

Optika B-510DK darkfield microscope

Gebruiksaanwijzing · Bedienungsanleitung · User manual

Taal · Sprache · Language	Pagina · Seite · Page
Meertalig / Mehrsprachig / Multilingual	2

OPTIKA®
ITALY

B-510 Series

INSTRUCTION MANUAL

Model
B-510DK

Ver. 2.5 2023

Table of contents

1. Warning 3
2. Safety Information 3
3. Package content 4
4. Unpacking 5
5. Intended use 5
6. Symbols and conventions 5
7. Instrument description 6
8. Assembling 8
9. Summary of brightfield observation procedures 10
10. Summary of darkfield observation procedures 11
11. Use of the microscope 12
 11.1 Light intensity adjustment 12
 11.2 Coarse focus tension adjustment 12
 11.3 Focus stop lever 12
 11.4 Stage 12
 11.5 Diopter adjustment 13
 11.6 Adjusting the interpupillary distance 13
 11.7 Use of eye shields 13
 11.8 Centering the brightfield condenser 14
 11.9 Effects of the field diaphragm 14
 11.10 Aperture diaphragm 14
12. Darkfield microscopy 15
 12.1 Principles of oil immersion microscopy 15
 12.2 Principles of darkfield illumination 17
 12.3 High magnification darkfield microscopy 18
 12.4 Darkfield observation 19
13. Microphotography 22
 13.1 Use of C-mount camera 22
 13.2 Use of Reflex cameras 22
14. Maintenance 23
15. Troubleshooting 24

Equipment disposal 26

1. Warning

This microscope is a scientific precision instrument designed to last for many years with a minimum of maintenance. It is built to high optical and mechanical standards and to withstand daily use. We remind you that this manual contains important information on safety and maintenance, and that it must therefore be made accessible to the instrument users. We decline any responsibility deriving from incorrect instrument use uses that does not comply with this manual.

2. Safety Information



Avoiding Electrical Shock

Before plugging in the power supply, make sure that the supplying voltage of your region matches with the operation voltage of the equipment and that the lamp switch is in off position. Users should observe all safety regulations of the region. The equipment has acquired the CE safety label. However, users have full responsibility to use this equipment safely. Please follow the guidelines below, and read this manual in its entirety to ensure safe operation of the unit.

3. Package content



① Microscope frame
② Eyepieces
③ Objectives
④ Observation head
⑤ Immersion oil
⑥ Allen wrench
⑦ Tension adjustment tool
⑧ Dust cover
⑨ Power supply
⑩ Brightfield condenser
⑪ Darkfield condenser
⑫ Centering telescope

4. Unpacking

The microscope is housed in a moulded Styrofoam container. Remove the tape from the edge of the container and lift the top half of the container. Take some care to avoid that the optical items (objectives and eyepieces) fall out and get damaged. Using both hands (one around the arm and one around the base), lift the microscope from the container and put it on a stable desk.



Do not touch with bare hands optical surfaces such as lenses, filters or glasses. Traces of grease or other residuals may deteriorate the final image quality and corrode the optics surface in a short time.

5. Intended use

Standard models

For research and teaching use only. Not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

IVD Models

Also for diagnostic use, aimed at obtaining information on the physiological or pathological situation of the subject.

6. Symbols and conventions

The following chart is an illustrated glossary of the symbols that are used in this manual.



CAUTION

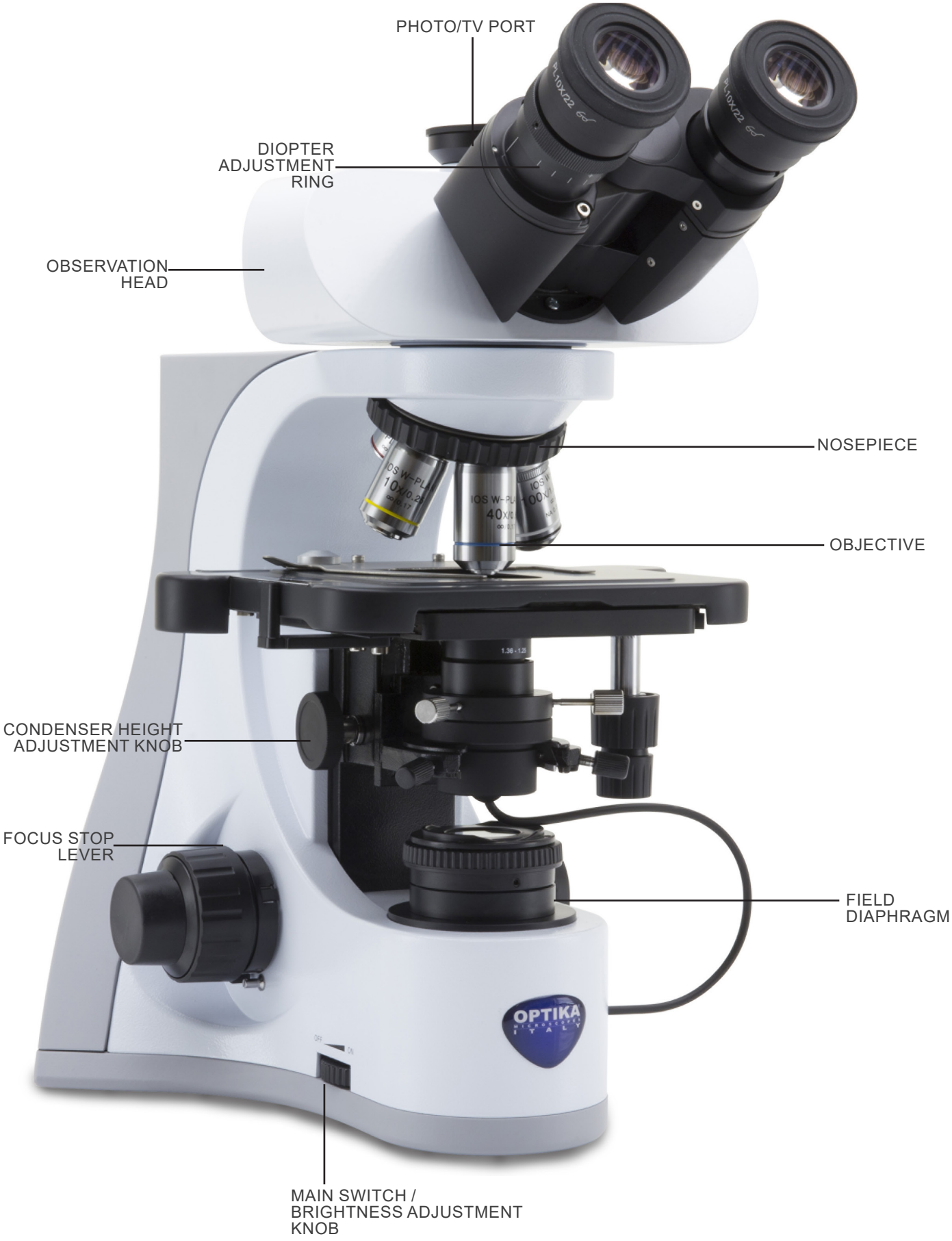
This symbol indicates a potential risk and alerts you to proceed with caution.



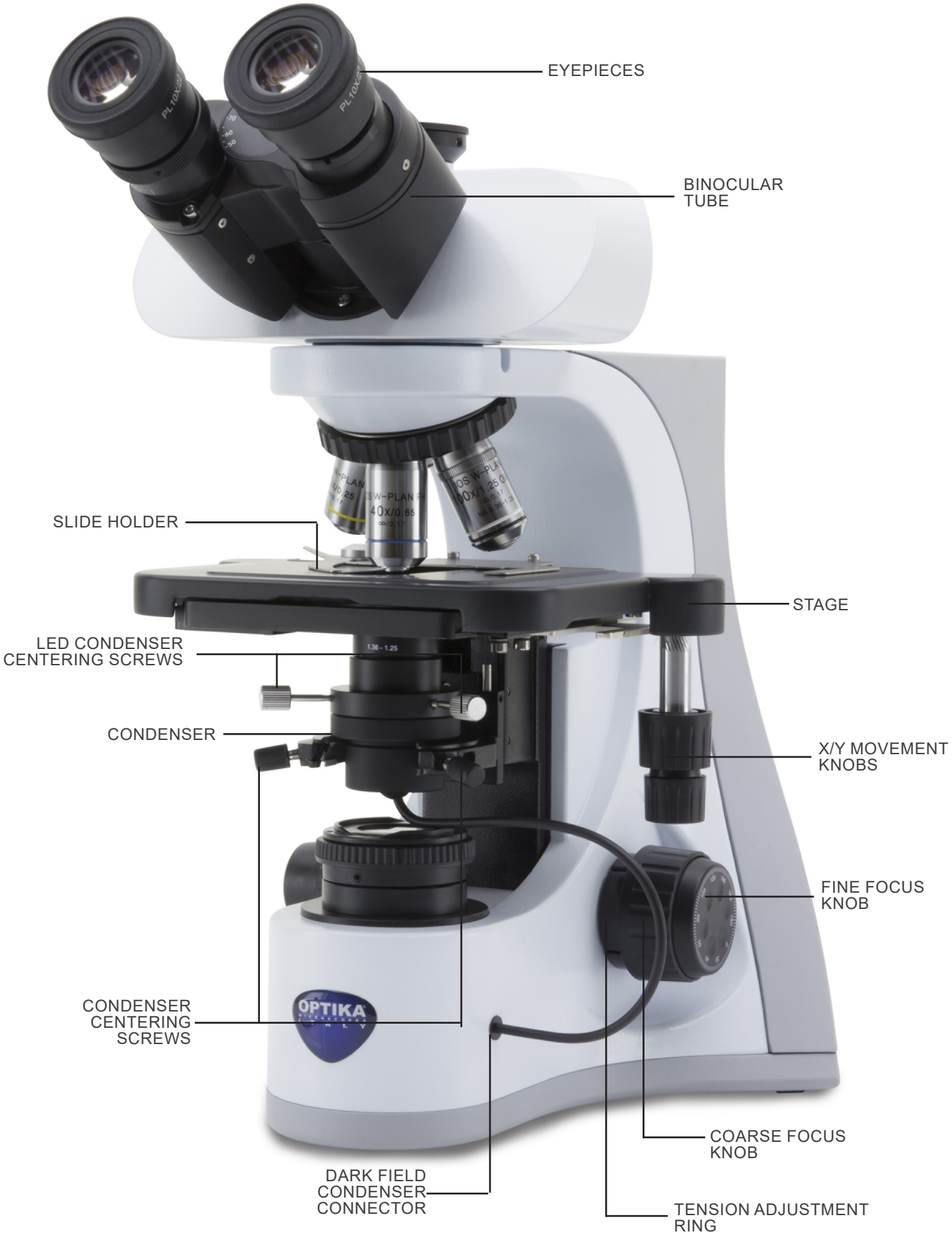
ELECTRICAL SHOCK

This symbol indicates a risk of electrical shock.

7. Instrument description



Opposite side



8. Assembling

1. Insert the optical head above the stand and tighten the screw. (Fig. 1)

- **Hold the head with one hand during the locking in order to avoid that the head falls**.


