

MARTINA SINATRA 5[^]D

LICEO SCIENTIFICO LEONARDO DA VINCI

ANNO SCOLASTICO 2016-2017

Sotto la lente del microscopio



🚩 MOTIVAZIONI

Ho scelto di affrontare questo argomento nella mia tesina perché il microscopio è stato uno strumento molto importante per quanto riguarda l'approfondimento della conoscenza della struttura e del funzionamento del nostro organismo, ma anche nella conoscenza del mondo circostante tramite l'osservazione dei primi organismi unicellulari, fino ad arrivare alle osservazioni più sorprendenti come quella dell'atomo. Inoltre risulta un approfondimento utile per quanto riguarda ciò su cui vorrei concentrarmi nei prossimi anni, ovvero le biotecnologie, dove l'uso del microscopio è essenziale.

🚩 LA STORIA DEL MICROSCOPIO

IL MICROSCOPIO OTTICO

- La scoperta dei primi concetti base che riguardano il funzionamento del microscopio ottico risalgono a tempi molto antichi: l'idea che, osservando qualcosa interponendo una lente di cristallo, l'immagine sarebbe apparsa più grande e che, in presenza di sole, l'oggetto osservato poteva essere incendiato, era già stata concepita dagli antichi greci.
- In seguito a studi più approfonditi, si iniziarono a costruire i primi veri e propri strumenti: il primo semplice microscopio era composto da una lente, un tubo e un piattino sul fondo. Ciò dava circa 10 ingrandimenti.
- Un altro passo avanti si fece nel 1590, quando due olandesi, Zaccharias Janssen (1585-1632) e suo figlio Johannes, osservarono che, aumentando il numero delle lenti in un tubo e regolandone la distanza e la grandezza, l'oggetto osservato diventava incomparabilmente più grande.
- Dopo circa tre quarti di secolo, la pubblicazione nel 1665 della "Micrographia" di Robert Hooke (1635-1703) risveglia l'interesse di molti scienziati verso il microscopio, grazie anche alla precisione nelle osservazioni e a dettagliate tavole illustrate.
- Intorno agli anni '70 del Settecento si erano già diffusi i primi microscopi ottici composti, ovvero provvisti di più lenti.
- Una svolta in campo microbiologico si ebbe con Antoni van Leeuwenhoek (1623-1732), un ricco commerciante di stoffe. Studiando da autodidatta raggiunge un'abilità insuperata nel taglio delle lenti, ottenendo degli ingrandimenti molto superiori a quelli degli altri microscopisti: potevano infatti arrivare fino a circa 300 ingrandimenti. Nell'estate del 1674 Leeuwenhoek decide di testare le sue lenti presso uno stagno nel quale scoprì la presenza di piccolissimi organismi. Leeuwenhoek pubblica le sue osservazioni: sono i primi lavori in cui vengono descritti protozoi e batteri e hanno una risonanza enorme.
- In seguito lo strumento continuò ad essere perfezionato fino a raggiungere la composizione dei microscopi ottici attuali.

IL MICROSCOPIO ELETTRONICO

Per quanto riguarda il microscopio elettronico, dobbiamo prendere in considerazione tempi più recenti:

