

En el 350 aniversario del nacimiento de Antoni van Leeuwenhoek (y II). Su obra.

César Urtubia Vicario
Joan Antó i Roca

Antecedentes

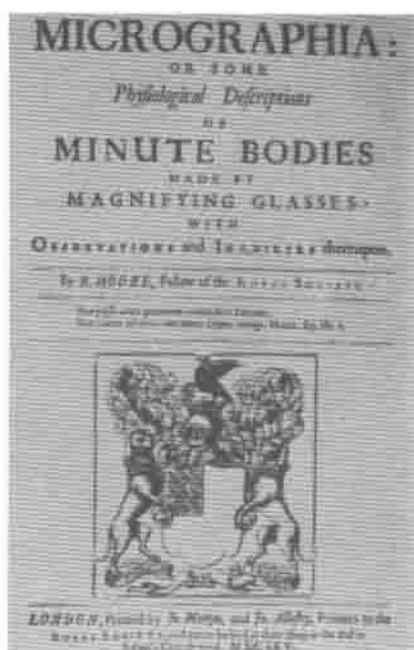
Pasando por alto la Edad Antigua, en la que varias culturas habían descubierto de un modo u otro las propiedades refringentes de los cristales (esmeralda de Nerón), los vidrios, (fenicios y macedonios) o la combinación de ambos con el agua (botella de Arquímedes), en la cultura occidental aparte las lentes de anteojería, de las que se tienen noticias a principios del siglo XIII, es en el XVII cuando comienzan a esbozarse las primeras combinaciones de dos o más lentes para lograr los aumentos necesarios en el intento de soslayar en visión cercana la limitación del poder resolutorio del ojo humano de 0,2 mm.

No obstante, estos primeros microscopios, de tipo compuesto, eran considerados como instrumentos de entretenimiento y esnobismo, cuando no como verdaderas obras de arte en lo que a su apariencia externa se refiere, ya que eran a veces fabricados con oro y plata y recubiertos de porcelana y hasta marfil.

Esto hacía que sólo tuviesen acceso a ellos las personas suficientemente dotadas económicamente, y que sin embargo no pensarán en darles otra utilidad que la de un mero pasatiempo.

Es en el siglo XVII, en efecto, aunque casi en sus prostimerías, cuando se le da la primera aplicación científica al microscopio.

Robert Hooke (1635-1703), miembro de la Royal Society de Londres, publicó en 1665 la primera obra sobre las observaciones he-



Portada de la *Micrographia* de Robert Hooke, publicada en 1665.

chas con un microscopio, y que además es una de las primeras en estar escrita en una lengua moderna.

Esta obra es la famosa *Micrographia* (fig. 1), donde cita por primera vez la palabra «cellula», de celdilla, correspondiente al hueco que habían dejado las unidades vivas reales en la corteza del corcho (fig. 2), y a las que posteriormente como a todas las unidades vitales de todos los tejidos se les llamaría definitivamente células.

Sin embargo, es significativo que uno de los mayores impulsos a las ciencias del universo microscópico, lo dio aquel sencillo vendedor de

paños de la ciudad de Delft, que además era funcionario del ayuntamiento y cuyas obligaciones eran según los términos de su contrato:

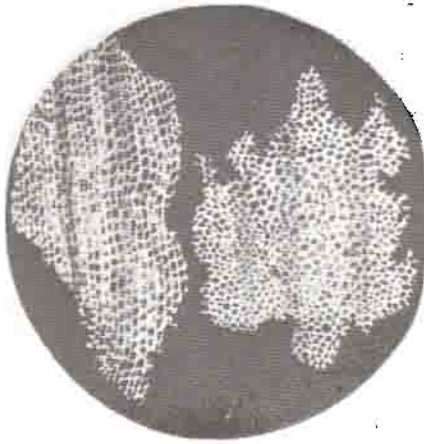
«abrir y cerrar la Cámara en las asambleas ordinarias y extraordinarias... mostrar hacia los miembros de la asamblea el máximo respeto honor y reverencia... y guardarse para sí todo lo que pudiera oír en la Cámara, conservar limpia la antedicha Cámara..., mantener el fuego en las épocas en que pueda necesitarse, y guardarse para su propio provecho el carbón que quede sin consumir».