Fig. 1

2. Insert both eyepieces into the tubes of the optical head. (Fig. 2)


Fig. 2

3. Screw each objective into the thread of the nosepiece, clockwise with increasing magnification. (Fig. 3)


Fig. 3

4. Insert the power supply jack in the connector placed at the rear side of the microscope. (Fig. 4)


Fig. 4

- **The microscope is delivered with two condensers: one for brightfield and one for darkfield. Select the suitable condenser for the observation mode desired.**

5. Lower the condenser holder using the height condenser knob ①. (Fig. 5)



6. Insert the condenser round dovetail in the condenser holder. (Fig. 6)



7. Tight the condenser locking screw ②. (Fig. 7)

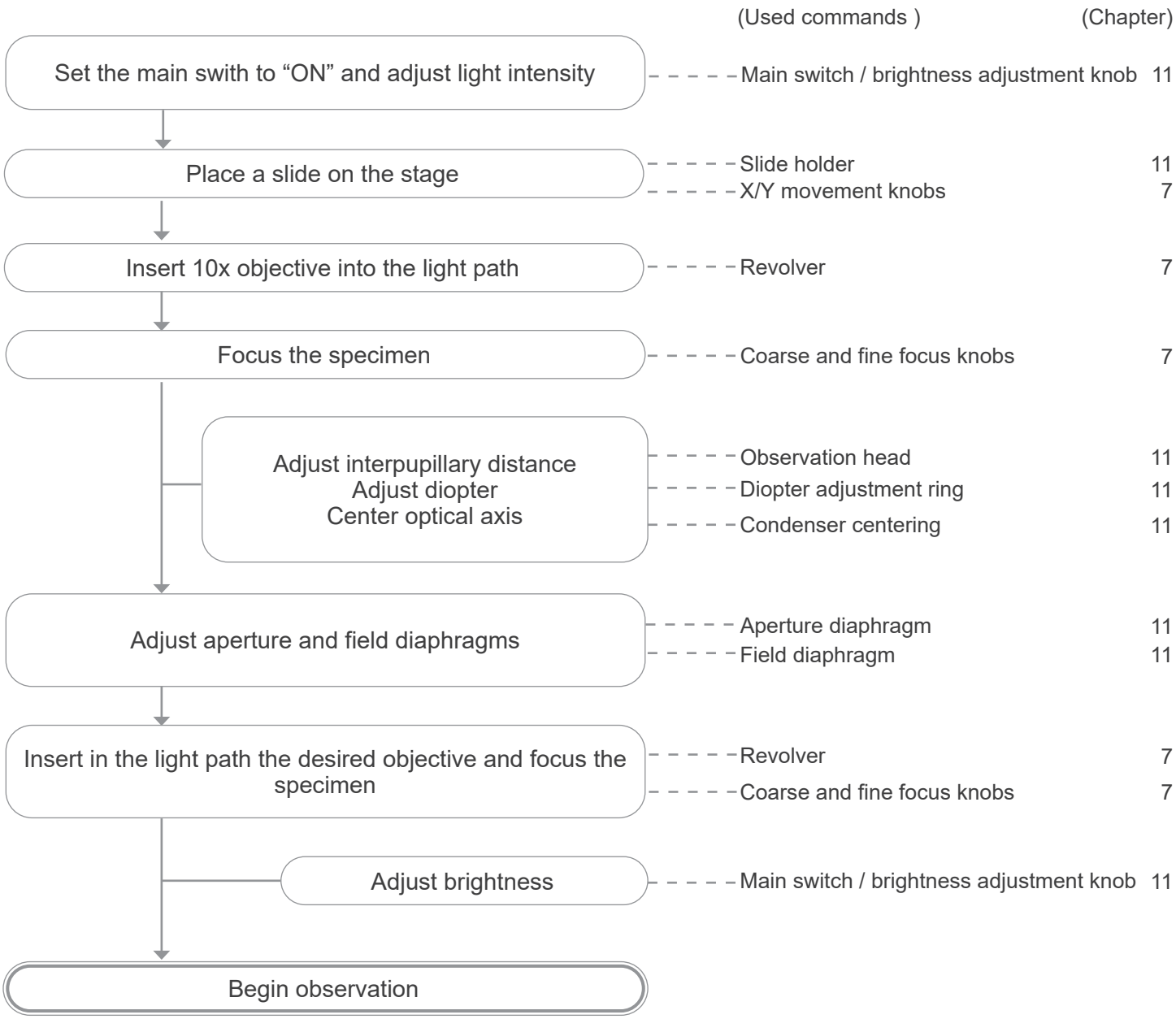


8. **(Only for darkfield condenser)**
   Connect the condenser jack to the connector on the right side of the frame. (Fig. 8)

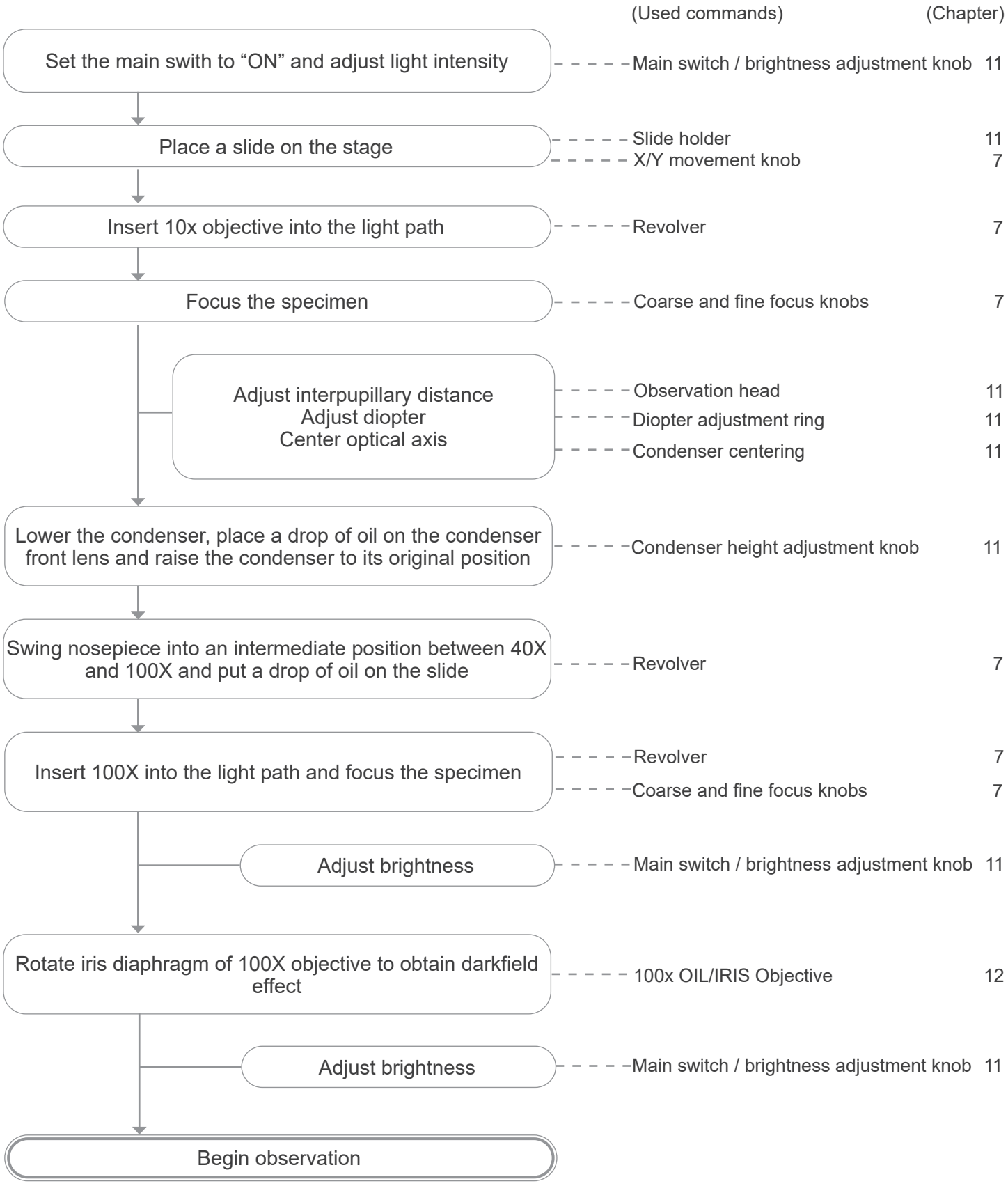
- **When the condenser plug is connected, the light coming from the microscope LED goes out and the internal condenser LED turns on.**



9. Summary of brightfield observation procedures



10. Summary of darkfield observation procedures



11. Use of the microscope

11.1 Light intensity adjustment

Operate on the light intensity adjustment knob to turn ON / OFF the microscope and to increase / decrease the illumination voltage ①. (Fig. 9)

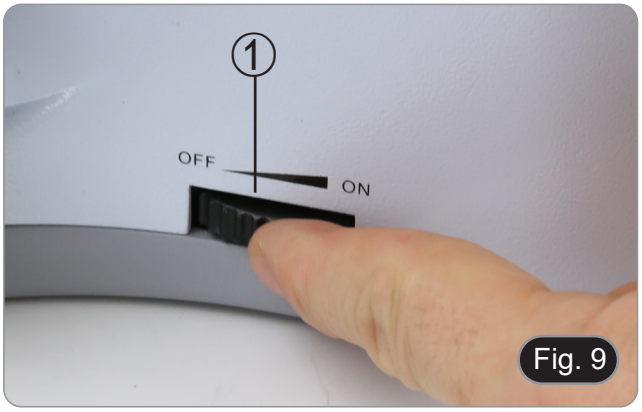


Fig. 9

11.2 Coarse focus tension adjustment

- **Adjust the tension using the provided tool.**

The coarse knob tension is pre-set in the factory.

1. To modify the tension according to personal's needs, rotate the ring ② using the provided tool (Fig. 10).

- Clockwise rotation increases the tension.
- If the tension is too loose, the stage could go lower by itself or the focus easily lost after fine adjustment. In this case, rotate the knob in order to increase the tension.



Fig. 10

11.3 Focus stop lever

The upper limit knob has two functions: prevent the contact between slide and objective and acts as "focus memory".

1. After focusing the specimen, pull the lever ③ toward the front of the microscope and lock it. (Fig. 11)

- In this way the focus upper limit is set.

2. Now one can lower the stage with coarse focus knob, replace the specimen and raise again the stage up to the upper limit: specimen will be in approximate focus and will need a fine adjustment to get the proper focus.

- **Fine focus movement is not affected by the coarse focus lock.**
- **To unlock, move the lever in the opposite direction to the one used for the locking.**

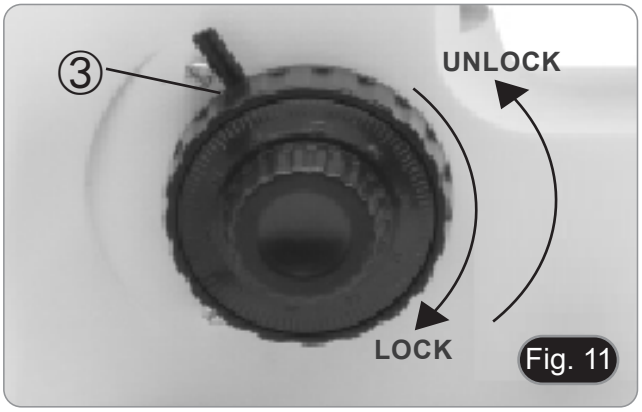


Fig. 11

11.4 Stage

Stage accepts standard slides 26 x 76 mm, thickness 1.2 mm with coverlside 0.17mm.
It is possible to place two slides side by side on the stage. (Fig. 12)

- **Open the spring arm of the slide holder ④ and place frontally the slides on the stage.**
- **Gently release the spring arm of the slide holder.**
- **A sudden release of the spring arm could cause the falling of the slide.**

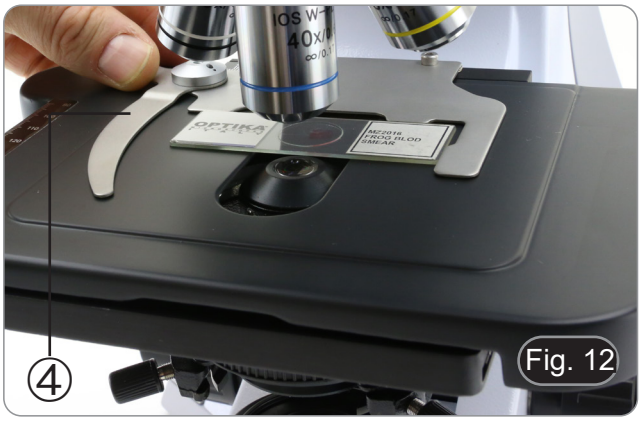


Fig. 12

11.5 Diopter adjustment

1. Look into the right eyepiece with your right eye only, and focus on the specimen.
2. Look into the left eyepiece with your left eye only. If the image is not sharp, use the diopter adjustment ring ① to compensate. (Fig. 13)

- **The adjustment range is ±5 diopter. The number indicated on the adjustment ring graduation should correspond to the operator's diopter correction.**



Fig. 13

11.6 Adjusting the interpupillary distance

Observing with both eyes, hold the two eyepiece prism assemblies. Rotate them around their common axis until the fields of view coincide.

- The graduation on the interpupillary distance indicator ②, pointed by the spot "." on the eyepiece holder, shows the distance between the operator's eyes. (Fig. 14)

The range of the interpupillary distance is 48-75mm.

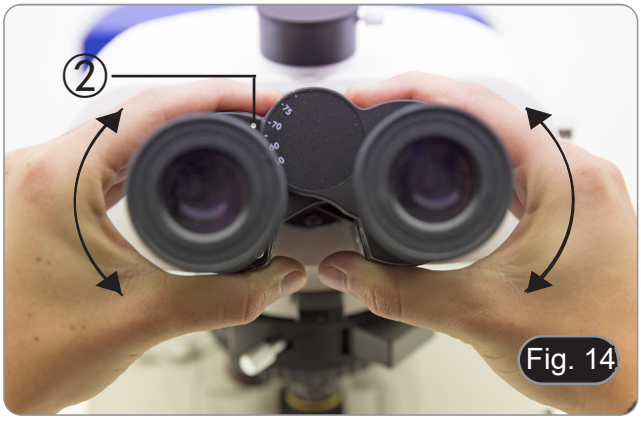


Fig. 14

11.7 Use of eye shields

- **Use without eyeglasses**

Raise eye shields and observe at the microscope placing eyes to the shields, avoiding external light to disturb the observation. (Fig. 15)


Fig. 15

- **Use with eyeglasses**

Fold rubber eyeshields with both hands. Folded eyeshields avoid scratching the lenses of eyeglasses. (Fig. 16)


Fig. 16

11.8 Centering the brightfield condenser

1. Place the specimen on the stage, insert 10x objective into the light path and focus.
2. Insert the front lens of the swing-out condenser ①. (Fig. 17)
3. Rotate the field diaphragm ring ② in the direction showed by the arrow, to fully close the diaphragm.
4. Rotate the condenser height adjustment knob ③ to focus the edges of the diaphragm.
5. Rotate the two centering screws ④ to bring the bright spot in the center of the field of view.
6. Gradually open the diaphragm. The condenser is centered when the diaphragm image is symmetrical to the field of view.
7. In normal use, open the diaphragm until it circumscribes the field of view.

