando fra loro due lenti convergenti di forte potenza, qualche artigiano intraprendente alla ricerca di una lente perfezionata si sia messo involontariamente nelle condizioni di lavoro del microscopio composto: colla lente vicina all'occhio raccolse l'immagine reale creata dalla lente vicina all'oggetto; si accorse che l'ingrandimento ottenuto in questo modo era assai più forte di quello delle lenti semplici prese separatamente, ed approfondì il problema.

Questa fu probabilmente la strada seguita da qualche occhialaio o da qualche artigiano.

Decidere a chi spetti la priorità nell'invenzione del microscopio composto non è certo nostro compito; si può ammettere per intanto che diverse persone, circa negli stessi anni, o comunque all'insaputa l'una dell'altra, siano arrivate allo stesso risultato, seguendo vie diverse, o per caso, o per ragionamento.

Il nome più accreditato è certamente quello di Galileo Galilei (1564-1642) che nel 1610 avrebbe costruito uno strumento ad oculare divergente e nel 1624 regalava un "occhialino" capace di ingrandire piccoli oggetti circa 35 volte all'amico F. Cesi (1585-1630).

Quest'ultimo strumento possedeva già un oculare convergente.

Si parla molto nella letteratura straniera anche di due artigiani olandesi di Middelburg, padre e figlio, Hans e Zacharias Janssen (secc. XVI - XVII) che intorno al 1600 avrebbero costruito un cannocchiale e prima del 1619 un microscopio composto di cui un esemplare fu donato all'arciduca Carlo Alberto d'Austria.

Lo strumento sarebbe poi stato in possesso di Corneille van Drebbel (2) che ne costruì molti esemplari. Tale strumento è descritto in una lettera del 1619 di W. Boreel, ambasciatore di Olanda in Francia.

Dato però che Z. Janssen era più noto come falsario che come artigiano, e che la rivendicazione è stata fatta solo da suo figlio, la cosa è dubbia.

D'altra parte, sembra che l'invenzione del telescopio venga proprio dall'Olanda.

Uno dei nomi più noti è quello di Johannes Lippershey (o Lipperhey), nato in Prussia nel 1570 e morto nei Paesi Bassi nel 1619.

Le prime opere approfondite di microscopia e micrografia (3) che siano a noi pervenute sono quella di Giovanni Rucellai (1475-1525) che descriveva l'anatomia dell'ape studiata a mezzo di uno specchio concavo (pubblicazione postuma, 1539); quella di Georges Hoefnagel (o Hufnagel)(1545-1617) di Francoforte, autore di un'interessante ricerca sugli insetti, che comparve nel 1592 con 50 incisioni su rame; e tutte le opere di Antony van Leeuwenhoek di Delft (Olanda, 1632-1723) che vertono su tutti i rami delle scienze naturali e sono ricavate da osservazioni con una lente semplice sferica da lui costruita.

Queste opere sono ricche di acute osservazioni, specie quelle di Leeuwenhoek, che scoprì e studiò innumerevoli micròbi (4), come Flagellati, Ciliati e persino batteri, e va considerato come il più grande osservatore di tutti i tempi.

Tutte le opere citate furono però scritte in base ad osservazioni eseguite con sistemi semplici: specchi concavi, lenti piano-convesse, lenti sferiche, ecc.

La prima vera opera basata sull'uso del microscopio composto è la "Micrographia" dell'inglese Hobert Hooke (1635-1703), pubblicata a Londra nel 1665 e riedita quarant'anni fa (nel 1964) a cura della Dover Publications Inc. New York, che la mise in vendita al prezzo di due dollari.

Lo strumento costruito da Hooke era costituito da tre lenti biconvesse ed una boccia sferica piena d'acqua che serviva a concentrare il fascio illuminante sull'oggetto.

L'oggetto era illuminato da sopra. Mancava un vero tavolino nonché lo specchio sotto il tavolino.

Se la micrografia esisteva già nel 1500, il microscopio composto nasce dunque fra il 1600 ed il 1620.