El investigador

Fuera de Delft, nada se hubiera sabido de este hombre, Antoni van Leeuwenhoek (fig. 3), si no hubiera sido por una notable habilidad que poseía en el pulido de pequeñísimas lentes biconvexas, y con las que observaba objetos de reducido tamaño con mayor claridad que con los caros y complejos microscopios compuestos de aquella época.

Eran sus instrumentos «lupas» o microscopios simples ya que el sistema óptico estaba formado por una única lente que era insertada entre dos finas láminas de bronce o plata, que se fundían y perforaban con un sólo orificio.

El espécimen a observar era colocado debajo de la lente, sobre una punta de metal, y en la mayoría de las ocasiones se montaba de forma permanente, no haciendo otras observaciones con el mismo instrumento.



Dibujo según la observación realizada por Hooke de las «cellulas» en la corteza de alcornoque.

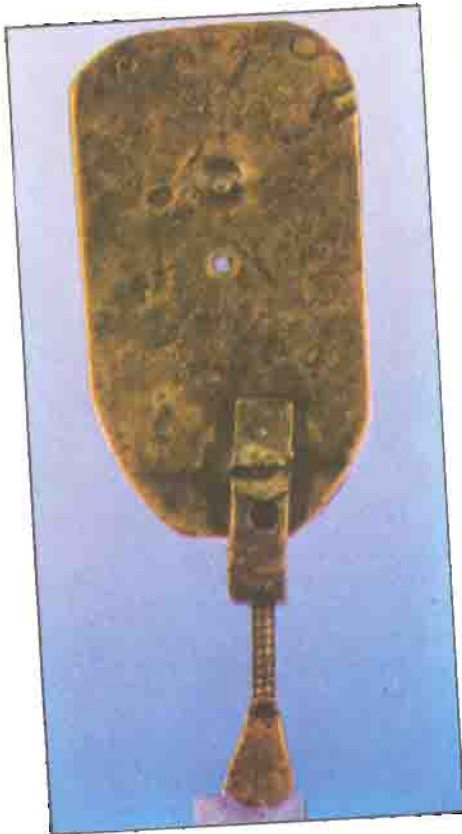
Lo hacía de tal manera, que fuera posible la aproximación o alejamiento del objeto a la lente para una mejor observación. Si era sólido, lo pegaba a la aguja, mientras que si era líquido o no podía montarlo en la fina punta de metal, lo extendía sobre una fina lámina de talco o vidrio, que luego podía adherirse a la aguja.

Parece poco probable que el prestigio de Leeuwenhoek estuviera basado en su habilidad como fabricante de microscopios, ya que el pulido de las lentes y la construcción de microscopios estaban lo suficientemente difundidos como para que un método original permaneciera oculto largo tiempo.

Quizás el mérito más especial de sus investigaciones radicara en sus técnicas, a las que él mismo llamaba «mi método particular de observación», y que nunca fueron reveladas.

Según Clifford Dobell (1886-1949), el biólogo inglés que se convertiría en un divulgador de su biografía, la clave residía en la *iluminación de campo oscuro*, es decir, en una iluminación lateral de los objetos que haría resaltar los contrastes contra un fondo oscuro.

Con la iluminación normal, vemos los objetos oscuros contra un fondo más claro, sin embargo, en el campo oscuro se produce un fenómeno parecido al efecto Tyndall,



Microscopio de la Universidad de Utrecht.

de tal forma que pueden verse objetos muy diminutos que reflejen la luz.

En este sentido es interesante el aporte de Leeuwenhoek como cuantificador, ya que aun si las partículas son tan pequeñas que el microscopio no puede revelar su forma podremos calcular de manera aproximada su número en una zo-

na definida y lograr estimaciones suficientemente precisas de su tamaño.