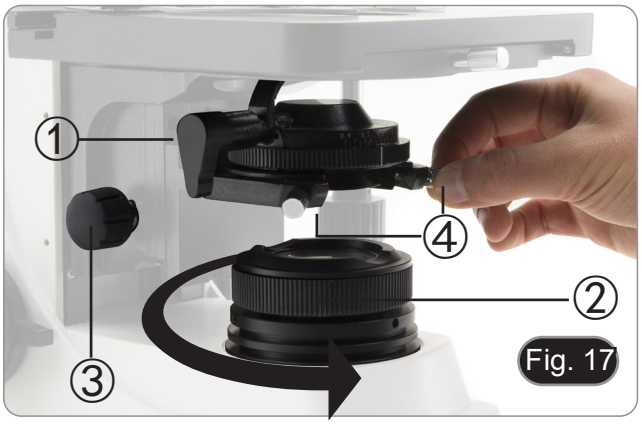
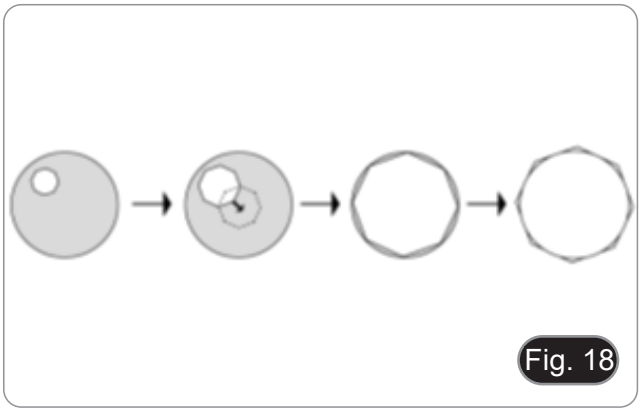


Fig. 17

11.9 Effects of the field diaphragm

Field diaphragm adjusts the illuminated area to obtain a high contrast image.
Set the diaphragm according to the objective in use until it circumscribes the field of view, in order to eliminate unnecessary light to eyepieces. (Fig. 18)


Fig. 18

11.10 Aperture diaphragm

The Numerical Aperture (N.A.) value of the aperture diaphragm affects the image contrast. Increasing or reducing this value one can vary resolution, contrast and depth of focus of the image.

With low contrast specimens set the numerical aperture value ⑤ (printed on the condenser ring) to about 70%-80% of the objective's N.A.(Fig. 19). If necessary, remove on eyepiece and, looking into empty sleeve, adjust the condenser's ring in order to obtain an image like the one in fig. 20.

Example: with objective PLAN 40x / 0.65 set the scale to 0.65 x 0.8 = 0.52



Fig. 19

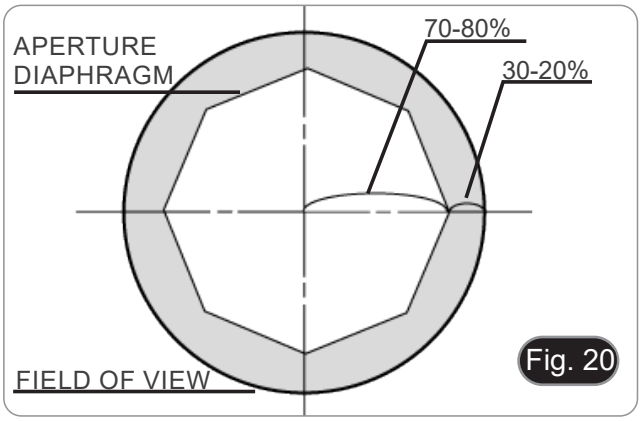


Fig. 20

12. Darkfield microscopy

B-510DK is a darkfield system specific for blood analysis with a 1.36 - 1.25 N.A. special extra efficient darkfield condenser and a 100X plan-achromatic objective with adjustable iris diaphragm.
The X-LED illumination ensures the high level of light intensity typically needed in high magnification darkfield techniques.

In order to correctly use this microscope, one has to gain some familiarity with:
a. oil immersion technique
b. darkfield technique.

In the following manual we present the basics of these methods (chapters 12.1 and 12.2) and then we give a step-by-step guide to the configuration of B-510DK (chapter 12.4).

General tips for immersion microscopy are also given.

12.1 Principles of oil immersion microscopy

The ability of a microscope objective to capture deviated light rays from a specimen is dependent upon both the numerical aperture and the medium through which the light travels.

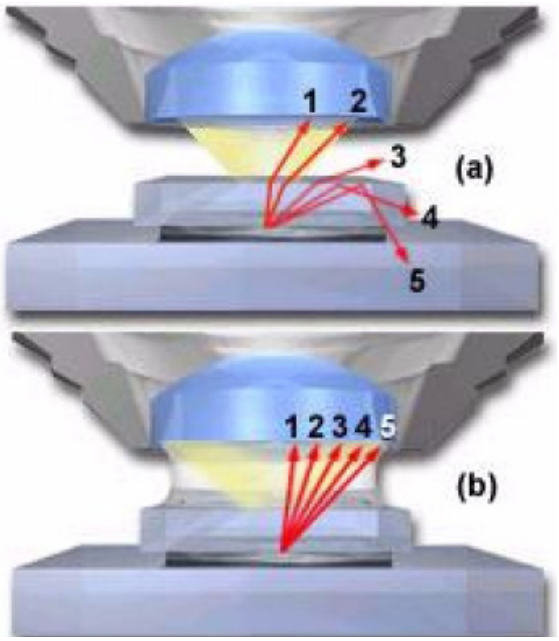
An objective's numerical aperture is directly proportional to the refractive index of the imaging medium between the coverslip and the front lens, and also to the sin of one-half the angular aperture of the objective.

Because sin cannot be greater than 90 degrees, the maximum possible numerical aperture is determined by the refractive index of the immersion medium.

Most microscope objectives use air as the medium through which light rays must pass between the coverslip protecting the sample and front lens of the objective. Objectives of this type are referred to as dry objectives because they are used without liquid imaging media.

Air has a refractive index of 1.0003, very close to that of a vacuum and considerably lower than most liquids, including water (n = 1.33), glycerin (n = 1.470) and common microscope immersion oils (average n = 1.515).

Practically, the maximum numerical aperture of a dry objective system is limited to 0.95, and greater values can only be achieved using optics designed for immersion media.



Oil immersion and Numerical Aperture

Fig. 21

The principle of oil immersion is demonstrated in Fig. 21 where individual light rays are traced through the specimen and either pass into the objective or are refracted in other directions. Fig. 21(a) illustrates the case of a dry objective with five rays (labeled 1 through 5) shown passing through a sample that is covered with a coverslip. These rays are refracted at the coverslide-air interface and only the two rays closest to the optical axis (rays 1 and 2) of the microscope have the appropriate angle to enter the objective front lens. The third ray is refracted at an angle of about 30 degrees to the coverslip and does not enter the objective. The last two rays (4 and 5) are internally reflected back through the coverslip and, along with the third ray, contribute to internal reflections of light at glass surfaces that tend degrade image resolution. When air is replaced by oil of the same refractive index as glass, shown in Fig. 21(b), the light rays now pass straight through the glass-oil interface without deviation due to refraction. The numerical aperture is thus increased by the factor of n, the refractive index of oil.

Microscope objectives designed for use with immersion oil have a number of advantages over those that are used dry. Immersion objectives are typically of higher correction (either fluorite or apochromatic) and can have working numerical apertures up to 1.40 when used with immersion oil having the proper dispersion and viscosity. These objectives allow the substage condenser diaphragm to be opened to a greater degree, thus extending the illumination of the specimen and taking advantage of the increased numerical aperture.

A factor that is commonly overlooked when using oil immersion objectives of increased numerical aperture is limitations placed on the system by the substage condenser.

In a situation where an oil objective of NA = 1.40 is being used to image a specimen with a substage condenser of smaller numerical aperture (1.0 for example), the lower numerical aperture of the condenser overrides that of the objective and the total NA of the system is limited to 1.0, the numerical aperture of the condenser.

Modern substage condensers often have a high degree of correction with numerical aperture values ranging between 1.0 and 1.40. In order to effectively utilize all the benefits of oil immersion, the interface between the substage condenser front lens and the underside of the microscope slide containing the specimen should be also be immersed in oil.
An ideal system is schematically diagrammed in Fig. 22, where immersion oil has been placed at the interfaces between the objective front lens and the specimen slide and also between the front lens of the condenser and the underside of the specimen slide.

This system has been termed a Homogeneous Immersion System and it is the ideal situation to achieve maximum numerical aperture and resolution in an optical microscope.

In this case, the refractive index and dispersion of the objective front lens, immersion oil, substage condenser front lens, and the mounting medium are equal or very near equal.

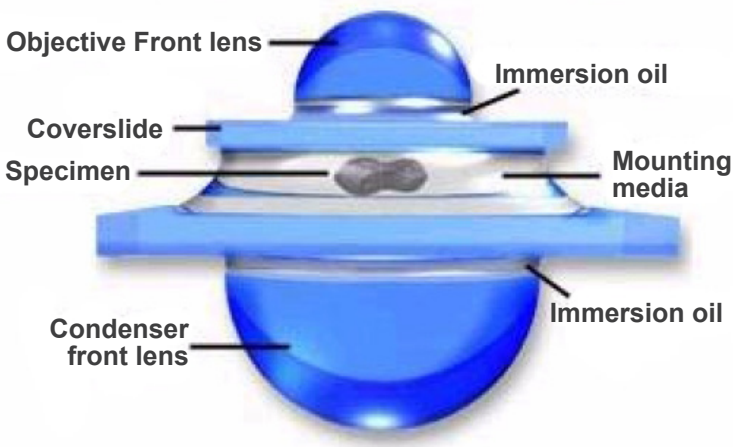
In this ideal system, an oblique light ray can pass through the condenser lens and completely through the microscope slide, immersion oil, and mounting medium undeviated by refraction at oil-glass or mounting medium-glass interfaces.

When using high-power achromat oil immersion objectives, it is sometimes permissible to omit the step of oiling the condenser top lens.

This is because the condenser aperture diaphragm must often be reduced with lesser-corrected objectives to eliminate artifacts and provide optimum imaging.

The reduction in diaphragm size reduces the potential increase in numerical aperture (provided by oiling the condenser lens) so the loss in image quality under these conditions is usually negligible.

Darkfield microscopy is a specialized lighting technique that uses oblique illumination to improve contrast in samples that cannot be well observed under normal brightfield illumination conditions.



Homogeneous Immersion System

Fig. 22

We are all quite familiar with the appearance and visibility of stars on a dark night, despite their huge distances from the Earth. Stars can be seen because of the sharp contrast between their weak light and the black sky.

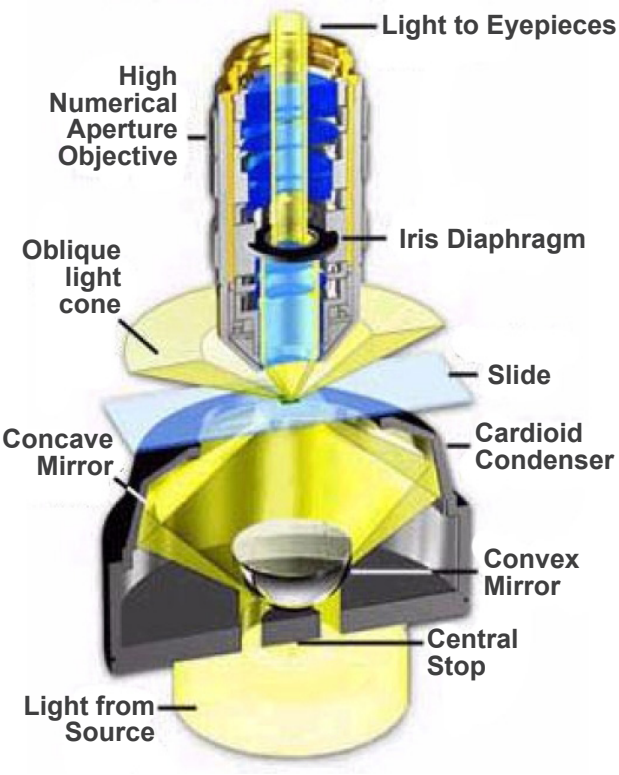
12.2 Principles of darkfield illumination

Darkfield microscopy is a specialized illumination technique that capitalizes on oblique illumination to enhance contrast in specimens that are not imaged well under normal brightfield illumination conditions.

