

## HISTORIA DE LA MICROSCOPIA ELECTRONICA

\* Los primeros microscopios electrónicos

\*\* Francisco Hernández

### RESUMEN

La explicación del porqué un microscopio de luz, aún con la óptica más fina, es incapaz de superar la resolución de 0.2  $\mu\text{m}$  fue un dilema respondido por Ernest Abbe en 1872 (1). La razón de esa limitación estriba en la longitud de onda de la luz ( $\lambda$ ), pues la resolución se define como  $\lambda / 2 \text{NA}$ ; donde  $\text{NA}$ ; es la abertura numérica del lente objetivo.

De acuerdo con ello, sólo se podría aumentar la resolución si se disminuyera  $\lambda$ . En pos de ese fin se intentó la construcción de microscopios que utilizaran luz ultravioleta o bien rayos X; dos formas de energía electromagnética cuya  $\lambda$  es menor que la correspondiente a la luz visible. En el primer caso se diseñó el ultramicroscopio, una de cuyas limitaciones es el empleo de lentes de cuarzo y que la imagen sólo puede observarse en fotografía. La segunda posibilidad originó el microscopio de rayos X, cuya resolución fue de 0.1  $\mu\text{m}$ , pero el costo y la baja intensidad de la imagen, que requería de horas o días de exposición para sensibilizar una placa fotográfica, hicieron que este equipo no fuese práctico. Esto presentaba un problema prácticamente insoluble. Sin embargo, el mismo Abbe en 1878 escribió "De acuerdo con nuestro conocimiento científico actual el rango del ojo humano está limitado por la propia naturaleza de luz. No podemos sobrepasar ese límite con los conocimientos actuales de la naturaleza y sólo podemos encontrar solaz en el hecho de que hay muchas cosas entre el cielo y la tierra con las cuales nuestra ignorancia jamás habría soñado. El intelecto humano de futuras generaciones tal vez podría encontrar otras formas para superar ese límite que ahora consideramos insuperable, mediante energías y procesos desconocidos..." (1).

Ese pensamiento fue realizado 65 años más tarde por Ernest Ruska, en 1934 cuando presentó su primer microscopio electrónico, utilizando un haz de electrones en vez de luz y electroimanes como lentes. Para ello se toma el carácter ondulatorio del electrón (teoría de Max Planck) cuya velocidad le es imprimida por el voltaje de aceleración, hasta un límite señalado por el aumento en su masa a medida que esa velocidad se aproxima a la velocidad de la luz (teoría de relatividad A. Einstein) tal como interpretó De Broglie en 1924 (4,6). Así a 100.000 v., esa  $\lambda$  es de aproximadamente 0.05  $\text{Å}$ , lo que permitió superar ese límite que había señalado Abbe.

El camino de Ruska había sido preparado por una serie de inventos y descubrimientos que arbitrariamente pueden ser enumerados desde mediados de 1850: El tubo de Geissler (Geissler 1850), tubo de rayos catódicos (Goldstein 1855), la pantalla fluorescente (Braun 1897) y el efecto concentrante de los campos magnéticos sobre el haz electrónico (Wiechert, 1899, Gorber 1924). Este último fenómeno fue interpretado por Buch, quien hizo un parangón entre una lente de vidrio y una "lente electromagnética", lo cual dio base a los experimentos de Ruska en la construcción de un microscopio electrónico (ME) (2,4,6,8).

Sin embargo, Ruska sufrió un revés en su historia: él presentaría sus hallazgos, junto con su maestro Mex Knoll, en el Cranz Colloquium el 4 de junio de 1931. Pero Knoll comentó los detalles técnicos del invento con un amigo suyo, M. Steembeck, quien a su vez lo hizo con Reinhold Rudenberg, jefe de ingenieros de Siemens, quien patentó el ME el 30 de mayo de 1931. No obstante, Ruska es considerado el padre de la microscopía electrónica (2,4).

El primer ME comercial, diseñado por Ruska, fue lanzado al mercado por Siemens en 1939. Ello sirvió de estímulo para que otros países se abocaran a esta línea de trabajo y así comenzaron a aparecer prototipos en los Estados Unidos

---

\*\* Centro de Investigación y Diagnóstico en parasitología (CIDPA) y Facultad de Medicina Universidad de Costa Rica.

de América, Inglaterra, Francia, Canadá y Japón (5). Este último presentó su primer modelo en 1940, el cual fue modificado en 1942 y bautizado como el Mark I (Fig. 1).