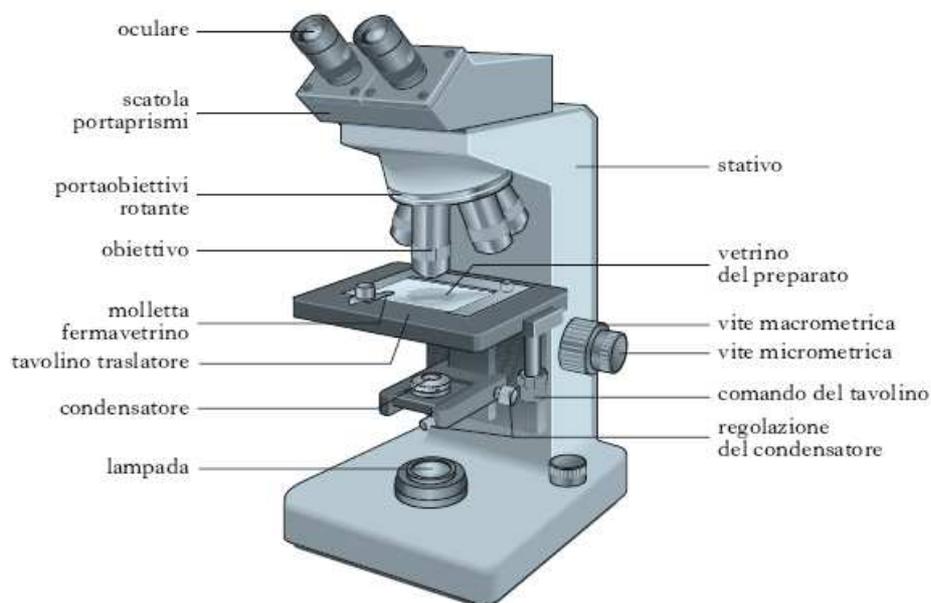
- Il primo prototipo di microscopio elettronico fu costruito nel 1931 dal fisico tedesco Ernst Ruska (1906-1988) e dall'ingegnere elettronico Max Knoll (1897-1969): con questo prototipo si poterono

no raggiungere quattrocento ingrandimenti; l'apparato costituì la prima dimostrazione dei principi sui quali si basa il microscopio elettronico.

- Due anni dopo, nel 1933, Ruska si spinse oltre e costruì un microscopio elettronico che superava la risoluzione ottenibile con un analogo strumento ottico.
- Nel 1937 Ernst Lubcke (1890-1971) della Siemens & Halske finanziò le ricerche di Ernst Ruska e di Bodo von Borries (1905-1956), impiegando il fratello di Ernst, Helmut Ruska (1908-1973), per lo sviluppo di applicazioni del microscopio elettronico, specialmente su campioni biologici. Sempre nel 1937, Manfred von Ardenne (1907-1997) sperimentò il microscopio elettronico a scansione (SEM).
- Il 1938 fu un anno significativo poiché fu costruito il primo "pratico" microscopio elettronico presso l'Università di Toronto da Eli Franklin Burton (1879-1948) e dagli studenti Cecil Hall, James Hillier e Albert Prebus.
- Infine l'anno seguente, nel 1939, la Siemens produsse il primo modello "commerciale" di microscopio elettronico a trasmissione (TEM).

COMPOSIZIONE E FUNZIONAMENTO DEL MICROSCOPIO

IL MICROSCOPIO OTTICO



In questo apparecchio dotato di lenti per ingrandire e focalizzare l'immagine, la luce passa attraverso il materiale animale o vegetale da esaminare (il "campione").

Proprio perché deve essere attraversato dalla luce, il campione deve essere molto sottile.

Talvolta, per poter mettere in evidenza alcuni particolari, i campioni vengono colorati artificialmente. Quindi, quando si osservano fotografie al microscopio ottico, è bene ricordare che i colori dell'immagine potrebbero non corrispondere a quelli reali.

Un buon microscopio ottico può ingrandire un oggetto circa 1500 volte. L'ingrandimento, cioè l'aumento delle reali dimensioni di un oggetto, è solo una delle caratteristiche fondamentali di un microscopio: per esempio, un'altra caratteristica molto importante del microscopio ottico è il suo potere di risoluzione, cioè la capacità di mostrare come distinti due punti vicini.

Qualsiasi microscopio ottico non permette di distinguere dettagli minori di $0,2\ \mu\text{m}$, circa le dimensioni dei batteri più piccoli; di conseguenza, indipendentemente da quanto si ingrandisce l'immagine dei batteri, il microscopio ottico non permette di osservarne le strutture interne.