Con mérito suficiente se le considera el fundador de la *micrometría*, ciencia que mide todo lo observable a través de una lente o microscopio. Ilustraré esto con algunos ejemplos:

Calculó primero la dimensión

aproximada de una gota de agua y luego intentó separar de ella el equivalente a su centésima parte. Introdujo el agua en un tubo de vidrio transparente que había sido calibrado en veinticinco o treinta gotas.

Colocó el tubo bajo el microscopio y contó los infusorios (actualmente el nombre no es científico y

se les da el propio filogenético) presentes en cada una de sus partes. Con este dato, calculó el número de microorganismos total de la muestra por extrapolación, sentando así las bases de la moderna «cámara de recuento».

Calculó el diámetro medio de un grano de arena gruesa como de 1/30 de pulgada, y el de un fino entre 1/80 y 1/100 de pulgada. Haciendo equivalencias, hizo corresponder el diámetro de un grano fino con 2,5 veces el de un pelo de su bar-

ba, y halló que el número de éstos presentes en una pulgada de su peluca era de 600.

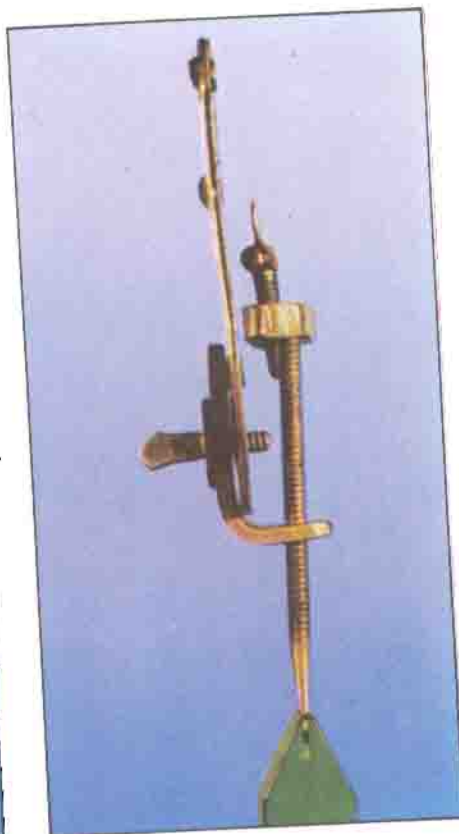
Igualmente realizó numerosas observaciones sobre los cristales, y fue el primero en afirmar que su constitución viene dada por el ordenamiento de los átomos, es decir, que el orden de disposición de los átomos en los cristales más pequeños, es el mismo que en los cristales más grandes.

A través de sus lentes, Leeuwenhoek descubrió los espermatozoi-

des, los hematíes, la constitución de algunos mohos, la morfología de algunos insectos (fig. 5), el aparato bucal y el ojo de las abejas, e incluso llegó a observar el fluir de la sangre por los capilares de la cola de un renacuajo.

Analizó las diminutas células del fermento, y llegando al límite del poder amplificador de sus lentes, logró en 1676 divisar los «gérmenes» que hoy conocemos como bacterias y en 1680 observó por primera vez células de levadura.

Microscopio fabricado en bronce y conservado en el Deutches Museum de Munich.



Aquellos cautivadores «animálculos»

Un año después de que la primera carta de Leeuwenhoek a la Royal Society apareciera publicada en las *Philosophical Transactions*, y en la que describía algunos de los organismos anteriormente citados, envió otra, en la que citaba la observación en las aguas de una laguna próxima a Delft de unos pequeños

seres a los que llamó «animálculos» y que hoy estarían incluidos en el reino de los protistas o seres unicelulares.

Debido a que este primer informe no suscitó el interés deseado, el 9 de octubre de 1676 describió los estudios que había realizado en 1675:

«En la lluvia descubrí criaturas vivas que sólo habían permanecido unos pocos días en una tina pintada de azul por dentro. Esta obser-

vación me indujo a investigar dicha agua con más detenimiento...

