

1. IL MICROSCOPIO

Gran parte dei microrganismi sono troppo piccoli per essere visibili ad occhio nudo.

Per questo in microbiologia per studiare la forma della cellula, le strutture in essa presenti e, di conseguenza, per disporre di una chiave di identificazione per riconoscere il microrganismo in esame si deve utilizzare uno strumento in grado di ciò che si vuole osservare, cioè il **microscopio**.

Esistono:

- ◆ **cinque tipi di microscopi ottici:** in campo chiaro, in campo scuro, a contrasto di fase, a fluorescenza e ad interferenza;
- ◆ **due tipi di microscopi elettronici:** a trasmissione, TEM (Trasmission Electron Microscope) e a scansione, SEM (Scanning Electron Microscope).

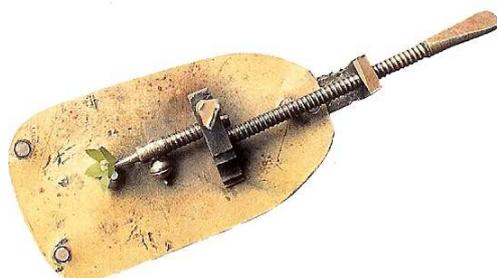
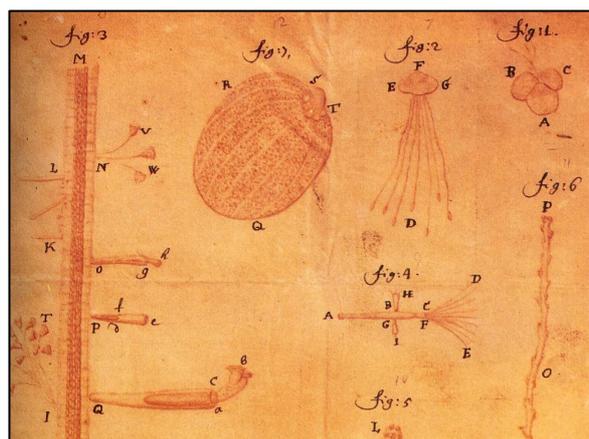
Le differenze principali sono la lunghezza d'onda della radiazione elettromagnetica utilizzata per produrre l'immagine, la natura e la disposizione del sistema di lenti e i metodi usati per osservare l'immagine.

Qualsiasi sia il principio di funzionamento dei vari tipi di microscopi, essi hanno in comune una capacità di **ingrandimento**, di **risoluzione** e di **contrasto** dell'immagine molto superiore a quella dell'occhio umano:

- ◆ l'ingrandimento dipende dal disegno della lente;
- ◆ la risoluzione è influenzata sia dal disegno della lente e correlata inversamente con la lunghezza d'onda della radiazione usata;
- ◆ il contrasto può essere aumentato mediante varie tecniche di colorazione e aggiustando le regolazioni del microscopio, in genere a spese della risoluzione.

Nella seconda metà del XVII secolo, il naturalista olandese Antonie Van Leeuwenhoek (1632-1723) osservò e disegnò, con l'aiuto di un microscopio rudimentale con una sola lente, gli animali microscopici che popolano gli stagni (in basso).

Qui sotto, un microscopio del 1670. La lente è posta sotto il campione (la foglia verde). Quest'ultimo, che si osserva girando lo strumento, viene messo in posizione grazie a due barre filettate.



3.1. LE LENTI E LA DEVIAZIONE DELLA LUCE

Parti essenziali degli strumenti ottici sono le **lenti sferiche**, cioè *corpi rifrangenti limitati da superfici sferiche*. Esse hanno la proprietà di produrre, senza sensibili deformazioni, immagini ingrandite (*lenti convergenti*) o rimpicciolite (*lenti divergenti*) degli oggetti.

Per poter comprendere il funzionamento di un microscopio ottico, è necessario prima conoscere le modalità con cui le lenti deviano e focalizzano la luce in modo da formare un'immagine.

Una lente sferica convergente è costituita da un mezzo trasparente (alla luce visibile) limitato da superfici curve, come ad esempio nella lente biconvessa, o da una superficie curva ed una piana.

L'**asse ottico** è la linea ideale che unisce i centri di curvatura delle due superfici della lente.