I COMPONENTI

- **Stativo**

È la struttura portante del microscopio che sostiene o incorpora le parti ottiche e meccaniche. Originariamente costituito da un tripode, lo stativo ha successivamente preso la forma di colonna laterale, per assumere, nei microscopi moderni, l'aspetto di un arco metallico a forma di C.

- **Specchietto d'illuminazione**

Specchio piano, oppure concavo, posto alla base del microscopio e utilizzato per inviare la luce sul preparato e entro le ottiche del microscopio. Lo specchio è montato su un supporto orientabile, regolato in modo da riflettere nella direzione voluta la luce naturale o quella di una sorgente artificiale.

- **Lente condensatrice (condensatore)**

Lente che concentra la luce sul preparato, per renderlo più luminoso e meglio osservabile.

- **Tavolino portaoggetti**

Supporto che sostiene il preparato. Spesso è dotato di movimenti, per poter portare il particolare d'interesse al centro del campo visivo (comando del tavolino).

- **Movimento di messa a fuoco**

Dispositivo che permette di variare la distanza tra obiettivo e tavolino portaoggetti, in modo da avere un'immagine nitida ("a fuoco"). È talvolta distinto in un meccanismo di avvicinamento con una corsa ampia ma poco sensibile (vite macrometrica) e un meccanismo fine di corsa breve ma più graduale (vite micrometrica).

- **Obiettivo per microscopia**

Sistema ottico convergente di grande angolo di raccolta della luce che forma un'immagine, ingrandita e capovolta, dell'oggetto osservato. Gli obiettivi che operano in condizioni ambientali ordinarie (in aria) sono detti "a secco". Per aumentare l'angolo di raccolta della luce si hanno obiettivi "a immersione", destinati ad essere usati con un liquido di accoppiamento (una gocciolina d'olio, tipicamente) tra preparato e obiettivo.

- **Torretta portaobiettivi**

È un corpo rotante (e detto per questo "a revolver") con diverse sedi in cui si possono inserire gli obiettivi. Esso permette di cambiare rapidamente obiettivo con una semplice rotazione dell'apparecchio, riducendo la pausa tra le diverse osservazioni.

- **Prisma di deviazione**

È un prisma che spezza l'asse ottico del microscopio, inclinandolo ad un angolo confortevole per la visione dell'osservatore. Solitamente opera come una coppia di specchi piani, che inviano la luce dall'obiettivo verso l'oculare. Può essere costituito da un sistema ottico più complesso quando si voglia sdoppiare l'immagine inviandola a una coppia di oculari, o permettere l'uso di un corpo fotografico o di una telecamera.