All of us are quite familiar with the appearance and visibility of stars on a dark night, this despite their enormous distances from the earth. Stars can be seen because of the stark contrast between their faint light and the black sky.

This principle is applied in darkfield (also called darkground) microscopy, a simple and popular method for making unstained objects clearly visible. Such objects are often have refractive indices very close in value to that of their surroundings and are difficult to image in conventional brightfield microscopy. For instance, many small aquatic organisms have a refractive index ranging from 1.2 to 1.4, resulting in a negligible optical difference from the surrounding aqueous medium. These are ideal candidates for darkfield illumination.

Darkfield illumination requires blocking out of the central light which ordinarily passes through and around (surrounding) the specimen, allowing only oblique rays from every azimuth to "strike" the specimen mounted on the microscope slide. The top lens of a simple Abbe darkfield condenser is spherically concave, allowing light rays emerging from the surface in all azimuths to form an inverted hollow cone of light with an apex centered in the specimen plane. If no specimen is present and the numerical aperture of the condenser is greater than that of the objective, the oblique rays cross and all such rays will miss entering the objective because of their obliquity. The field of view will appear dark.



Cardioid condenser for darkfield

Fig. 23

The darkfield condenser/objective pair illustrated in Fig. 23 is a high-numerical aperture arrangement that represents darkfield microscopy in its most sophisticated configuration, which will be discussed in detail below. The objective contains an internal iris diaphragm that serves to reduce the numerical aperture of the objective to a value below that of the inverted hollow light cone emitted by the condenser. The cardioid condenser is a reflecting darkfield design that relies on internal mirrors to project an aberration-free cone of light onto the specimen plane.

When a specimen is placed on the slide, especially an unstained, non-light absorbing specimen, the oblique rays cross the specimen and are diffracted, reflected, and/or refracted by optical discontinuities (such as the cell membrane, nucleus, and internal organelles) allowing these faint rays to enter the objective. The specimen can then be seen bright on an otherwise black background. In terms of Fourier optics, darkfield illumination removes the zeroth order (unscattered light) from the diffraction pattern formed at the rear focal plane of the objective. This results in an image formed exclusively from higher order diffraction intensities scattered by the specimen.

Ideal candidates for darkfield illumination include minute living aquatic organisms, diatoms, small insects, bone, fibers, hair, unstained bacteria, yeast, and protozoa.

Non-biological specimens include mineral and chemical crystals, colloidal particles, dust-count specimens, and thin sections of polymers and ceramics containing small inclusions, porosity differences, or refractive index gradients.

Care should be taken when preparing specimens for darkfield microscopy because features that lie above and below the plane of focus can also scatter light and contribute to image degradation.

Specimen thickness and microscope slide thickness are also very important and, in general, a thin specimen is desirable to eliminate the possibility of diffraction artifacts that can interfere with image formation.

12.3 High magnification darkfield microscopy

For more precise work and blacker backgrounds, you may choose a condenser designed especially for darkfield, i.e. to transmit only oblique rays. There are several varieties: “dry” darkfield condensers with air between the top of the condenser and the underside of the slide–and immersion darkfield condensers which require the use of a drop of immersion oil (some are designed to use water instead) establishing contact between the top of the condenser and the underside of the specimen slide. The immersion darkfield condenser has internal mirrored surfaces and passes rays of great obliquity and free of chromatic aberration, producing the best results and blackest background.
Perhaps the most widely used darkfield condenser is the paraboloid, consisting of a solid piece of glass ground very accurately into the shape of a paraboloid.

As discussed above, the dry darkfield condenser is useful for objectives with numerical apertures below 0.75, while the paraboloid and cardioid immersion condensers (Fig. 23) can be used with objectives of very high numerical aperture (up to 1.4). Objectives with a numerical aperture above 1.2 will require some reduction of their working aperture since their maximum numerical aperture may exceed the numerical aperture of the condenser, thus allowing direct light to enter the objective.
For this reason, many high numerical aperture objectives designed for use with darkfield as well as brightfield illumination are made with a built-in adjustable iris diaphragm that acts as an aperture stop.

This reduction in numerical aperture also limits the resolving power of the objective as well as the intensity of light in the image. Specialized objectives designed exclusively for darkfield work are produced with a maximum numerical aperture close to the lower limit of the numerical aperture of the darkfield condenser. They do not have internal iris diaphragms, however the lens mount diameters are adjusted so at least one internal lens has the optimum diameter to perform as an aperture stop.

The cardioid condenser is very sensitive to alignment and must be carefully positioned to take advantage of the very sharp cone of illumination, making it the most difficult darkfield condenser to use. In addition, the condenser produces a significant amount of glare, even from the most minute dust particles, and the short focal length may result in poor illumination on objects that exceed a few microns in size or thickness. When choosing microscope slides for quantitative high-magnification darkfield microscopy, make certain to select slides made from a glass mixture that is free of fluorescent impurities.

Careful attention should be paid to the details of oiling a high numerical aperture condenser to the bottom of the specimen slide. It is very difficult to avoid introduction of tiny air bubbles into the area between the condenser top lens and the bottom of the microscope slide, and this technique should be practiced to perfection. Air bubbles will cause image flare and distortion, leading to a loss of contrast and overall image degradation.

Problems are also encountered when using microscope slides that are either too thick or too thin. Many darkfield condensers contain the range of usable slide thickness inscribed directly on the condenser mount. If the slide is too thick, it is often difficult to focus the condenser without resorting to a higher viscosity immersion oil. On the other hand, slides that are too thin have a tendency to break the oil bond between the condenser and the slide. It is a good idea to purchase precision microscope slides of the correct thickness to avoid any of the problems mentioned above.
High numerical aperture condensers, whether intended for use dry or with oil, must be accurately centered in the optical path of the microscope to realize optimum performance.

To achieve this, many darkfield condensers are built with a small circle engraved onto the upper surface to aid in centering the condenser. Centering is performed with a low power (10x-20x) objective by imaging the engraved circle and using the condenser centering screws to ensure the circle (and condenser) are correctly centered in the optical path.

12.4 Condenser centring for darkfield

1. Select a darkfield specimen and place it on the microscope.
2. Insert 10x objective in the light path and focus the specimen.

- **The condenser will project a spot of light onto the sample that can be used for centering the optical path.**

3. Use the condenser centering screws to move the ring of light into the center of the field of view ①. (Fig. 24)

- **It could be useful to vary the height of the condenser in order to view the spot.**
- **It is often advantageous to use a low power 10x objective when centering high numerical aperture darkfield condensers.**
- **When viewing a specimen with the 10x objective while slowly raising and lowering the condenser, a point will be reached where a bright spot will appear in the field of view as illustrated in Fig. 25(a). As the condenser is slightly raised or lowered, a dark spot similar to the one shown in Fig. 25(b), if the condenser is properly centered. In cases where the condenser is not properly aligned and centered, a typical field of view might look like that shown in Fig. 25(c) and (d). The ideal and correct positioning of the condenser is illustrated in Fig. 25(a), and the condenser should be adjusted until the field of view appears in this manner, with the condenser centering screws.**



Fig. 24

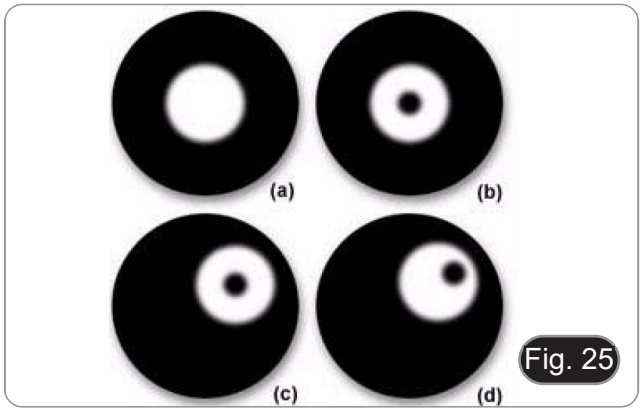
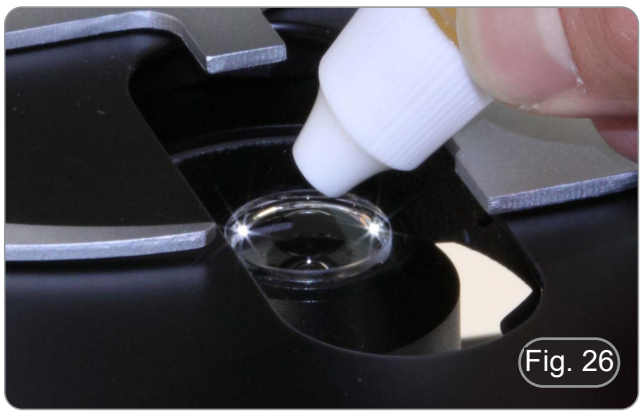


Fig. 25

4. Remove the slide and put a drop of oil (provided) on the condenser front lens. (Fig. 26)

- **Make sure there are no air bubbles. Air bubbles in the oil damage the quality of the image.**

5. Reposition the slide and raise the condenser until the oil on the lens of the condenser is in contact with the slide.
6. Move the area to be observed at the center of the optical path using a low magnification objective (10x or 40x).
7. Focus the specimen.


Fig. 26

8. Insert in the light path 100X oil/Iris objective. This pre-positions all system components in preparation for adding oil. Move the immersion objective to an adjacent position of the nosepiece and apply the oil to the sample. (Fig. 27)



Fig. 27

9. Currently, the situation must be in which the slide is completely immersed in oil both in the lower part (condenser-glass interface) ①, and in the upper part (glass-lens interface) ②. (Fig. 28)

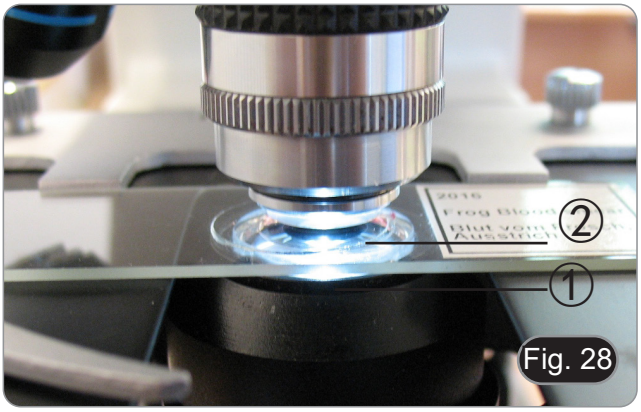
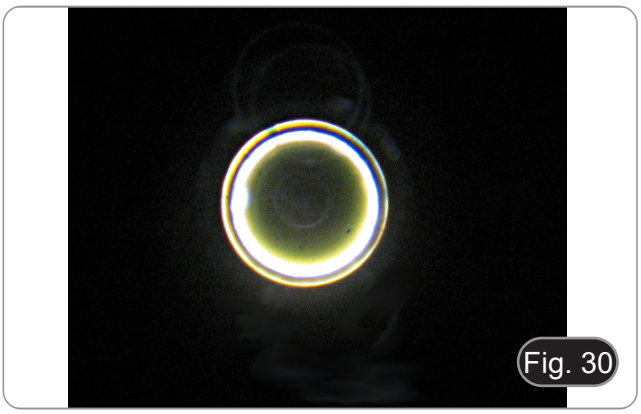


Fig. 28

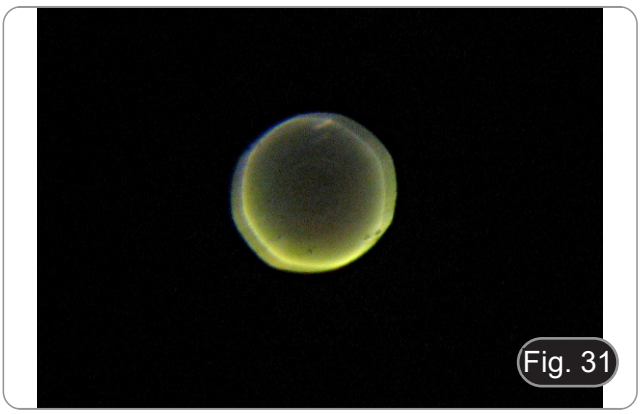
10. Remove one eyepiece and insert the centering telescope in the empty eyepiece sleeve. (Fig. 29)


Fig. 29

11. Rotating the upper part of the centering telescope focus the image of the light ring visible in the periphery of the field of view. (Fig. 30)


Fig. 30

- **If the condenser is not perfectly centered or if the condenser is not at the exact height (too high or too low), the projected image will be similar to the one in Fig. 31.**


Fig. 31

12. Fine adjust the condenser centering using the condenser height adjustment knob, on the condenser ① and LED ② centering screws. (Fig. 32)

13. After properly setting the condenser, remove the centering telescope and insert again the eyepiece. Now begin the observation.