Il **fuoco F** è un punto sull'asse ottico dove la lente fa convergere raggi di luce incidente paralleli all'asse ottico.

La **distanza focale OF** è la distanza tra il centro della lente ed il fuoco.

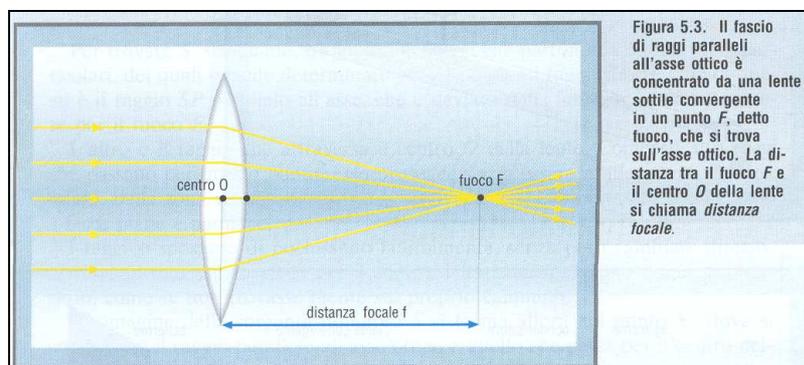


Figura 5.3. Il fascio di raggi paralleli all'asse ottico è concentrato da una lente sottile convergente in un punto F, detto fuoco, che si trova sull'asse ottico. La distanza tra il fuoco F e il centro O della lente si chiama *distanza focale*.

Quando un raggio luminoso passa da un mezzo ad un altro, si ha un fenomeno di **rifrazione**, cioè la direzione del raggio subisce una deviazione all'interfaccia dei due mezzi accompagnata da una variazione della velocità di propagazione della luce.

L'**indice di rifrazione** indica la misura di quanto una sostanza sia capace di rallentare la velocità della luce rispetto al valore massimo di velocità della luce nel vuoto (circa $3,00 \times 10^8$ m/s); la direzione e l'ampiezza della deviazione sono determinate dagli indici di rifrazione assoluti (cioè rispetto al vuoto) dei due mezzi che formano l'interfaccia. Quando la luce passa dall'aria al vetro, un mezzo con indice di rifrazione superiore, viene rallentata e deviata dalla direzione normale che è una linea perpendicolare alla superficie.

Quando invece la luce attraversa il vetro per tornare all'aria, un mezzo con indice di rifrazione inferiore, subisce un'accelerazione deviando di nuovo la propria direzione.

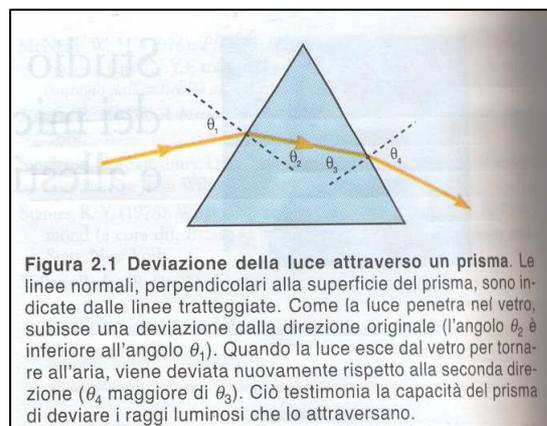


Figura 2.1 Deviazione della luce attraverso un prisma. Le linee normali, perpendicolari alla superficie del prisma, sono indicate dalle linee tratteggiate. Come la luce penetra nel vetro, subisce una deviazione dalla direzione originale (l'angolo θ_2 è inferiore all'angolo θ_1). Quando la luce esce dal vetro per tornare all'aria, viene deviata nuovamente rispetto alla seconda direzione (θ_4 maggiore di θ_3). Ciò testimonia la capacità del prisma di deviare i raggi luminosi che lo attraversano.

Si può quindi osservare come un prisma sia in grado di deviare la luce a causa del diverso indice di rifrazione dei due mezzi e come la luce colpisca la sua superficie formando un angolo.

Le lenti funzionano come un insieme di prismi in grado di rifrangere la luce.