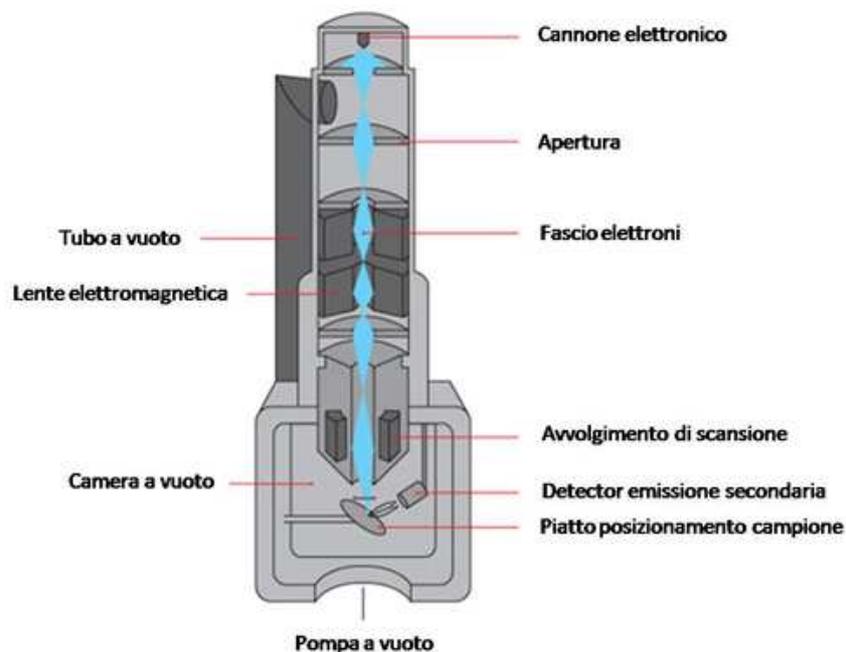
- **Oculare per microscopia**

È la lente (o il sistema di lenti) con cui l'occhio osserva l'immagine formata dall'obiettivo. L'oculare fornisce un ingrandimento, simile a quello che si verifica nel microscopio semplice. Gli oculari, come gli obiettivi, possono essere intercambiabili (si sfilano e si sostituiscono direttamente); l'ingrandimento complessivo del microscopio è il prodotto tra l'ingrandimento dell'obiettivo e quello dell'oculare.

- **Lente di campo**

Per aumentare il campo visivo, si può porre una seconda lente convergente, in prossimità dell'immagine formata dall'obiettivo: la "lente di campo", o "lente collettiva"; essa inclina verso l'asse ottico i fasci di luce più periferici, in modo che imbroccino l'apertura della lente dell'occhio.

IL MICROSCOPIO ELETTRONICO



Un microscopio elettronico è un apparecchio dotato di un altissimo potere di risoluzione, che permette di osservare da vicino campioni di grandezze straordinariamente piccole, praticamente infinitesimali, grazie alle proprietà ondulatorie di uno o più fasci di elettroni.

Fu possibile realizzare questo strumento basandosi sulle ricerche del fisico francese Louis-Victor de Broglie (1892-1987), il quale si basò sul concetto di fotone, che assegnava anche alla luce delle

proprietà materiali: egli formulò l'ipotesi che anche le particelle materiali potevano comportarsi come i fasci di luce, ed essere quindi dotate di proprietà ondulatorie.

Perciò, inviando un fascio di elettroni sul campione, è possibile ricavare delle figure di diffrazione da analizzare. Il principale vantaggio di questo tipo di strumento sta nell'altissimo potere di risoluzione che può raggiungere valori anche 100 000 volte più grandi di quelli della luce.

Le osservazioni effettuate tramite microscopio elettronico sono importanti soprattutto per quel che riguarda gli studi in biologia, in metallurgia e nel campo della medicina.

I COMPONENTI

• Sorgente di elettroni

Produce un fascio di elettroni che attraversa il campione da analizzare (cannone elettronico).

• Pompa a vuoto

Crea il vuoto nella "camera a vuoto", nella quale è contenuto il campione, e nel tubo principale, nel quale passa il fascio di elettroni, tramite il tubo a vuoto.

• Lenti

- Condensatore magnetico: indirizza il fascio di elettroni sul campione da osservare.
- Prima lente magnetica: funge da obiettivo.
- Seconda lente magnetica: funge da proiettore e blocca gli elettroni nel campo ottico del sistema

• Detector emissione secondaria

Rivelatore che cattura gli elettroni secondari emessi come conseguenza dell'attraversamento del campione da parte degli elettroni primari.

• Lastra fotografica, pellicola o schermo fluorescente

Elemento che serve a raccogliere le immagini restituite dal microscopio.

COME FUNZIONA IL MICROSCOPIO ELETTRONICO

In un microscopio elettronico la sorgente degli elettroni è rappresentata da un filamento di tungsteno molto sottile a forma di "V". Gli elettroni poi passano nel condensatore magnetico attraverso un foro che si trova nell'anodo; il condensatore ha lo scopo di regolare l'intensità stessa della convergenza del fascio di elettroni.

Il fascio elettronico va poi a colpire il campione da osservare, su cui subisce la diffrazione. Le parti del campione che provocano una maggiore deviazione della radiazione sono quelle più spesse e più dense, che risulteranno quindi più scure nell'immagine risultante. Per regolare la nitidezza dell'immagine si effettua una regolazione della corrente. Replicando questa azione sul proiettore si può regolare l'ingrandimento stesso dell'immagine.