Fig. 32

14. 100x objective has in internal iris diaphragm that allows the adjustment of the numerical aperture. Rotate the diaphragm ③ to close the iris. (Fig. 33)

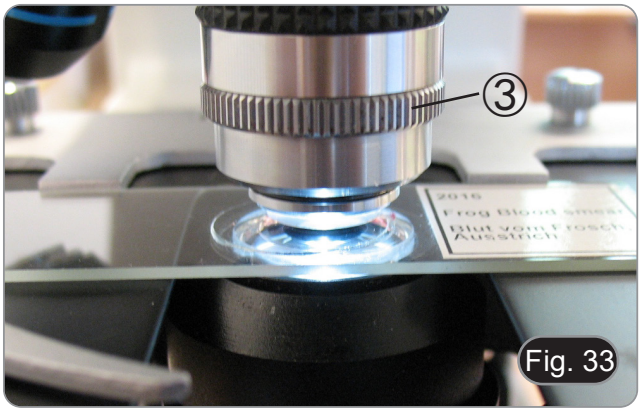
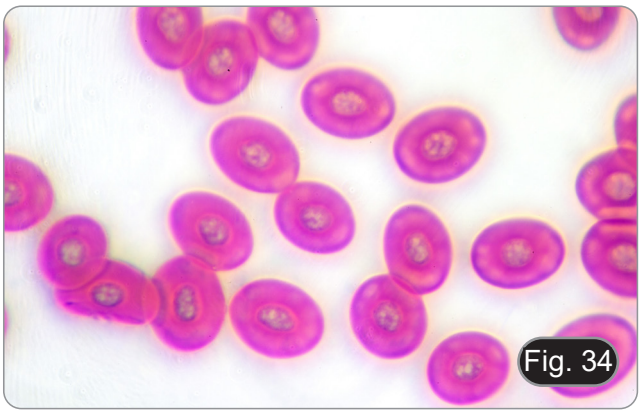
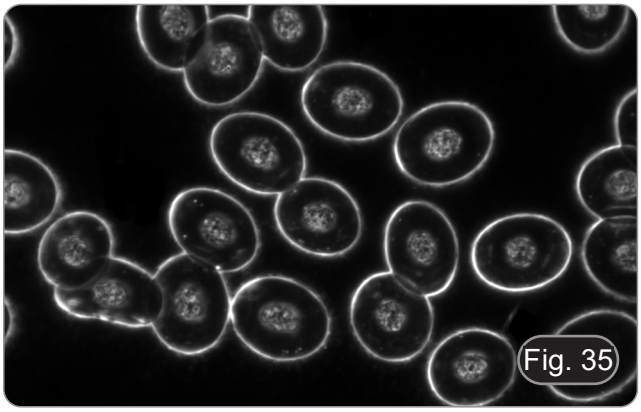


Fig. 33

15. The effect one will obtain switching from a fully opened iris (similar to a brightfield observation) to a fully closed iris (dark-field observation) is shown in Fig. 34 and 35.


Fig. 34


Fig. 35

13. Microphotography

13.1 Use of C-mount camera

1. Loosen the clamping screw ① on the trinocular port and remove the dust cap②. (Fig. 36)

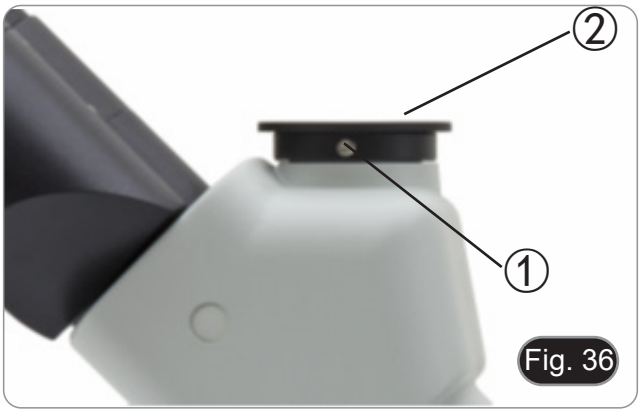


Fig. 36

2. Screw the C-mount adapter ③ to the camera ④ and insert the round dovetail of the C-mount into the empty hole of the trinocular port, then tighten the clamping screw ①. (Fig. 37)



Fig. 37

13.2 Use of Reflex cameras

1. Insert the Reflex adapter ② into the relay tube to the microscope ①.
2. Screw the “T2” ring ③ (not provided) to the reflex adapter.
3. Connect the Reflex camera ④ to the “T2” ring just installed. (Fig. 38)
4. Mount the other end of the relay tube ① into the empty hole of the trinocular port, then tighten the clamping screw. (Fig. 36)

- “T2” ring is not provided along with the microscope, but is commercially available.
- While shooting dark specimens, darken eyepieces and viewfinder with a dark cloth to minimize the diffused light.
- To calculate the magnification of the camera: objective magnification * camera magnification * lens magnification.
- **If using an SLR camera, mirror movement may cause the camera to vibrate. We suggest lifting the mirror, using long exposure times and a remote cord.**



Fig. 38

14. Maintenance

Microscopy environment

This microscope is recommended to be used in a clean, dry and shock free environment with a temperature of 5°-40°C and a maximum relative humidity of 75 % (non condensing). Use a dehumidifier if needed.

To think about when and after using the microscope



- The microscope should always be kept vertically when moving it and be careful so that no moving parts, such as the eyepieces, fall out.
- Never mishandle or impose unnecessary force on the microscope.
- Never attempt to service the microscope yourself.
- After use, turn off the light immediately, cover the microscope with the included dust cover, and keep it in a dry and clean place.

Electrical safety precautions



- Before plugging in the power supply, make sure that the supplying voltage of your region matches with the operation voltage of the equipment and that the lamp switch is in off- position.
- Users should observe all safety regulations of the region. The equipment has acquired the CE safety label. However, users do have full responsibility to use this equipment safely.

Cleaning the optics

- If the optical parts need to be cleaned try first to: use compressed air.
- If that is not sufficient: use a soft lint-free piece of cloth with water and a mild detergent.
- And as a final option: use the piece of cloth moistened with a 3:7 mixture of ethanol and ether.
- **Note: ethanol and ether are highly flammable liquids. Do not use them near a heat source, near sparks or near electric equipment. Use these chemicals in a well ventilated room.**
- Remember to never wipe the surface of any optical items with your hands. Fingerprints can damage the optics.
- Do not disassemble objectives or eyepieces in attempt to clean them.

For the best results, use the OPTIKA cleaning kit (see catalogue).

If you need to send the microscope to Optika for maintenance, please use the original packaging.

15. Troubleshooting

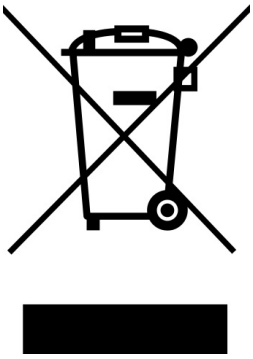
Review the information in the table below to troubleshoot operating problems.

PROBLEM	CAUSE	SOLUTION
I. Optical Section:		
LED operates, but field of view remains dark.	Power supply is unplugged.	Connect
	Brightness is too low	Set brightness to a proper level
Field of view is obscured or not evenly illuminated	Revolving nosepiece is not correctly engaged.	Make sure that the revolving nosepiece clicks properly into place.
	Oil is not present or not in sufficient quantity on the front lens of the condenser and on the slide	Check for the correct presence of oil
Dirt or dust is visible in the field of view.	Dirt/dust on the specimen	Clean the specimen
	Dirt/dust on the eyepieces	Clean the eyepieces
The image (using the microscope in the bright field) appears doubled	Aperture iris diaphragm is stopped down too far.	Open aperture iris diaphragm.
	The condenser is not well centered or it is in a wrong height	Set the condenser according to Koehler settings.
Visibility is poor. • Image is poor. • Contrast is poor. • Details are indistinct.	Revolving nosepiece is in an incorrect position	Move the nosepiece to a click stop
	Aperture iris diaphragm (when working in brightfield) is too closed or too open.	Adjust aperture iris diaphragm.
	Dust or dirt on lenses (condenser, objectives, eyepieces and slide)	Clean thoroughly.
	For transmitted light observation, the coverglass thickness must not exceed 0.17mm	Use a coverglass with thickness 0.17mm
	Focus is not even	Slide holder is not flat. Move the specimen to a flat position.
	A sample not suitable for dark field observation is being used.	Use a suitable sample
One side of the image is unfocused	Revolving nosepiece is in an incorrect position	Move the nosepiece to a click stop
	Slide is mounted not in a flat position (tilted)	Place the specimen in a flat position on the stage
	Poor quality of the glass slide	Use a glass slide with higher quality
II. Mechanical Section:		
Coarse focus knob is hard to turn	Tension adjustment ring is too tight	Loosen tension adjustment ring
Focus is unstable	Tension adjustment ring is too loose	Tighten tension adjustment ring
III. Electrical Section:		
LED doesn't turn on.	Power supply not connected	Check for proper connection
Brightness is not enough	Brightness setting is too low	Adjust brightness
Light blinks	Power supply not well connected	Check for proper connection
IV. Observation tube:		
Field of view of one eye does not match that of the other.	Interpupillary distance is incorrect.	Adjust interpupillary distance.
	Incorrect diopter adjustment.	Adjust diopter.
	Your view is not accustomed to microscope observation.	Upon looking into eyepieces, try looking at overall field before concentrating on specimen range. You may also find it helpful to look up and into distance for a moment before looking back into microscope.

V. Microphotography:		
Image edge is unfocused	To a certain extent it is due to achromatic objectives features	To minimize the problem, set the aperture diaphragm in a proper position
Bright spots appear on the image	Stray light entering in the microscope through eyepieces or camera viewfinder	Cover eyepieces and viewfinder with a dark cloth

Equipment disposal

Art.13 Dlsg 25 July 2005 N°151. “According to directives 2002/95/EC, 2002/96/EC and 2003/108/EC relating to the reduction in the use of hazardous substances in electrical and electronic equipment and waste disposal.”





The basket symbol on equipment or on its box indicates that the product at the end of its useful life should be collected separately from other waste. The separate collection of this equipment at the end of its lifetime is organized and managed by the producer. The user will have to contact the manufacturer and follow the rules that he adopted for end-of-life equipment collection. The collection of the equipment for recycling, treatment and environmentally compatible disposal, helps to prevent possible adverse effects on the environment and health and promotes reuse and/or recycling of materials of the equipment. Improper disposal of the product involves the application of administrative penalties as provided by the laws in force.

OPTIKA® S.r.l.
Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALY Tel.: +39 035.571.392
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

OPTIKA® Spain
spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA
usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China
china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® India
india@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Central America
camerica@optikamicroscopes.com

OPTIKA®
ITALY

Serie B-510

MANUALE DI ISTRUZIONI

Modello
B-510DK

Ver. 2.5 2023

Indice

1. Avvertenza 30
2. Informazioni sulla sicurezza 30
3. Contenuto della confezione 31
4. Disimballaggio 32
5. Utilizzo previsto 32
6. Simboli 32
8. Assemblaggio 35
9. Sommario delle procedure di osservazione in campo chiaro 37
10. Sommario delle procedure di osservazione in campo scuro 38
11. Uso del microscopio 39
    - 11.1 Regolazione dell'intensità luminosa 39
    - 11.2 Regolazione della frizione 39
    - 11.3 Leva di blocco di messa a fuoco 39
    - 11.4 Tavolino 39
    - 11.5 Compensazione diottrica 40
    - 11.6 Regolazione della distanza interpupillare 40
    - 11.7 Uso dei paraocchi in gomma 40
    - 11.8 Centraggio del condensatore per campo chiaro 41
    - 11.9 Effetti del diaframma di campo 41
    - 11.10 Diaframma di apertura 41
12. Microscopia in campo scuro 42
    - 12.1 Principi di microscopia con immersione in olio 42
    - 12.2 Principi di illuminazione in campo scuro 44
    - 12.3 Microscopia in campo scuro ad alto ingrandimento 45
    - 12.4 Centraggio del condensatore per campo scuro 46
13. Microfotografia 49
    - 13.1 Uso di telecamere passo "C" 49
    - 13.2 Uso di fotocamere Reflex 49
14. Manutenzione 50
15. Guida alla risoluzione dei problemi 51

Smaltimento 53

1. Avvertenza

Questo microscopio è uno strumento scientifico di alta precisione, progettato per durare a lungo con una minima manutenzione; la realizzazione è secondo i migliori standard ottici e meccanici, per poter essere utilizzato quotidianamente. Vi ricordiamo che questo manuale contiene informazioni importanti per la sicurezza e per la manutenzione dello strumento, e deve quindi essere messo a disposizione di coloro che lo utilizzeranno.
Decliniamo ogni responsabilità derivante da un utilizzo dello strumento non indicato nel presente manuale.