»Cuando estos animálculos se meneaban, proyectaban a veces dos cuernecitos que se movían continuamente, tal como hacen las orejas de un caballo. El espacio situado entre estos cuernecitos era chato, en tanto que el resto de su cuerpo era redondeado, excepto en la medida en que la parte posterior remataba en una especie de punta, en cuyo extremo puntiagudo tenían

una cola cuatro veces más larga que la totalidad del cuerpo, y que, vista a través de mi microscopio parecía tan gruesa como una tela de araña...

«Descubrí más animalículos en el agua, así como unos pocos que eran ligeramente más grandes; e imagino que diez centenares de miles de estos animalículos muy diminutos no tenían el tamaño de un grano de arena común. Si se compararan estos animalillos microscópicos con los gusanillos del queso (que podemos distinguir a simple vista cuando se mueven), yo establecería la proporción en los términos siguientes: el tamaño de una abeja respecto al de un caballo,

pues la circunferencia de uno de estos pequeños animalículos no es tan grande como el espesor del pelo de un gusanillo».

Describió también los microorganismos que había observado en infusiones como en el agua de pimienta, donde pretendió descubrir «si ello fuera posible, la causa del calor o el poder mediante el cual la pimienta afecta a la lengua».

En el informe correspondiente a la quinta observación describió de manera metafórica los organismos que había descubierto en el vinagre, y en agua de jengibre, clavo de olor o de nuez moscada comparándolos con «anguilas»:

«Se movían con ondulaciones, tal

como una anguila nada en el agua; pero con la diferencia de que en tanto la anguila siempre nada con la cabeza hacia delante, y nunca con la cola al frente, estos animalículos nadaban, ya fuera hacia atrás o hacia adelante, si bien su desplazamiento era muy lento».

Los nueve microscopios de Antoni van Leeuwenhoek

Tal como se ha visto, Leeuwenhoek fue el primer hombre en hacer un estudio sistemático de los objetos microscópicos y a diferencia de su



Microscopio fabricado con plata y conservado en el Deutches Museum de Munich.

contemporáneo Hooke lo hizo por transiluminación.

En 1774, dos años después de la muerte de su hija, los microscopios fueron subastados. Analizando el catálogo de la subasta (fig. 6), VAN SETTERS (1933) concluyó que VAN LEEUWENHOEK hizo al menos 566, y según otro recuento, 543 microscopios o LENTES MONTA-

DAS de los cuales 26 fueron fabricados en plata.

Otros autores dan una cifra exacta total de 419 pero el hecho cierto, es que en la actualidad sólo sobreviven en forma conocida nueve de ellos. Las lentes utilizadas eran mucho mejores que las normales de su tiempo, y algunas alcanzaban los 270 aumentos.