È inoltre possibile individuare tre tipologie di microscopio elettronico: a scansione (SEM), a trasmissione (TEM) e ionico.

IL MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM)

In questa variante di microscopio elettronico, il fascio di elettroni che va a colpire il campione da esaminare provoca l'emissione da parte del campione stesso di tantissime particelle, tra cui gli elettroni secondari. Sono questi ultimi ad essere individuati da un apposito rivelatore, per poi essere trasformati in impulsi elettrici. In questo strumento il fascio di elettroni non è fisso ma a scansione: passa, cioè, sul campione da esaminare riga dopo riga, in una sequenza di zone rettangolari. Il potere di risoluzione di un normale microscopio elettronico SEM a catodo di tungsteno si aggira intorno ai 5 nm, ma alcuni modelli arrivano a 1 nm. Il campione è sotto alto vuoto (10–5 Torr) poiché l'aria impedirebbe la produzione del fascio (data la bassa energia degli elettroni), e deve essere conduttivo (oppure metallizzato), altrimenti produce cariche elettrostatiche che disturbano la rivelazione dei secondari.

Il risultato è un'immagine in bianco e nero ad elevata risoluzione e grande profondità di campo, che ha caratteristiche simili a quelle di una normale immagine fotografica. Per questa ragione le immagini SEM sono immediatamente intelligibili ed intuitive da comprendere. Il microscopio elettronico a scansione può ottenere immagini che appaiono quasi tridimensionali anche di oggetti relativamente grandi (come un insetto).

IL MICROSCOPIO ELETTRONICO A TRASMISSIONE (TEM)

In questo tipo di microscopio elettronico il fascio di elettroni, prima di colpire il campione da esaminare, passano in una zona dove è stato creato artificialmente il vuoto, e solo successivamente passano attraverso il materiale da esaminare.

IL MICROSCOPIO IONICO

Il microscopio ionico è una variante del microscopio elettronico, realizzata nel 1936 dal fisico tedesco Erwin Wilhelm Müller (1911-1977). Il microscopio ionico tra tutti i microscopi è quello più potente e consente di ottenere risoluzioni di livello atomico.

Il microscopio ionico è costituito da un catodo con una punta a forma di ago, sulla quale viene posizionato il campione da osservare, contenuto in una piccola spirale. Successivamente avviene un riscaldamento che permette un'evaporazione sotto vuoto; questo processo crea un campo elettrico molto intenso tra il catodo e l'anodo, che ha lo scopo di accelerare gli ioni positivi che provengono dal campione da esaminare. Questi ioni poi colpiscono uno schermo fluorescente che permette di visualizzare un'immagine ingrandita della superficie esaminata.

Questo complesso strumento viene utilizzato principalmente per esaminare le superfici dei reticoli di composti conduttori, metalli e leghe, oltre che per l'esame di fenomeni come la catalisi.

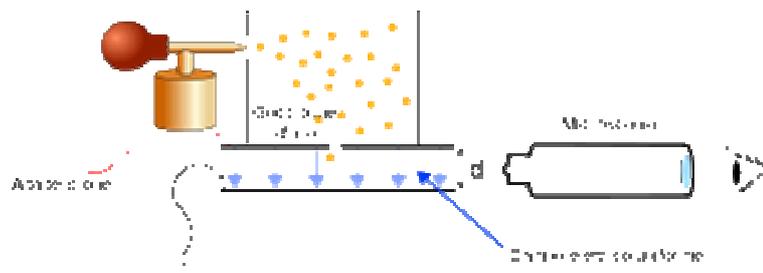
📌 SCOPERTE EFFETTUATE CON L'UTILIZZO DEL MICROSCOPIO

Il microscopi ottico e elettronico hanno avuto un ruolo importante in numerosi campi della Scienza: consideriamo in questo caso il loro contributo sia per quanto riguarda la Fisica con la scoperta della quantizzazione della carica effettuata da Robert Millikan, sia per quanto riguarda l'Istologia con la scoperta dell'unità strutturale degli esseri viventi, ovvero la cellula, e gli studi successivi tra cui quelli sul tessuto nervoso.