Un primo periodo della sua storia si può considerare quello precedente la scoperta dell'acromatismo (5): nel periodo fra il 1600 e gli inizi del 1800, per circa due secoli, i microscopi composti subirono continui perfezionamenti meccanici ed arrivarono ad un notevole grado di raffinatezza e di complessità, ma la qualità dell'immagine ottenuta era scadente poiché le aberrazioni, in particolare la cromatica, non erano corrette.

Fu questa deficienza sul piano ottico, assieme alla diffidenza di tutto l'ambiente accademico verso gli strumenti ottici, che impedì la diffusione del microscopio composto prima del 1800.

Il fenomeno della riflessione, capace di creare immagini virtuali, di mostrarci oggetti dove non ci sono, rendeva sospetti i dati della percezione visiva; alla visione si chiedeva una conferma, come quella che può venire dal tatto.

Quello che si vedeva nel microscopio poteva essere una "fallacia", ed il tatto non ce ne poteva dare conferma.

I più ad usare lo strumento erano di conseguenza non studiosi ma dilettranti, nobili o persone di mondo, che trovavano nello strumento l'occasione di osservazioni "curiose e divertenti". Ed infatti i microscopi erano allora concepiti come oggetti di lusso, finemente ornati, cesellati e scolpiti.

La forma degli strumenti era assai varia: con supporto a treppiede, o fissati su una scatola a cassetta, oppure orizzontali, spesso da tenere in mano dirigendoli verso una sorgente, ecc.

Non ci sembra necessario descrivere la varietà degli strumenti creati in questo primo periodo; citiamo solo i costruttori più abili e rinomati: R. Hooke (1656) già citato, gli italiani F. Fontana (1618 ?) e Campani (fra il 1650 e il 1700) di cui si hanno scarse notizie, E. Divini (1670 ?), Tortona (1685), Grindl von Asch (Nuremberg, 1687), Bonanni (1688, 1691), Zahn (1701), Marshall (1704), Conradi (1710), Hertel (1712), Joblot (1716), Culpeper (1725).

In questo periodo vengono definite le caratteristiche essenziali degli stativi e l'aspetto generale degli strumenti, che si conservano in buona parte ancor oggi.

Da notare che, parallelamente, continua il perfezionamento dei microscopi semplici; citiamo anche qui solo qualche nome: Cartesio (1637) che costruisce vari strumenti con illuminatore a specchio concavo, P. Kircher (1646), Gaspar Schott (1658), Hartsoeker (1666), Wilson (1702), Joblot (1716), Cuff (1756), ecc.

Si ha uno sviluppo parallelo anche dei microscopi (composti) bioculari: già nel 1671 ("Diottrica oculare") e nel 1677 ("Visione perfetta") un monaco chiamato Cherubino D'Orléans descrive nelle sue opere i suoi strumenti bioculari, l'uno verticale, l'altro orizzontale.

Analogo strumento è costruito da Zahn nel 1702.

Ma la situazione dei sistemi ottici è poco soddisfacente: la sola correzione delle aberrazioni è cercata nell'uso di diaframmi, che abbassano la luminosità e la risoluzione, e spesso riducono il campo.

Ed ora arriva il grande salto.

Fin dal 1747, L. Eulero si era posto il problema della correzione del cromatismo nei cannocchiali; anche Fraunhoffer (1752) se ne occupa.

Contro le affermazioni di Newton, che lo considerava impossibile, si ha una prima soluzione del problema nel 1757 ad opera del londinese John Dollond (attribuzione contestata dai suoi contemporanei: esistono i documenti di azioni legali in merito) e nel 1760 di Létang.

Coll'inizio della costruzione di obbiettivi acromatici per microscopio (primi decenni del 1800, sembra ad opera di costruttori inglesi) ha inizio il secondo periodo della storia del microscopio composto, quello che vede i maggiori miglioramenti alle prestazioni della parte ottica. Tale periodo di miglioramenti si può dire non ancora terminato.

Si iniziò con l'uso di doppietti e poi di triplette acromatici per gli obbiettivi deboli; poi il Lister diffuse gli obbiettivi a 2 o 3 doppietti.

Gli obbiettivi di Lister si potevano decomporre in modo che, togliendo uno o due dei doppietti, si potesse ottenere un obbiettivo di potenza complessiva minore.