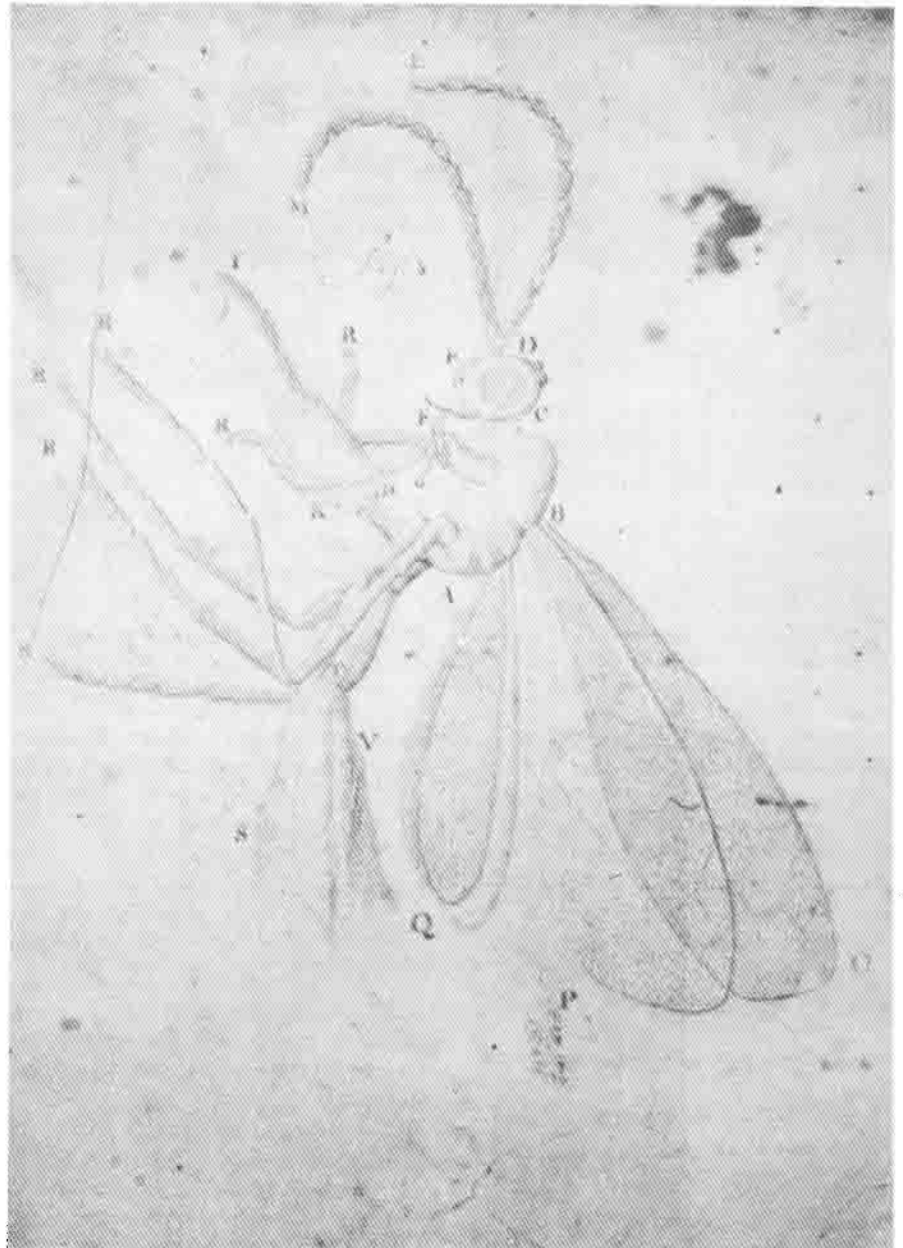
Aunque nunca desveló su método de construirlas se sabe positivamente que éstas se realizaron o por un proceso de desbastado y pulido o por un soplado especial.

Ello unido a su manifiesto criterio de que el montaje y la colocación de una lente es fundamental para su plena efectividad, hizo que el rendimiento por él sacado de sus

Dibujo y descripción de un insecto (que parece ser un icneumónido) según propia observación de Leeuwenhoek.



Retrato de Antoni van Leeuwenhoek.