ESPERIENZA DI MILLIKAN

Il fisico americano Robert Millikan (1868-1953) diede un importante contributo alla fisica grazie al suo esperimento, svoltosi nel 1909, attraverso il quale si poté dimostrare la quantizzazione della carica elettrica.

Egli utilizzò due lastre metalliche poste una sopra l'altra ad una certa distanza, di cui quella superiore provvista di un foro; attraverso questo foro vennero spruzzate delle goccioline d'olio. Tra le due piastre venne stabilita inoltre una differenza di potenziale, portando cariche opposte sulle loro superfici.



Attraverso il foro vennero spruzzate delle goccioline d'olio che si caricarono per strofinio all'interno del nebulizzatore; dopodiché venne osservato il comportamento delle gocce d'olio per mezzo di un microscopio: esse cadevano senza essere accelerate e quindi con velocità costante a causa dell'attrito dell'aria.

Essendo la goccia caricata positivamente e caricando l'armatura superiore negativamente, fu possibile applicare una forza elettrica sulla goccia uguale in modulo alla sua forza peso, ma opposta in verso: in questo modo la goccia rimase in equilibrio.

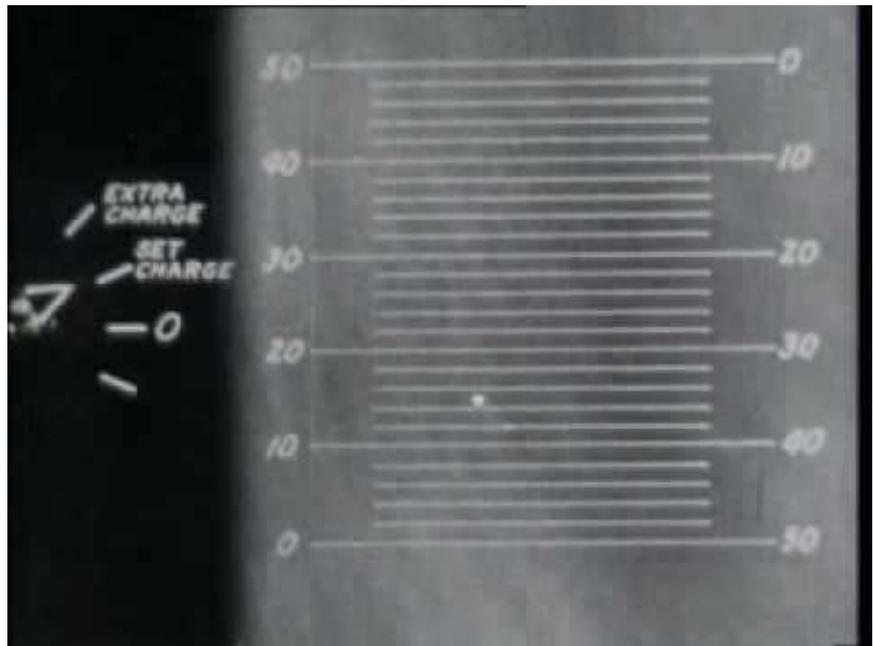
Una volta invertita la polarità delle piastre, la forza elettrica si diresse verso il basso sommandosi alla forza peso della goccia: la forza totale applicata risultò infatti raddoppiata.

In seguito venne ricavata la velocità della goccia misurando il tempo di caduta attraverso un cronometro e registrando il suo spostamento servendosi di una scala graduata: si poté osservare che

al raddoppiare della forza applicata anche la velocità della particella raddoppiava e che le due grandezze risultano perciò direttamente proporzionali.

Dopodiché si variò la carica della particella attraverso un tubo a raggi X e si fissò la carica negativa sulla lastra superiore: si notò che aumentando la carica positiva della particella essa saliva con velocità maggiore; invertendo la carica e facendola diventare negativa invece, la particella cadeva verso il basso.