Al tiempo que se trabajaba en el microscopio electrónico de transmisión (MET), también se diseñaba equipos para captarlos electrones provenientes de la superficie de la muestra, o sea lo que hoy denominamos microscopio electrónico de barrido (MEB). Entre esos pioneros están Knoll (1933) y Ardenne (1938). Sin embargo el grupo que culminaría exitosamente la construcción del MEB fue dirigido por McNullan en la Universidad de Cambridge, Inglaterra. En 1953, cinco años después de haber iniciado sus labores, habían construido un equipo totalmente funcional con el cual trabajó Smith, quien a su vez sugirió algunos cambios en el diseño.

El primer MEB comercial fue lanzado al mercado por la Compañía "Cambridge Instrument" (Hoy Cambridge Scientific Instrument Ltd.) en 1965 y el modelo fue conocido como "Stereoscan" cuya resolución era de  $250 \text{ \AA}$  (10).

Hoy existen modelos de MEB con resolución que oscila entre 30 y  $50 \text{ \AA}$ . Además, la compañía Hitachi diseñó recientemente un modelo para ultra alta resolución (S-900) cuya resolución es de  $8 \text{ \AA}$  (7,9), lo cual es cercano al límite teórico esperado (3). [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1987; 8(4):199-202].

#### ADENDUM

Fundamentalmente existen dos tipos de microscopio electrónico, el de transmisión (MET) y el de barrido (MEB). Con el primero se puede hacer un parangón con un microscopio de luz (ML) y con el segundo con un microscopio estereoscópico o de disección. La razón es que el MET utiliza los electrones transmitidos, o sea aquellos que logran atravesar el espécimen; obviamente esa muestra debe ser muy delgada, y en el caso de un corte histológico este debe ser alrededor de 100 veces más delgado que el utilizado en el ML. La imagen obtenida, al menos por los métodos convencionales es plana (Fig. 2a).

El MEB utiliza los electrones dispersados a partir de la superficie de la muestra, ya sean secunda-

rios o retrodispersos. En este caso, el espécimen puede ser tan voluminoso como un fragmento de tejido, un insecto, etc. y la imagen obtenida es de tipo tridimensional (Fig. 2b).

#### BIBLIOGRAFIA

1. Abbe, E Bericht Uber die wissenschaftlichen apparate auf der Londoner international en Ausstellung in Jahre 1876. Hoffmann, A.W. (ed.) Braunschweig, 1878; 383-420.
2. Afzelius, B.A. Half a century of electron microscopy: The early years. *Ultrastruct Pathol.* 1981; 2:309-311.
3. Crewe, A.V. Is there a limit to the resolving power of the SEM? *Proc. XI. Int. Gong. Electron Microscopy Kyoto, 1986;* 2105-2108.
4. Freundlich, M.M. Origen of the electron microscope. *Science* 1963; 18:185-188.
5. Fujita, H. History of electrom microscopes. Published in commemoration of the 11 th. International Congress on Electron Microscopy. 1986; 217.
6. Meek, G. A. *The development of the Electron Microscope.* En: Practical electron microscopy for biologists 2nd Ed. John Wiley & Sons, London, 1976; 43-75.
7. Nagatani, T. & Saito, S. Instrumentation for ultra high resolution scanning electron microscopy. *Proc. XI. Int. Cong. Electron Microscopy, Kyoto, 1986;* 2101-2104.
8. Ruska, E. *The early development of electron lenses and electron microscopy* S. Hinel Verlag Stuttgart, 1980; 121-123.
9. Tanaka, K., Mitsushima, A., Kashima, Y. and Osatake, H. A New High resolution scanning electron microscope and its application to biological materials. *Proc. XI Int. Cong. Electron Microscopy.* Kyoto. 1986; 2097-2100.
10. Woolfson, M. M. & Zimon, J. M. *The Scanning electron microscope.* Cambridge Monographs on Physics. Cambridge University Press. 1972; 1-194.