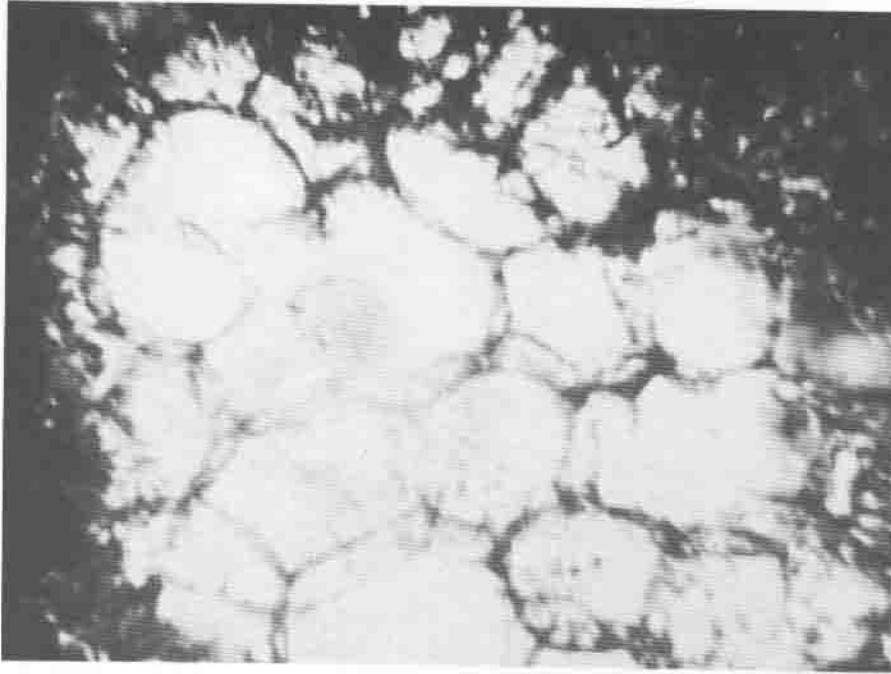


microscopios simples fuera casi óptimo y en todo caso superior al de los microscopios compuestos de la época.

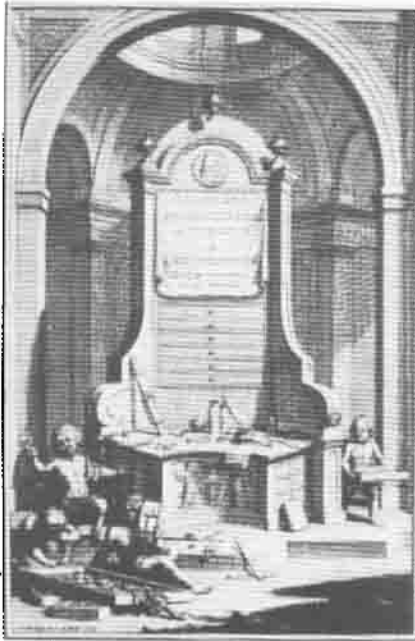
Las características ópticas de los nueve microscopios simples de Leeuwenhoek localizados por el momento vienen expresados en la tabla siguiente:

	1	2	3	4	6	6	7	8	9
Distancia focal (mm)	2.12	3.39	0.94	2.28	2.24	3.31	3.61		1.5
Aumento visual	118	74	266	110	112	80	69		167
Apertura efectiva (∅ en mm)	0.55	0.92	0.7	(1.45)	1.36	0.7	0.87	1.3	(1.06)
Apertura numérica	0.13	0.13	0.37	(0.32)	0.30	0.11	0.12		(0.35)
Límite de resolución (Calculado en micras)	2.8	2.8	(1.16)	1.75	1.63	3.2	2.9		
Límite de resolución (medido en micras)	3.3	4	1.35	2.3	2	3.5	3.0		
Radio de la lente por el lado del ojo (mm)	1.96	4.01	0.703*	2.26	2.03	3.15	3.17		1.50
Espesor (mm)	1.74	0.65	1.22	1.04	1.79	1.53	2.75		
Índice de refracción	1.54	1.529	1.54	1.536	1.535	1.53	1.53		
Aberración esférica (límite de Rayleigh)	0.16	1.0	(9.5)	(16)	11	0.28	0.36		

Los valores entre paréntesis son resultado de alguna circunstancia restrictiva.



Preparación histológica de vegetal observada con una lupa de Leeuwenhoek en campo oscuro.



Portada del catálogo de los microscopios de Leeuwenhoek.

En la tabla anterior, donde ha sido posible, la aberración esférica ha sido calculada por marcha de rayos. El resultado se compara con el límite de Rayleigh, que es la tolerancia generalmente aceptada para una buena calidad de imagen. Cuando la aberración esférica era mayor que tres veces el límite de Rayleigh, el límite de resolución se calculaba para una apertura reducida.

Así se puede ver en la tabla que los microscopios 1, 2, 6 y 7 tienen

una aberración esférica bastante aceptable, especialmente para los 6 y 7 en los que el poder de resolución se ha calculado y medido como bastante acorde. Para los 1 y 2 las diferencias ya son más significativas, indicando muy posiblemente un fallo en la forma de las respectivas lentes.