2. Informazioni sulla sicurezza



Per evitare shock elettrici

Prima di collegare il cavo di alimentazione alla presa elettrica, assicurarsi che il voltaggio della rete locale coincida con il voltaggio dello strumento e che l'interruttore dell'illuminazione sia nella posizione "OFF".
Gli utenti dovranno seguire tutte le norme di sicurezza locali. Lo strumento è certificato CE. In ogni caso, gli utilizzatori sono gli unici responsabili per un utilizzo sicuro dello strumento. Per l'utilizzo in sicurezza dello strumento è importante attenersi alle seguenti istruzioni e leggere il manuale in tutte le sue parti.

3. Contenuto della confezione



① Stativo del microscopio
② Oculari
③ Obiettivi
④ Testa di osservazione
⑤ Olio per immersione
⑥ Brugola
⑦ Chiave regolazione tensione
⑧ Copertina
⑨ Alimentatore
⑩ Condensatore per campo chiaro
⑪ Condensatore per campo scuro
⑫ Telescopio di centraggio

4. Disimballaggio

Il microscopio è riposto in un imballo di polistirolo espanso. Rimuovere il nastro adesivo dal collo ed aprire la parte superiore dell'imballo. Fare attenzione a non far cadere le parti ottiche (obiettivi e oculari) nell'estrarre il microscopio dalla scatola per evitare che vengano danneggiati. Utilizzare entrambe le mani (una intorno allo stativo e una alla base), sfilare il microscopio dal contenitore e appoggiarlo su un piano stabile.



Evitare di toccare le superfici ottiche come lenti, filtri o vetri. Tracce di grasso o altri residui possono ridurre la qualità visiva dell'immagine finale e corrodere la superficie delle ottiche in breve tempo.

5. Utilizzo previsto

Modelli standard

Solo per applicazioni di ricerca ed usi didattici. Non indicato per utilizzo diagnostico e terapeutico umano e veterinario.

Modelli IVD

Anche per uso diagnostico, finalizzato ad ottenere informazioni sulla situazione fisiologica o patologica del soggetto.

6. Simboli

La seguente tabella riporta i simboli utilizzati in questo manuale.



PERICOLO

Questo simbolo indica un rischio potenziale ed avverte di procedere con cautela.



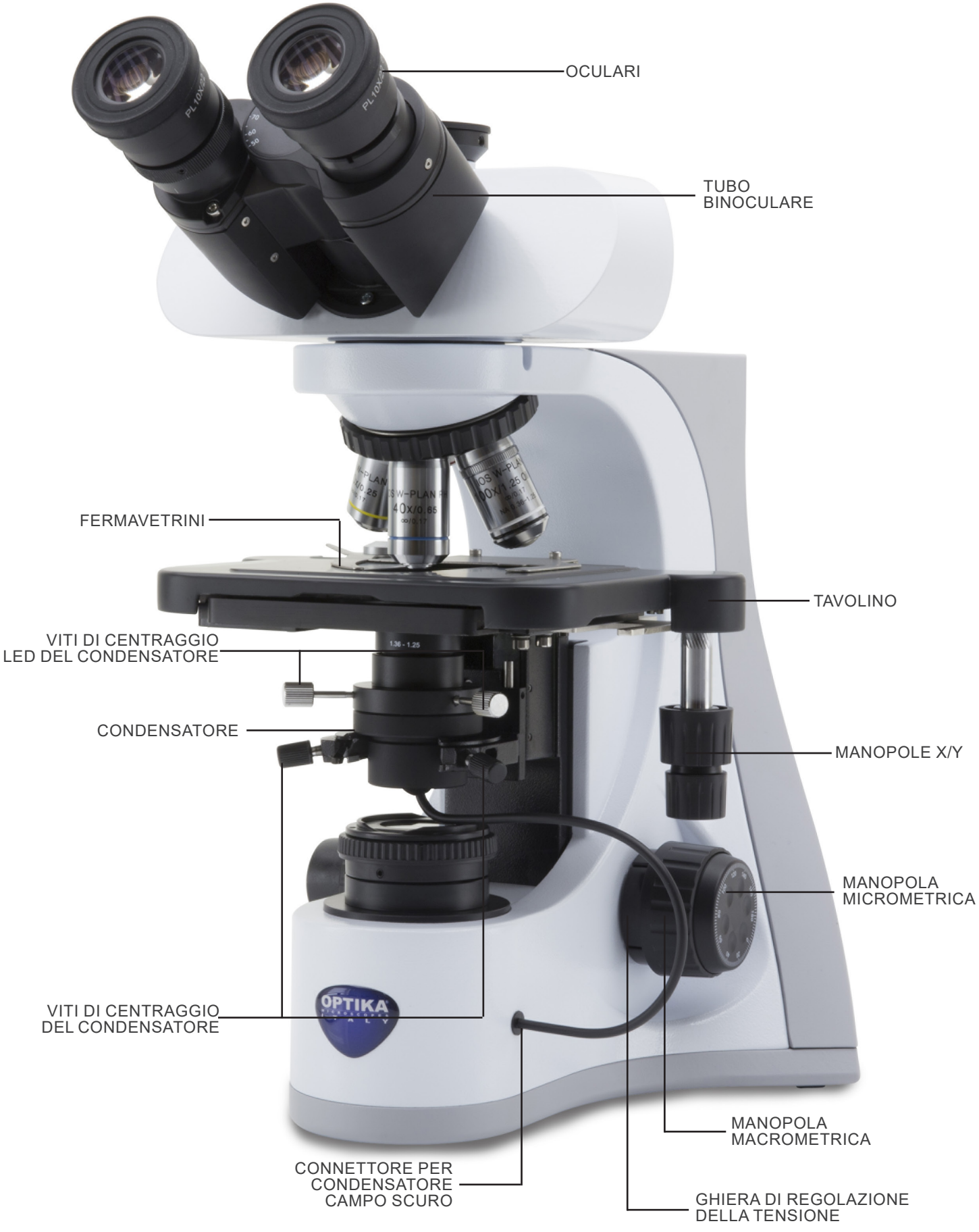
SHOCK ELETTRICO

Questo simbolo indica un rischio di shock elettrico.

7. Descrizione dello strumento



Lato opposto



8. Assemblaggio

1. Inserire la testata ottica al di sopra dello stativo e stringere la vite di bloccaggio con la brugola in dotazione. (Fig. 1)

- **Tenere sempre la testata con una mano durante il serraggio della vite per evitare che la stessa cada**.


Fig. 1

2. Inserire gli oculari nei tubi portaoculari della testata ottica. (Fig. 2)


Fig. 2

3. Avvitare ciascun obiettivo nel foro filettato del revolver, in senso orario in ordine di ingrandimento. (Fig. 3)


Fig. 3

4. Inserire lo spinotto dell'alimentatore nel connettore posto sul retro del microscopio (Fig. 4)


Fig. 4

- **Il microscopio viene fornito con due condensatori: uno per campo chiaro ed uno per campo scuro. Selezionare il condensatore adeguato alla metodica di osservazione desiderata.**

5. Abbassare il supporto portacondensatore agendo sulla vite di regolazione di altezza ①. (Fig. 5)



6. Inserire la coda di rondine del condensatore nel supporto porta condensatore. (Fig. 6)



7. Stringere la vite di serraggio del condensatore ②. (Fig. 7)

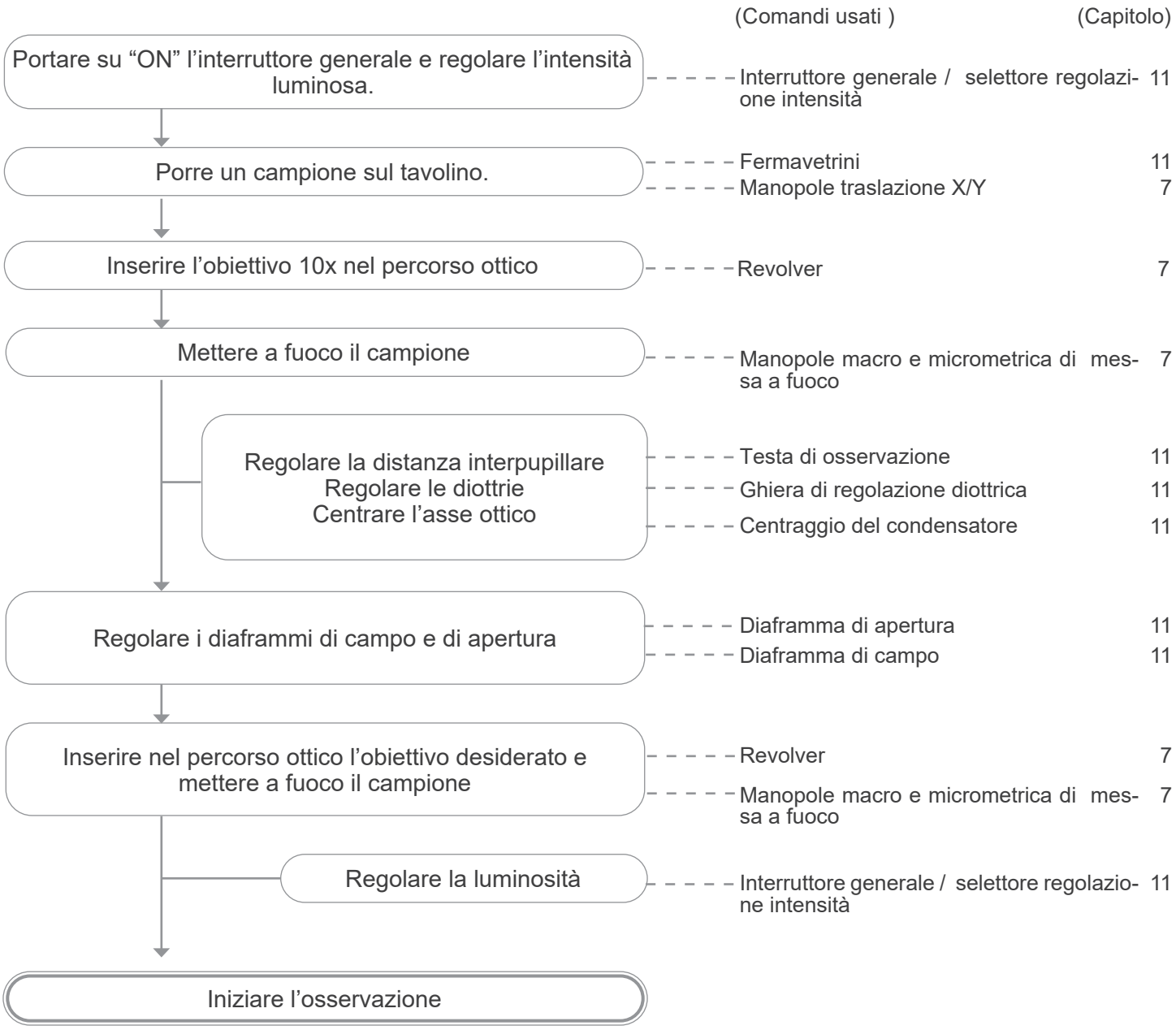


8. (Solo per condensatore per campo scuro)
   Collegare lo spinotto del condensatore al connettore del microscopio posto sul lato della base. (Fig. 8)