Per permettere questa decomposizione dell'obbiettivo, era necessario che ognuno dei doppietti fosse singolarmente corretto nel modo migliore possibile, in modo che l'accoppiamento di due o più doppietti desse sempre lo stesso rendimento di ogni singolo doppietto.

Ma con un solo doppietto (o con l'unione di più doppietti singolarmente corretti) non è possibile correggere l'astigmatismo né la curvatura di campo.

Si arrivò così al progetto di obbiettivi costituiti di due o tre doppietti non scindibili, calcolati in modo da diminuire con un elemento le aberrazioni dell'altro.

L'obbiettivo diviene così un sistema ottico unitario (6).

Ma questa soluzione non permetteva di raggiungere corte focali e quindi forti ingrandimenti, anche se certi costruttori arrivavano a combinare assieme cinque o sei doppietti: per ragioni pratiche, non si riusciva a produrre un doppietto con forte potenza, vale a dire con forti curvature (e quindi piccolo diametro); poiché la massima potenza dell'obbiettivo deve risiedere nella lente frontale, l'uso di un doppietto nella frontale limitava l'ingrandimento a valori bassi.

La soluzione definitiva del problema fu trovata dall'italiano Giovan Battista Amici (1786 - 1863) che introdusse l'uso di una lente frontale emisferica di cortissima focale, formata di un solo elemento.

Le forti aberrazioni di tale lente erano poi corrette dalla parte restante dell'obbiettivo, che era costituita almeno da due doppietti.

Questo schema fondamentale di Amici è ancora oggi di larghissimo impiego in tutti gli obbiettivi forti, tranne che nei nuovi tipi "planari"; la sola aggiunta, che fu fatta in seguito dagli americani Spencer e Tolles, è quella di un menisco sottile convergente posto sopra alla lente frontale o fra i due doppietti, il quale migliora la correzione totale delle aberrazioni.

Altra importantissima innovazione dell'Amici fu l'uso dell'immersione (vedi oltre), risalente al 1847 (7).

Ottimi costruttori di microscopi furono poi A. Chevalier (1837) e Oberhäuser (1847) in Francia.

Ma il padre della moderna microscopia è certamente Ernst Abbe, giovane fisico tedesco che si unì alla prima impresa artigianale di Carl Zeiss, trasformando l'attività della ditta da costruzione empirica a produzione ispirata a precisi calcoli matematici (1866).

A parte le sue direttive in senso sociale ed organizzativo, la casa Zeiss poté avvalersi dei suoi amplissimi studi nel campo della microscopia e dell'ottica in generale: a lui si devono, fra l'altro, il progetto degli obbiettivi apocromatici (1886), l'introduzione del condensatore (1872) (8), la realizzazione di oculari ortoscopici, di dispositivi per il disegno al microscopio, e di tanti altri strumenti ottici e meccanici (rifrattometro, comparatore, ecc.).

Presso gli stabilimenti Zeiss di Jena operò anche dal 1900 il Köhler⁹, che si occupò a fondo di fotomicrografia e di altri problemi di ottica e di microscopia. Mise a punto un sistema ormai universalmente adottato di illuminazione per microscopi.

Altri costruttori continuarono l'opera di perfezionamento del microscopio: Ernst Leitz in Germania, che introdusse il primo sistema bioculare efficiente, Reichert in Austria, Nachet in Francia, vari costruttori in Inghilterra, ecc.

Va ancora segnalata la casa milanese Koristka, creatrice degli obbiettivi semiapocromatici.

Alla fine del '800 sono già sul mercato ottimi strumenti per radiazione polarizzata, per oggetti opachi (modelli dritti e rovesciati), per plankton (10) (dritti, con immersione in acqua, e rovesciati, per l'osservazione del fondo di microacquari).

Negli ultimi 150 anni dunque vi è stato un rapidissimo miglioramento delle caratteristiche, specialmente di quelle ottiche, del microscopio.

E negli ultimi decenni il ritmo non ha rallentato: nuove tecniche, come il contrasto di fase ed i metodi interferenziali, hanno aperto nuovi campi di applicazione; altre tecniche già note da tempo sono state migliorate: si pensi alla fluorescenza ed alla radiazione polarizzata, quest'ultima già applicata ai microscopi da Henri Fox Talbot (1834) e David Brewster; nuove formule di calcolo hanno permesso di eliminare del tutto gli svantaggi della curvatura di campo degli obbiettivi (1937, ad opera di H. Böggehold, presso la C. Zeiss).