Los microscopios simples de Leeuwenhoek conservados actualmente son: Seis construidos de bronce (1, 2, 3, 4, 5 y 8 de la tabla anterior) entre los que se destacan el del Museo de la Universidad de Utrecht (fig. 7 a, b, c) y el que se conserva en el Deustches Museum de Munich (fig. 8 a, b y c) y tres más construidos de plata, uno de los cuales se puede admirar en el mismo museo de Munich antes citado (fig. 9 a, b, c).

Los parámetros ópticos de todos ellos, salvo el 8 que no tiene lente, están resumidos en la tabla anterior destacando en cuanto a su poder de resolución el de la Universidad de Utrecht (el 3), que utilizando una preparación con diatomeas se alcanza fotográficamente un valor de 1,35 micras (fig. 10 a y b).

Pero lo más sorprendente de la lente del microscopio de Utrecht es que sus superficies no muestran ninguna rayadura ni señal de haber sufrido el procedimiento clásico del desbastado y pulido, siendo tan lisas como las mejores lentes modernas. Por otra parte el vidrio contiene muchas burbujitas lo que no ocurre en

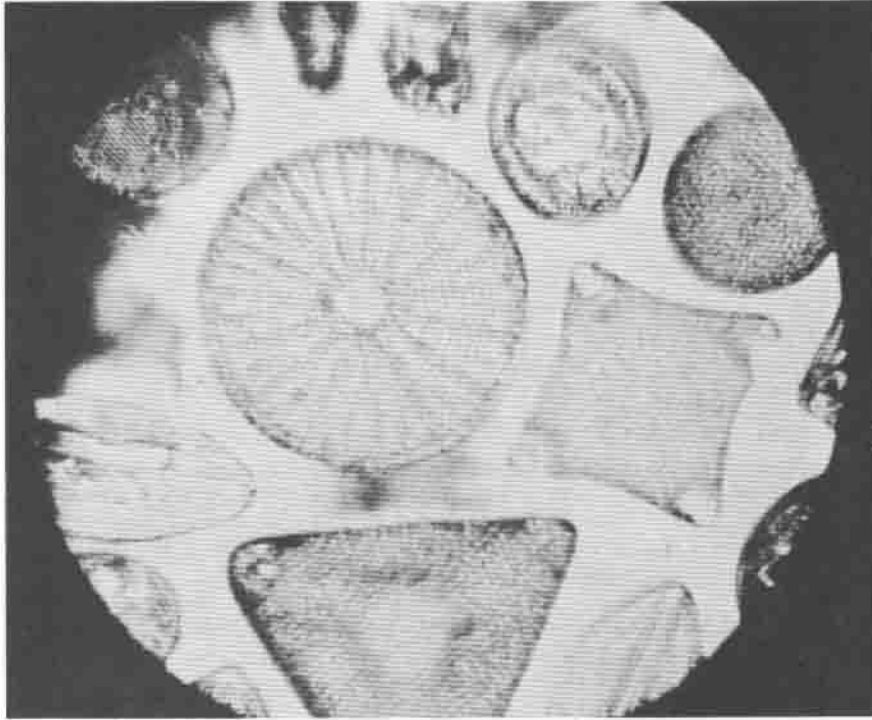
ninguna lente de los otros microscopios (fig. 11). La explicación de ello es que el método de fabricación de la lente sea completamente distinto, es decir por un procedimiento de soplado, dado que Leeuwenhoek era un experto soplador de vidrio. Las etapas del proceso a partir de un tubo de vidrio de paredes delgadas y 10-20 mm de diámetro pueden visualizarse en la figura 12.

Al final lo que obtenía era un pequeño montículo de vidrio que casi automáticamente tomaba la forma de una lente, aunque con superficies no esféricas, puesto que su radio de curvatura aumenta hacia los bordes.

Parece probable que Leeuwenhoek utilizara este método de soplado para las lentes de mayor potencia dejando para las lentes de poca potencia los procesos de desbastado y pulido y cuando no era problemática la obtención de una pieza de vidrio de buena calidad.