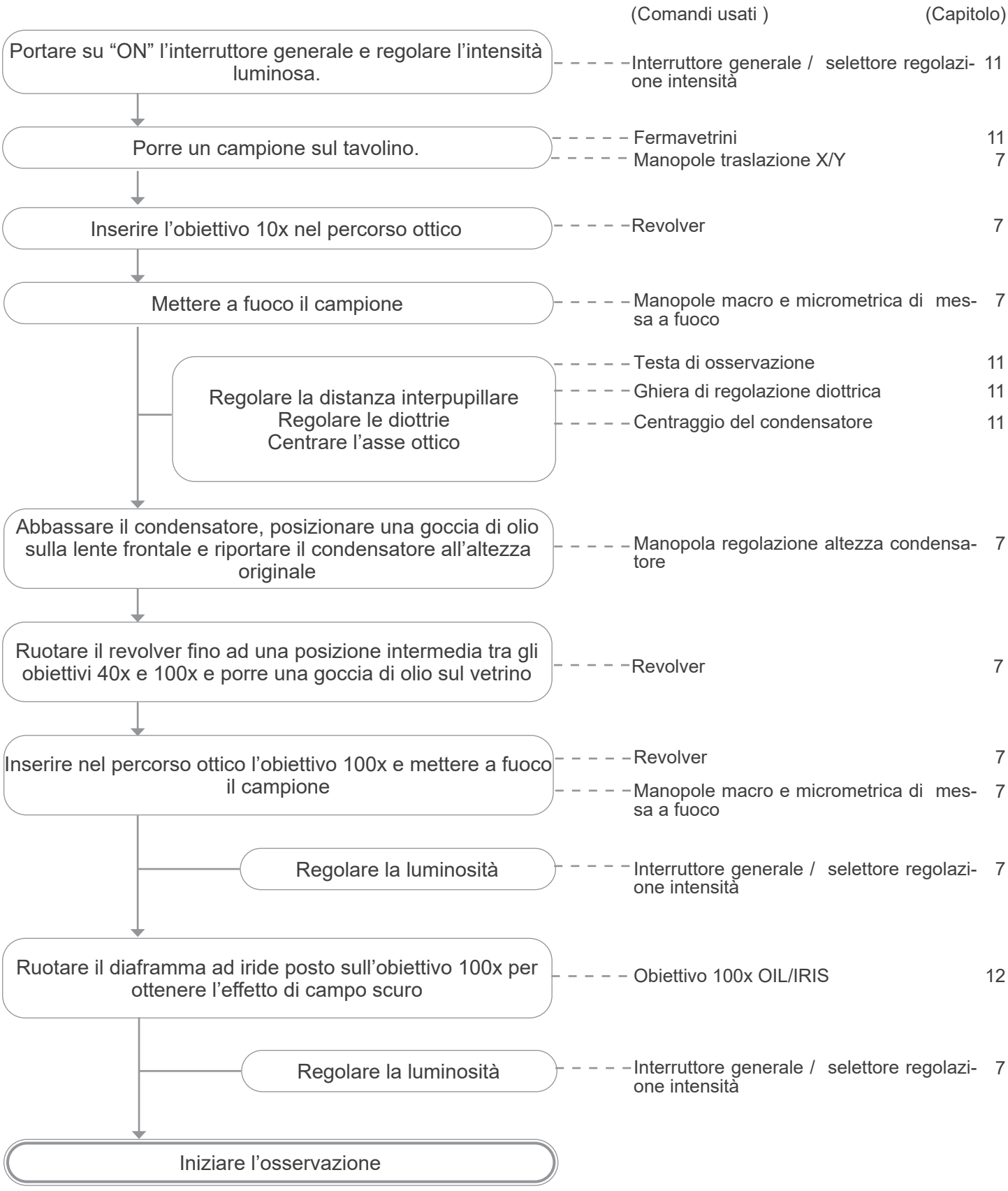
- **Quando si collega lo spinotto del condensatore, la luce proveniente dal LED del microscopio si spegne e si accende il LED interno al condensatore.**



9. Sommario delle procedure di osservazione in campo chiaro



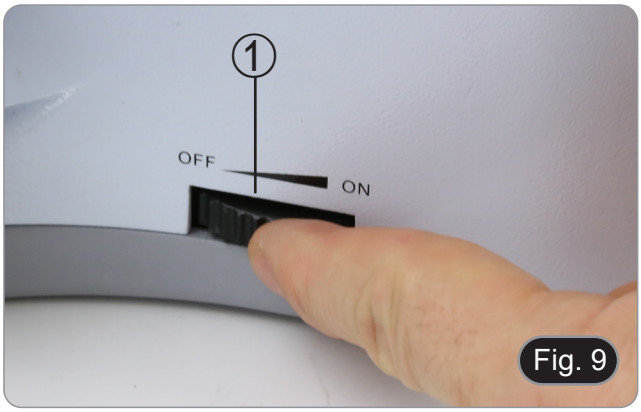
10. Sommario delle procedure di osservazione in campo scuro



11. Uso del microscopio

11.1 Regolazione dell'intensità luminosa

Agire sulla rotellina di regolazione dell'intensità luminosa per accendere e spegnere lo strumento e per aumentare o diminuire il voltaggio dell'illuminazione ①. (Fig. 9)



11.2 Regolazione della frizione

- **Regolare la frizione della manopola utilizzando l'apposita ghiera.**

La frizione della manopola macrometrica di messa a fuoco è pre regolata in fabbrica.

1. Per modificare la tensione in base alle preferenze personali ruotare la ghiera ② utilizzando la chiavetta in dotazione. (Fig. 10)

- La rotazione in senso orario aumenta la frizione.
- La tensione è troppo bassa se il tavolino scende da solo per gravità o se il fuoco si perde facilmente dopo una regolazione con la manopola micrometrica. In questo caso aumentare la tensione ruotando la ghiera.



11.3 Leva di blocco di messa a fuoco

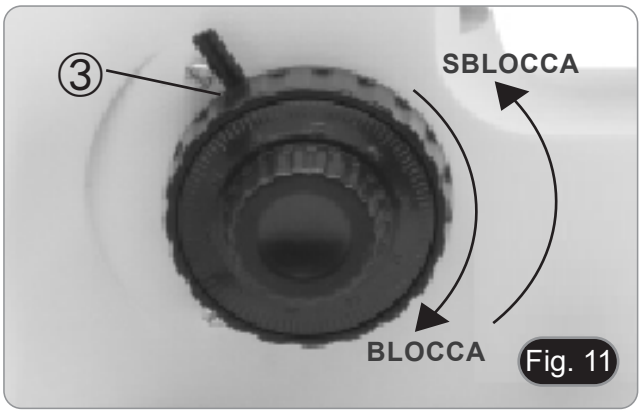
La leva di blocco svolge una doppia funzione: prevenire il contatto tra obiettivo e campione e "memoria di messa a fuoco".

1. Dopo avere messo a fuoco il campione, tirare verso la parte anteriore del microscopio la leva ③ e bloccarla. (Fig. 12)

- Così si definisce il punto superiore di messa a fuoco.

2. Ora si può abbassare il tavolino con la manopola macrometrica, sostituire il campione e quindi rialzare il tavolino fino al punto superiore: si sarà approssimativamente a fuoco e si dovrà effettuare solamente una regolazione fine per ottenere la messa a fuoco ottimale.

- **Il movimento micrometrico non viene influenzato dal blocco di messa a fuoco.**
- **Per rimuovere il blocco, spostare la leva in senso opposto a quello utilizzato per il blocco.**



11.4 Tavolino

Il tavolino accetta vetrini standard 26 x 76 mm, spessore 1,2 mm con coprioggetto 0,17 mm.
E' possibile alloggiare due vetrini affiancati sul tavolino. (Fig. 12)

- **Allargare il braccio movibile del fermapreparati ④ e posizionare frontalmente i vetrini sul tavolino.**
- **Rilasciare delicatamente il braccio movibile del fermapreparati.**
- **Un rilascio brusco del fermapreparati potrebbe comportare la caduta di uno o di entrambi i vetrini.**



11.5 Compensazione diottrica

1. Osservare e mettere a fuoco il preparato guardando con l'occhio destro attraverso l'oculare destro utilizzando le manopole di messa a fuoco del microscopio.
2. Ora guardare attraverso l'oculare sinistro con l'occhio sinistro. Se l'immagine non è nitida, agire sulla compensazione diottrica utilizzando l'apposito anello ①. (Fig. 13)

- **Il range di compensazione è di ±5 diottrie. Il numero indicato sulla scala presente sull'anello di compensazione dovrebbe corrispondere alla correzione diottrica dell'operatore**



Fig. 13

11.6 Regolazione della distanza interpupillare

Osservando con entrambi gli occhi, sostenere il gruppo di oculari. Ruotare questi lungo l'asse comune fino ad ottenere un unico campo visivo.

- **La scala graduata sull'indicatore della distanza interpupillare, indicata dal puntino "." ② sul portaoculare, mostra la distanza interpupillare dell'operatore. (Fig. 14)**

Il range della distanza interpupillare è 48-75 mm.

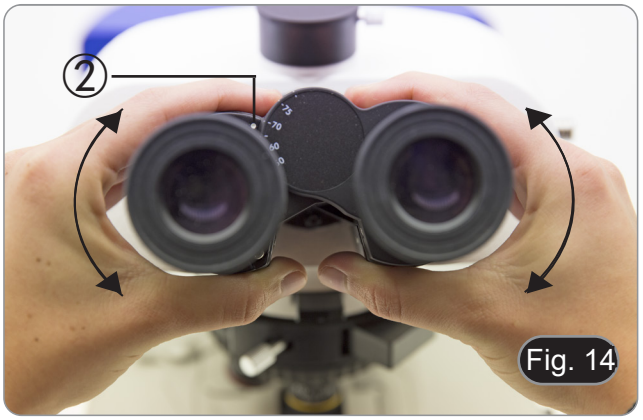


Fig. 14

11.7 Uso dei paraocchi in gomma

- **Uso senza occhiali da vista**

Rialzare i paraocchi ed osservare al microscopio appoggiando gli occhi ai paraocchi, in modo da evitare che la luce esterna arrivi a disturbare l'occhio. (Fig. 15)


Fig. 15

- **Uso con occhiali da vista**

Abbassare i paraocchi in gomma con entrambe le mani. La presenza dei paraocchi abbassati evita di graffiare le lenti degli occhiali. (Fig. 16)


Fig. 16

11.8 Centraggio del condensatore per campo chiaro

1. Posizionare il campione sul tavolino, inserire l'obiettivo 10x nel percorso ottico e mettere a fuoco.
2. Inserire nel percorso ottico la lente frontale del condensatore swing-out ①. (Fig. 17)
3. Ruotare la ghiera del diaframma di campo ② nella direzione indicata dalla freccia per chiudere completamente il diaframma.
4. Ruotare la manopola di regolazione dell'altezza del condensatore ③ per mettere a fuoco il bordo del diaframma.
5. Ruotare le due viti di centraggio ④ per portare l'immagine del diaframma nel centro del campo visivo
6. Aprire gradualmente il diaframma. Il condensatore è centrato quando l'immagine del diaframma è simmetrica al campo visivo.
7. Nell'uso normale, aprire il diaframma fino a che l'immagine circoscrive il campo visivo.

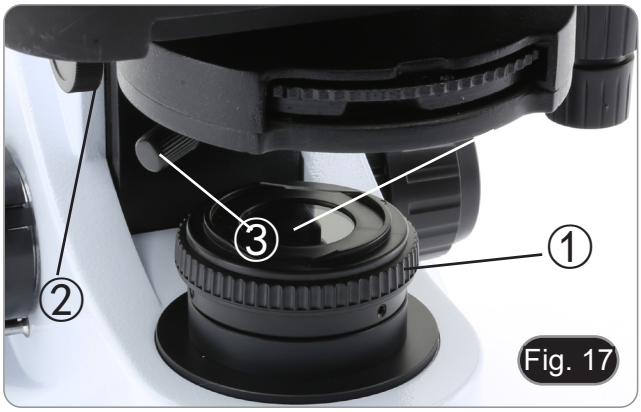
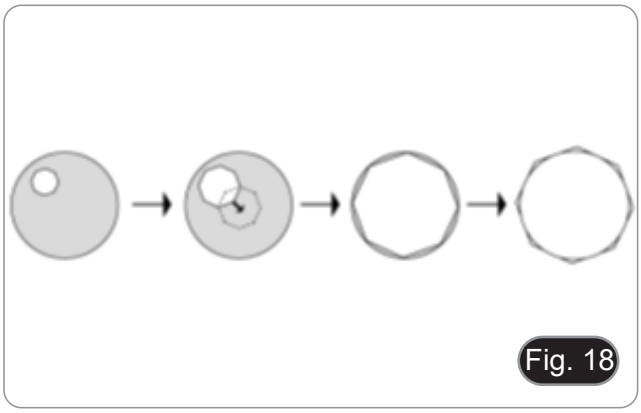


Fig. 17

11.9 Effetti del diaframma di campo

Il diaframma di campo regola l'area illuminata per ottenere un'immagine con elevato contrasto.
Adattare il diaframma di campo in funzione dell'obiettivo in uso fino a che il diaframma ad iride circoscriva il campo visivo per eliminare la luce non necessaria agli oculari.(Fig. 18)


Fig. 18

11.10 Diaframma di apertura

Il valore di apertura numerica (A.N.) del diaframma di apertura influenza il contrasto dell'immagine. Aumentando o diminuendo questo valore in funzione dell'apertura numerica dell'obiettivo si variano risoluzione, contrasto e profondità di campo dell'immagine.

Per campioni con basso contrasto impostare il valore dell'apertura numerica ⑤ (riportato sulla ghiera del condensatore) (Fig. 19) a circa il 70%-80% dell'A.N. dell'obiettivo. Se necessario, rimuovere un oculare e, guardando nel portaoculare vuoto, regolare la ghiera del condensatore fino ad ottenere un'immagine come quella di Fig. 20.

Es: con obiettivo PLAN 40x / 0.65 regolare la scala a 0.65 x 0.8 = 0.52



Fig. 19

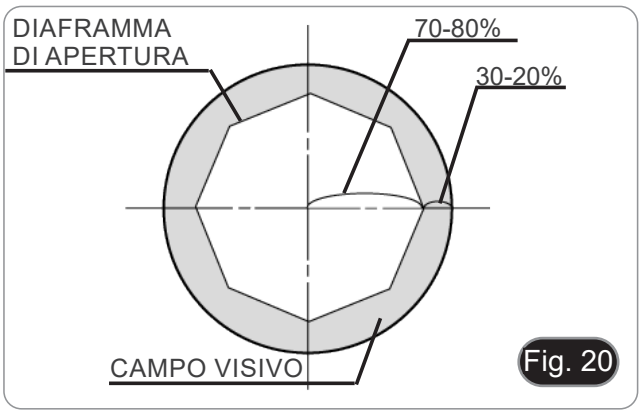


Fig. 20

12. Microscopia in campo scuro

Il B-510DK è un microscopio per osservazione in campo scuro specifico per l'analisi del sangue con uno speciale condensatore per campo scuro extra efficiente, con A.N. da 1.36 a 1.25 e un obiettivo plan acromatico da 100x con diaframma regolabile.
L'illuminazione a LED X garantisce l'alto livello di intensità della luce tipicamente necessario nelle tecniche campo scuro ad alto ingrandimento.