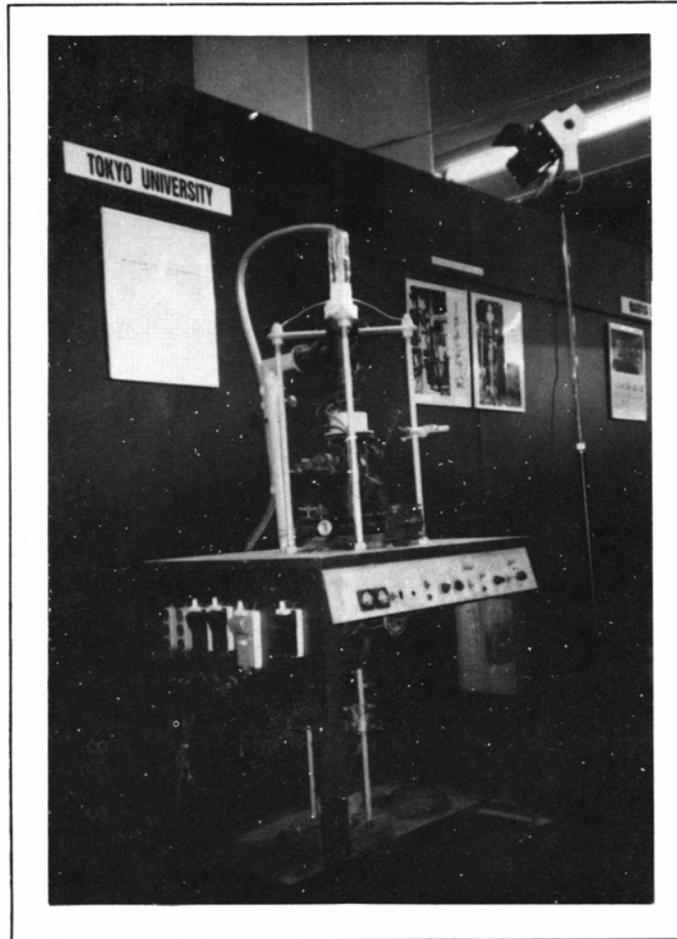


FIG. 1: Modelo de microscopio electrónico de la Universidad de Tokyo (Exposición histórica. XI Congreso Internacional de Microscopia Electrónica. Kyoto. 1986).

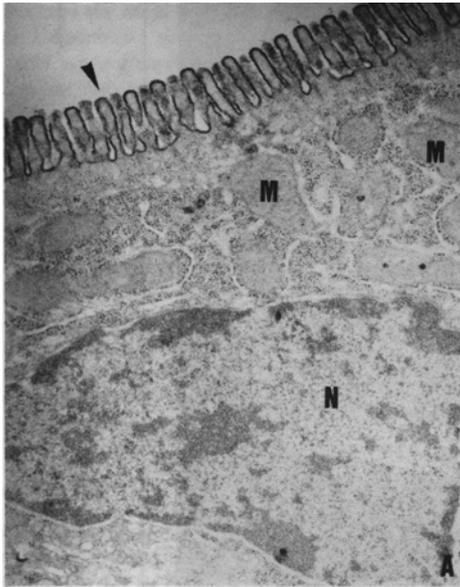
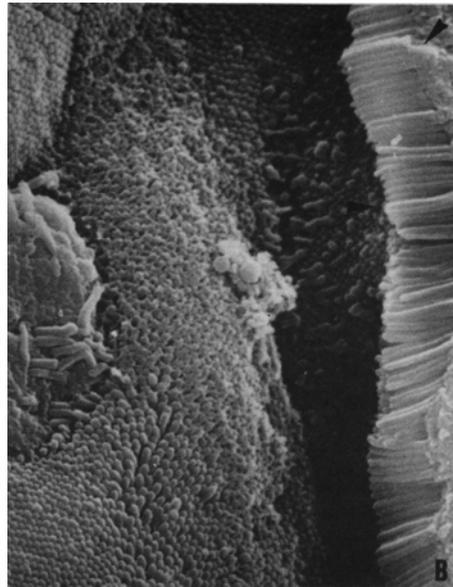


FIG. 2: A. Micrografía electrónica de transmisión. Corte ultrafino de mucosa intestinal; nótese el carácter bidimensional de la imagen. Microvellosidades (flecha) Mitochondrias (M), Núcleo (N).



B. Micrografía electrónica de barrido. Fragmento de mucosa intestinal; nótese el carácter tridimensional de la imagen. En el extremo derecho se observan unas microvellosidades en vista longitudinal, en el resto de la preparación aparecen vistas desde arriba, apreciándose sus extremos apicales. A la izquierda aparece la abertura de una célula caliciforme llena de muco.