Lo que sí es cierto, especialmente en el microscopio de Utrecht, es que a pesar de las burbujas no está lejos del límite teórico de resolución dado por su apertura numérica y ello quizá sea debido a que las superficies esféricas tiendan a reducir su aberración esférica.

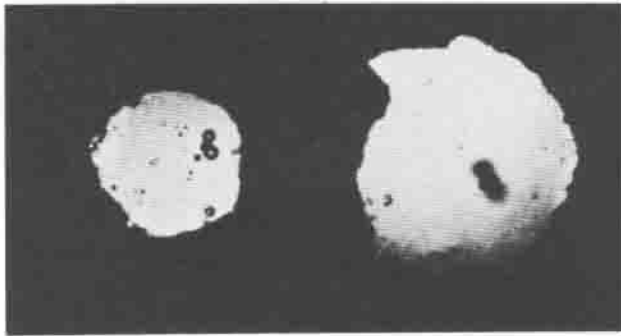
Cabe mencionar que en el siglo XIX, al escasear los microscopios de Leeuwenhoek, Jhon Mayal Jr, que era secretario de la Royal Microscopical Society, a partir precisamente del microscopio de Utrecht,



Fotografía hecha con el microscopio de Utrecht. Las zonas oscuras están causadas por la presencia de burbujas en la lente. La distancia promedio entre las estrías de la diatomea es de 1,65 micrometros (a la izquierda), localmente inferior a 1,4 micrometros.



Ampliación fotográfica de una parte de la figura 10 a. Aumento $\times 670$. Aumento del negativo $\times 266$.



Fotografía de ambas caras de la lente del microscopio de Utrecht, donde pueden observarse las pequeñas burbujas de aire.

que llegó a tener en sus manos, realizó hasta tres copias de él. Una de ellas se encuentra en Oxford y las otras dos en Cambridge.

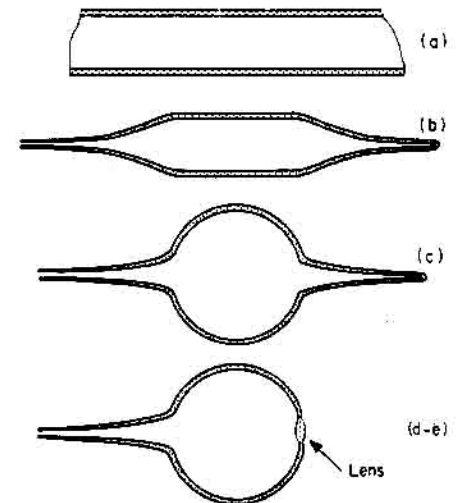
Los parámetros ópticos de dos de ellos son:

	Cambridge	Oxford
Distancia focal	4,49 mm	1,41 mm
Índice de refracción	1,52	1,50
Apertura libre	1,63 mm	0,6 mm
Apertura numérica	0,18	0,21
Aberración esférica	3,5 Limite Rayleigh	1,5 L.R.
Poder de resolución calculado	2 μm	1,7 μm
Poder de resolución medido	2,5 μm	>2,5 μm

Aunque la parte mecánica parece ser realizada por las mismas herramientas, al ser las piezas intercambiables, las lentes son distintas y fueron realizadas mediante el desbastado, afinado y pulido tradicionales.

BIBLIOGRAFIA

- Boerhaave Museum: *Rijks Museum vor de Geschiedenis van de Natuurwetenschappen en van de Geneeskunde*.
 Dobell, Clifford: *Antony van Leeuwenhoek and his Little Animals*. Dover Publications, Nueva York, 1960.
 Guerrero, Ricardo: *El mundo de los microbios*. Universitas 14: 169-179, 1975.
 Prat, R.: *La Optica*. Ed. Martínez Roca, Barcelona, 1969.
 Vanzuylen, J.: *The microscopes of Antoni van Leeuwenhoek*. Journal of Microscopy, Vol. 121, Pt. 3, March 1981, pp. 309-328.



Obtención de una lente por soplado a partir de un tubo de vidrio.