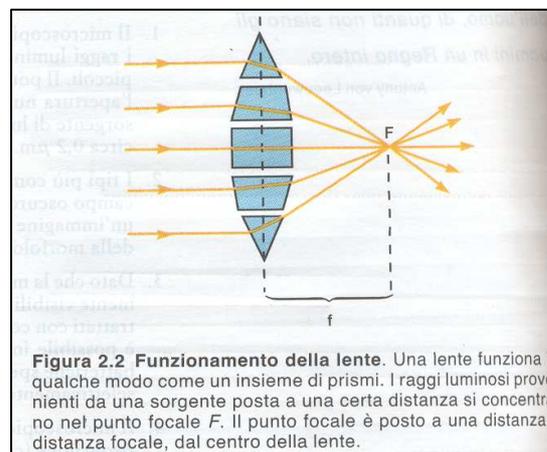
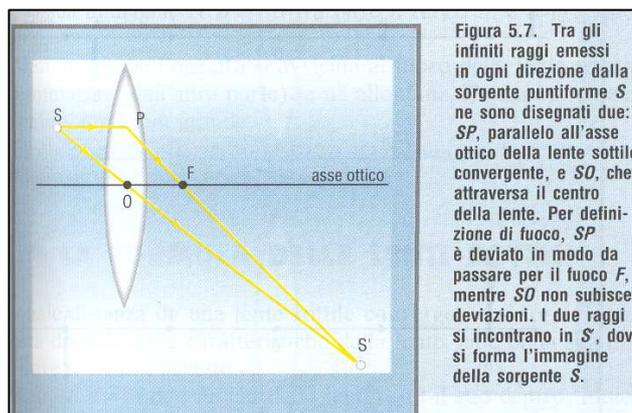


Figura 2.2 Funzionamento della lente. Una lente funziona in qualche modo come un insieme di prismi. I raggi luminosi provenienti da una sorgente posta a una certa distanza si concentrano nel punto focale F. Il punto focale è posto a una distanza f, distanza focale, dal centro della lente.

Vediamo ora come una lente è in grado di formare un'immagine.

Consideriamo una sorgente luminosa puntiforme S .

La sua immagine è il punto S' dove si intersecano il raggio parallelo all'asse ottico che viene rifratto, cioè deviato, e il raggio che passa per il centro della lente, che non viene deviato.



Se davanti ad una lente convergente si pone un oggetto illuminato di una certa estensione, da ciascuno dei suoi punti partono raggi luminosi che, dopo la rifrazione, formano, al di là della lente l'immagine dell'oggetto percepita dall'occhio. (VEDI FIGURA ALLA PAGINA SUCCESSIVA)

Il principio di funzionamento di una lente viene sfruttato da noi ogni giorno attraverso l'organo che presiede alla vista, cioè l'**occhio**.

L'occhio ha la forma di un globo. È racchiuso da una spessa membrana opaca, che presenta sul davanti una superficie trasparente detta *cornea*. Dietro di essa vi è l'*iride*, un diaframma che ha nel centro un foro, la *pupilla*, attraverso cui penetra la luce e il cui diametro varia a seconda dell'intensità della luce incidente. Lo spazio tra la cornea e l'iride è pieno di un liquido trasparente, l'*umor acqueo*. A contatto con l'iride, nella sua parte posteriore, vi è il *cristallino*, un corpo trasparente a forma di lente, circondato dal muscolo ciliare. Tutto lo spazio dietro al cristallino è pieno di una sostanza gelatinosa trasparente, l'*umor vitreo*.

Quando guardiamo un oggetto luminoso o illuminato, alcuni degli infiniti raggi di luce emessi in tutte le direzioni dai suoi diversi punti penetrano attraverso la pupilla nell'occhio; dopo essere stati rifratti dai vari mezzi trasparenti che incontrano, essi formano un'immagine reale dell'oggetto sulla retina.

Il cristallino è una lente, la cui distanza focale può variare per azione del muscolo ciliare che, contraendosi, modifica i raggi delle sue superfici: è questo il meccanismo dell'**accomodamento**, cioè della possibilità che ha l'occhio di formare sulla retina immagini nitide di oggetti che si trovano a diverse distanze.