Dopo aver ripetuto l'esperienza diverse volte, Millikan si accorse che la velocità della particella non poteva assumere



qualunque valore, ma solo multipli di un valore fondamentale; di conseguenza dedusse anche la carica sulla goccia non poteva assumere valori qualsiasi, ma multipli di un valore fondamentale; fu così scoperto che la carica elettrica è di natura granulare e che esiste una carica fondamentale non ulteriormente divisibile: la carica in questione è quella dell'elettrone ($e = 1,6 \times 10^{-19} \text{C}$).

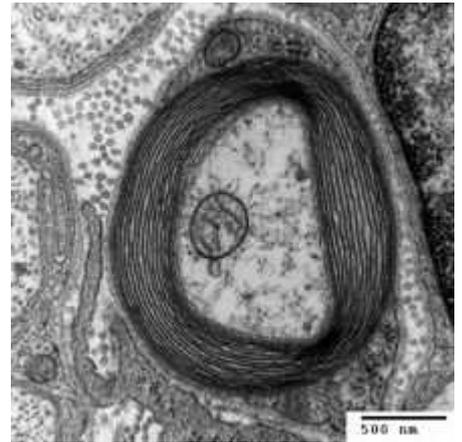
ISTOLOGIA

L'istologia ebbe un importante precursore nel barone Albrecht von Haller (1708 - 1777), grande figura di scienziato, letterato ed erudito del XVIII secolo. Questi fu il primo a suggerire una organizzazione strutturale microscopica dei corpi viventi, che egli riconduceva a delle invisibili "fibre". Le fibre di von Haller costituivano i componenti fondamentali degli organi, e venivano distinte in tre tipi fondamentali: le "fibre strutturali", le "fibre irritabili" e le "fibre sensibili".

L'istologia moderna, tuttavia, intesa come studio delle cellule che compongono i diversi tessuti, nacque solo nella metà del XIX secolo, come conseguenza della teoria cellulare formulata nella sua prima enunciazione nel 1838 da Matthias Jacob Schleiden (1804-1881) e Theodor Schwann (1810-1882). Grazie ai progressi effettuati nel campo della microscopia si riconobbe nella cellula l'unità strutturale e funzionale fondamentale dei viventi, si iniziò ad analizzare la struttura microscopica degli organi e a studiare e classificare i diversi tipi cellulari che compongono i vari tessuti.

Nomi importanti dell'istologia di metà ottocento furono François Magendie (1783-1855) e Charles Bell (1774-1842), che concentrarono i loro studi sul tessuto nervoso e giunsero indipendentemente a distinguere i nervi sensitivi dai nervi motori nel midollo spinale, e Albert von Kölliker (1817-1905), allievo del grande anatomista e fisiologo Jakob Henle (1809-1885), che studiò l'organizzazione del tessuto muscolare sia liscio che striato.

Jan Evangelista Purkyně (1787-1869) diede importanti contributi all'istologia del tessuto nervoso, tanto che sono molte le strutture che portano il suo nome, e fu il primo a descrivere l'anatomia del neurone. Anche lo spagnolo Santiago Ramón y Cajal (1862-1934) condusse importanti studi sul tessuto nervoso, e contribuì a formulare quella che sarebbe rimasta nota come "Teoria del neurone", con la quale si definivano molte delle peculiarità della cellula nervosa, il modello di trasmissione degli impulsi, e soprattutto l'unità strutturale e funzionale del neurone stesso.



📌SITOGRAFIA:

http://www.museotibaldo.it/la_storia_del_microscopio.html

http://www.motic.it/invenzione_dei_microscopi.asp

<http://catalogo.museogalileo.it/approfondimento/MicroscopioElementiDel.html>

<http://www.guidaconsumatore.com/elettronica/il-microscopio-elettronico.html>

http://www.funsci.com/fun3_it/hooke/rhit.htm