Ed il processo non accenna ad arrestarsi.

Parti meccaniche ed ottiche vanno sempre perfezionandosi, avvalendosi degli ultimi ritrovati tecnologici ed adattandosi alle mutate esigenze dei ricercatori e dei tecnici che fanno uso di microscopi.

Basti citare i trattamenti antiriflettenti, i filtri interferenziali con tutte le loro varietà, la fluorite sintetica, le lampade ad arco compatto, le tecniche "confocali", ecc. , tutte novità degli ultimi decenni.

Se la fotografia era stata applicata al microscopio, soprattutto ad opera di A. Köhler, fin dall'inizio del '900 e la cinematografia a metà del medesimo secolo, da molti anni è entrata nel mondo della microscopia la ripresa televisiva, la manipolazione elettronica dell'immagine, l'elaborazione numerica e statistica dei dati, la fotografia digitale, ecc.

1. Il "punto prossimo" è il punto, più vicino possibile all'occhio, per il quale si può ancora realizzare la visione distinta e quindi l'accomodazione dell'occhio. Il punto prossimo è più vicino all'occhio (anche meno di 10 cm) per le persone giovani ma si allontana col crescere dell'età: l'accomodazione si riduce finché, oltre i 40 – 50 anni, si vede bene solo "da lontano". Questa riduzione dell'accomodazione è chiamata "presbiopia" e richiede, per la visione nitida "da vicino", un occhiale a lenti positive (convergenti). Col passare degli anni, sopravviene poi, spesso, una "ipermetropia fisiologica" che richiede occhiali convergenti anche nella visione da lontano.

2 .Corneille van Drebbel (1572-1634), fisico olandese.

3. "Microscopia" e "micrografia" sono termini quasi equivalenti, che indicano genericamente le attività basate sull'uso del microscopio, ma il termine "micrografia" è più generico (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia.", Capp. 1.3 ed 1.4).

4 .Generalmente si pronuncia "mìcrobì" con l'accento tonico sulla "i", ma non è corretto (basti pensare ad "a n f ì b i ").

5 .Per "acromatismo" si intende di solito la correzione dell'aberrazione cromatica longitudinale, ottenibile con risultati soddisfacenti dal classico "doppietto acromatico" (una lente convergente ed una divergente, con potenza totale non nulla, ma costruite con vetri a diversa dispersione, come la normale coppia crown-flint). L'acromatismo fu introdotto nei cannocchiali da marina da artigiani inglesi nella seconda metà del 1700. Date le piccole dimensioni delle lenti, lo stesso risultato si ottenne per il microscopio solo qualche decennio dopo, come detto nel seguito.

6 .Ancora ad un inglese (Andrew Ross, 1798 - 1859, il migliore costruttore dei suoi tempi, fondatore della "Microscopical Society of London", divenuta dopo il 1866 la "Royal Microscopical Society") si deve la simultanea correzione di aberrazione cromatica e sferica.

7. I primi obbiettivi ad immersione furono venduti a Parigi da Hartnack nel 1860 circa e perfezionati dopo il 1869 da E. Abbe su incarico di C.Zeiss (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia.", Cap. 16).

8 .Risulta però che condensatori acromatici (uno o più doppietti) fossero già stati introdotti da costruttori inglesi e dallo zoologo francese Dujardin col nome di "concentratori". Ad Abbe resta il merito di aver introdotto un condensatore semplificato a due lenti singole, che porta ancora il suo nome.

9 .August Köhler (1866 - 1948), zoologo tedesco.

10. Il plankton è l'insieme degli organismi acquatici, animali e vegetali, quasi tutti molto piccoli, che vivono sospesi in acqua, anche capaci di nuotare, ma non di contrastare i movimenti delle correnti o del moto ondoso. Si contrappone al "nekton", l'insieme degli organismi capaci di contrastare i moti dell'acqua, ed al "benthos", l'insieme degli organismi che vivono fissati od in contatto col fondo.