Quando l'occhio normale è in riposo, il muscolo ciliare è rilasciato e il cristallino ha la curvatura minima: si dice allora che l'occhio è accomodato all'*infinito* (*punto remoto*). Contraendo il muscolo ciliare, si può far aumentare la curvatura del cristallino fino a formare sulla retina l'immagine nitida di oggetti che si trovano alla *distanza di circa 15 centimetri dall'occhio* (*punto prossimo*). Per giungere però a vedere distintamente a tale distanza è necessario un certo sforzo, mentre senza fatica sensibile l'occhio può restare a lungo accomodato a una *distanza di 25 centimetri* (*distanza della visione distinta*).

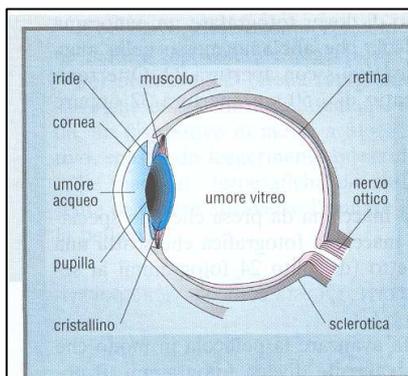


Figura 5.25. La luce penetra nell'occhio attraverso un diaframma (l'iride), al centro del quale c'è un foro (la pupilla) che si allarga e si stringe a seconda dell'intensità della luce. I raggi luminosi entrano poi in una lente convergente (il cristallino) e si depositano su una superficie dotata

di sensori sensibili alla luce (la retina). Il nervo ottico, mediante un codice di segnali nervosi, trasmette al cervello l'immagine che si è formata sulla retina. La cornea, l'umor acqueo, il cristallino e l'umor vitreo sono tutti mezzi trasparenti con diverso indice di rifrazione.

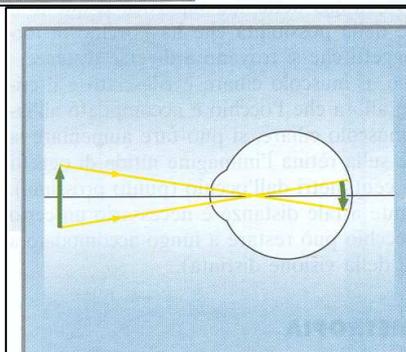


Figura 5.24. I raggi luminosi emessi, o diffusi, da un oggetto posto di fronte all'occhio passano attraverso una lente convergente (il cristallino) che produce un'immagine sulla retina.

COME SI FORMA L'IMMAGINE AL DI LÀ DI UNALENTE

Figura 5.9. Avvicinando la freccia luminosa alla lente, l'immagine è dapprima reale e capovolta, si forma sempre più lontano e diventa via via più grande (a), (b), (c). Quando la freccia è nel fuoco (d), l'immagine non si forma. Al di qua del fuoco l'immagine è virtuale e ingrandita (e).

Figura 5.9a. La freccia luminosa AB dista dal centro O della lente più del doppio della distanza focale ($2f$). Per costruire la sua immagine, sono disegnati due raggi emessi dalla punta B : il raggio parallelo all'asse ottico e quello che attraversa il centro della lente. Essi si incontrano al di là della lente in B' , dove si forma l'immagine di B . Procedendo in questo modo per tutti i punti della freccia, è possibile ricostruire l'intera immagine $A'B'$. Essa si forma oltre il fuoco F (ma a distanza minore di $2f$) ed è reale, capovolta e rimpicciolita.

Figura 5.9b. La freccia AB dista esattamente il doppio della distanza focale dal centro della lente. La sua immagine $A'B'$ ha la stessa dimensione, è capovolta e si forma al di là della lente a distanza doppia della distanza focale.

Figura 5.9c. La freccia AB si trova tra il fuoco e il doppio della distanza focale. La sua immagine è capovolta e ingrandita, e si forma oltre il doppio della distanza focale.

Figura 5.9d. Mettendo la sorgente luminosa sul fuoco, l'immagine non si forma. I raggi rifratti sono paralleli e quindi non convergono su un punto.

Figura 5.9e. La freccia AB si trova tra il fuoco F e la lente. Il raggio parallelo all'asse ottico e quello passante per il centro O divergono al di là della lente. I loro prolungamenti, invece, si incontrano dietro la freccia nel punto B' . È in questa posizione che si forma l'immagine $A'B'$, diritta, ingrandita e virtuale.