Per utilizzare correttamente questo microscopio, è necessario acquisire familiarità con:
a. la tecnica di immersione in olio
b. la tecnica di campo scuro.

Nel seguente manuale vengono introdotte le basi di questi metodi (paragrafi 12.1 e 12.2) ed anche una guida passo-passo alla configurazione del B-510DK (paragrafo 12.4).

Vengono forniti anche consigli generali per la microscopia a immersione.

121 Principi di microscopia con immersione in olio

La capacità dell'obiettivo del microscopio di catturare i raggi di luce deviati da un campione dipende sia dall'apertura numerica sia dal mezzo attraverso cui la luce viaggia.

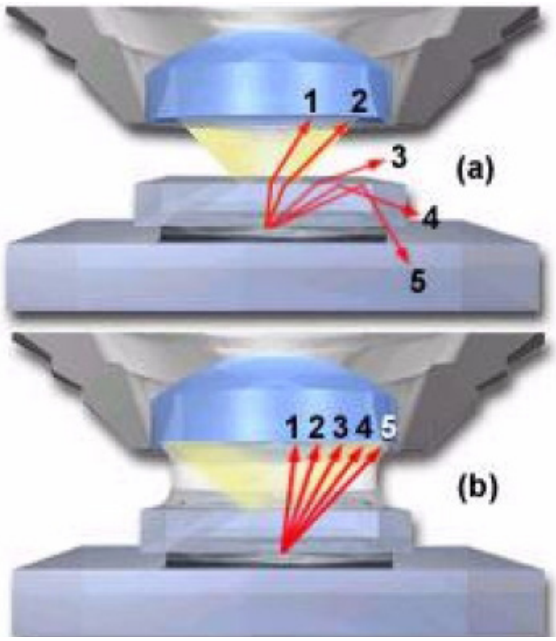
L'apertura numerica di un obiettivo è direttamente proporzionale all'indice di rifrazione del mezzo tra il coprioggetto e la lente frontale, e anche al seno di metà dell'apertura angolare dell'obiettivo.

Poiché il seno non può essere maggiore di 90 gradi, l'apertura numerica massima possibile è determinata dall'indice di rifrazione del mezzo di immersione.

La maggior parte degli obiettivi di un microscopio utilizza l'aria come mezzo attraverso il quale i raggi di luce devono passare tra il coprioggetto che protegge il campione e la lente frontale dell'obiettivo. Gli obiettivi di questo tipo vengono definiti obiettivi a secco perché vengono utilizzati senza mezzi intermedi liquidi.

L'aria ha un indice di rifrazione di 1.0003, molto vicino a quello del vuoto e considerevolmente inferiore alla maggior parte dei liquidi, tra cui acqua (n = 1.33), glicerina (n = 1.470) e comuni oli da immersione al microscopio (media n = 1.515).

In pratica, l'apertura numerica massima di un sistema di obiettivi a secco è limitata a 0,95 e valori maggiori possono essere raggiunti solo utilizzando l'ottica progettata per il mezzo di immersione.



Immersione in olio e Apertura Numerica

Fig. 21

Il principio dell'immersione in olio è dimostrato in Fig. 21 dove i singoli raggi di luce sono tracciati attraverso il campione e passano nell'obiettivo o sono rifratti in altre direzioni. La Fig. 21(a) illustra il caso di un obiettivo secco con cinque raggi (etichettati da 1 a 5) mostrati passando attraverso un campione coperto con un vetrino coprioggetto. Questi raggi sono rifratti nell'interfaccia vetrino-aria e solo i due raggi più vicini all'asse ottico del microscopio (raggi 1 e 2) hanno l'angolo appropriato per entrare nella lente frontale obiettivo. Il terzo raggio viene rifratto con un angolo di circa 30 gradi rispetto al coprioggetto e non entra nell'obiettivo. Gli ultimi due raggi (4 e 5) sono riflessi internamente indietro attraverso il coprioggetto e, insieme al terzo raggio, contribuiscono a riflessi interni di luce su superfici di vetro che tendono a degradare la risoluzione dell'immagine.

Quando l'aria viene sostituita dall'olio con lo stesso indice di rifrazione del vetro, mostrato nella Fig. 21(b), i raggi luminosi passano direttamente attraverso l'interfaccia vetro-olio senza deviazione dovuta alla rifrazione. L'apertura numerica è quindi aumentata dal fattore di n, l'indice di rifrazione dell'olio.

Gli obiettivi da microscopio progettati per l'uso con l'olio per immersione hanno una serie di vantaggi rispetto a quelli utilizzati a secco. Gli obiettivi di immersione sono tipicamente di correzione superiore (fluorite o apocromatica) e possono avere aperture numeriche funzionanti fino a 1.40 quando vengono utilizzati con olio ad immersione avente la dispersione e la viscosità appropriate.
Questi obiettivi consentono di aprire il diaframma del condensatore in misura maggiore, estendendo così l'illuminazione del campione e sfruttando l'apertura numerica aumentata.
Un fattore che viene comunemente trascurato quando si usano obiettivi ad immersione in olio di apertura numerica aumentata sono le limitazioni poste sul sistema dal condensatore.

In una situazione in cui un obiettivo ad olio con A.N. = 1.40 viene utilizzato per osservare un campione con un condensatore di apertura numerica più piccola (1.0 per esempio), l'apertura numerica inferiore del condensatore sovrascrive quella dell'obiettivo e la A.N. totale del sistema è limitata a 1.0 (l'apertura numerica del condensatore).

I moderni condensatori presentano spesso un alto grado di correzione con valori di apertura numerica compresi tra 1.0 e 1.40. Per utilizzare efficacemente tutti i benefici dell'immersione in olio, l'interfaccia tra la lente frontale del condensatore sotto il tavolino e la parte inferiore del vetrino del microscopio contenente il campione deve essere immersa in olio.
Un sistema ideale è schematicamente visualizzato in Fig. 22, dove l'olio di immersione è stato posizionato alle interfacce tra la lente frontale dell'obiettivo e il vetrino del campione e anche tra la lente frontale del condensatore e la parte inferiore del vetrino del campione.

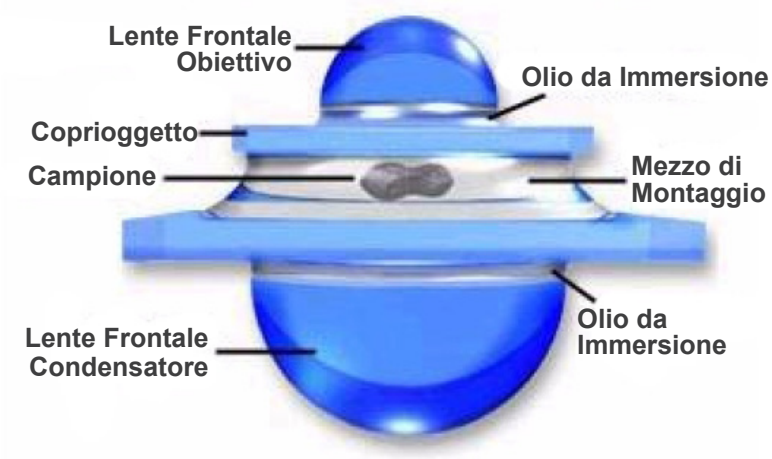
Questo sistema è stato definito un sistema di immersione omogenea ed è la situazione ideale per ottenere la massima apertura numerica e la risoluzione in un microscopio ottico.

In questo caso, l'indice di rifrazione e la dispersione della lente frontale dell'obiettivo, dell'olio di immersione, della lente frontale del condensatore e del mezzo di montaggio sono uguali o molto vicini alla stessa.

In questo sistema ideale, un raggio di luce obliquo può passare attraverso la lente del condensatore e completamente attraverso il vetrino del microscopio, l'olio per immersione e il mezzo di montaggio non soggetti a rifrazione alle interfacce olio-vetro o mezzo di montaggio-vetro.

Quando si utilizzano obiettivi acromatici a immersione in olio ad alto ingrandimento, è talvolta possibile omettere la fase di lubrificazione della lente superiore del condensatore. Questo perché il diaframma di apertura del condensatore deve spesso essere ridotto con obiettivi meno corretti per eliminare gli artefatti e fornire immagini ottimali.

La riduzione della dimensione del diaframma riduce il potenziale aumento dell'apertura numerica (fornito dalla lubrificazione della lente del condensatore), pertanto la perdita di qualità dell'immagine in queste condizioni è generalmente trascurabile. La microscopia in campo scuro è una tecnica di illuminazione specializzata che sfrutta l'illuminazione obliqua per migliorare il contrasto nei campioni che non possono essere osservati bene nelle normali condizioni di illuminazione in campo chiaro.



Sistema di immersione omogeneo

Fig. 22

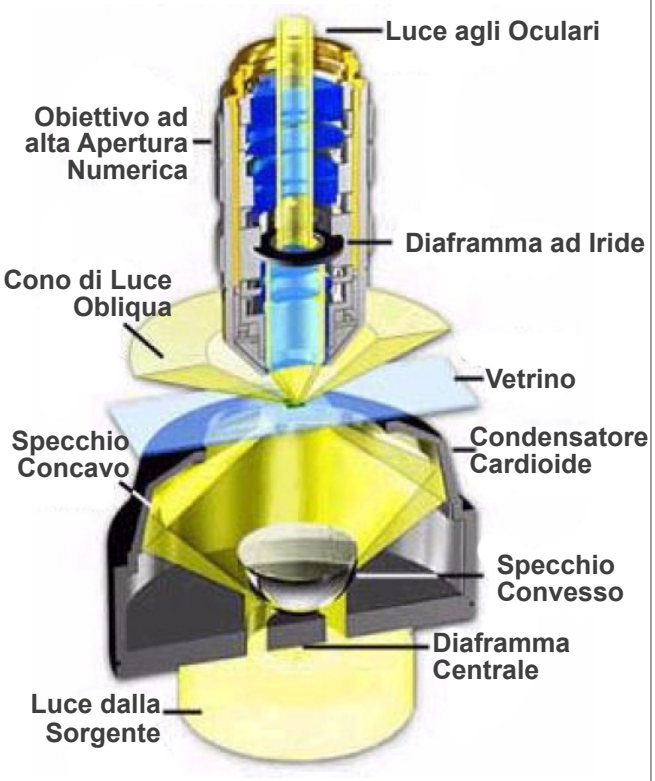
Tutti noi abbiamo abbastanza familiarità con l'aspetto e la visibilità delle stelle in una notte buia, nonostante le loro enormi distanze dalla terra. Le stelle possono essere viste a causa del netto contrasto tra la loro debole luce e il cielo nero.

12.2 Principi di illuminazione in campo scuro

Questo principio viene applicato nella microscopia campo scuro, un metodo semplice e popolare per rendere chiaramente visibili oggetti non colorati.
Tali oggetti hanno spesso indici di rifrazione molto vicini a quelli dei loro dintorni e sono difficili da immaginare nella icroscopia a campo chiaro convenzionale.
Ad esempio, molti piccoli organismi acquatici hanno un indice di rifrazione compreso tra 1.2 e 1.4, il che comporta una differenza ottica trascurabile dal mezzo acquoso circostante. Questi sono candidati ideali per l'illuminazione in campo scuro.

L'illuminazione in campo scuro richiede il blocco della luce centrale che normalmente passa attraverso e attorno al campione, consentendo solo ai raggi obliqui di ogni azimut di "colpire" il campione montato sul vetrino del microscopio. La lente superiore di un semplice condensatore di campo oscuro di Abbe è sfericamente concava, consentendo ai raggi di luce che emergono dalla superficie in tutti gli azimuth di formare un cono di luce cavo invertito con un apice centrato nel piano del campione.
Se nessun campione è presente e l'apertura numerica del condensatore è maggiore di quella dell'obiettivo, i raggi obliqui si incrociano e tutti questi raggi non entreranno nell'obiettivo a causa della loro obliquità. Il campo visivo apparirà scuro.

L'insieme condensatore / obiettivo per campo oscuro illustrata in Fig. 23 è un sistema ad alta apertura numerica che rappresenta la microscopia in campo scuro nella sua configurazione più sofisticata e che verrà discussa in dettaglio di seguito.
L'obiettivo contiene un diaframma interno ad iride che serve a ridurre l'apertura numerica dell'obiettivo ad un valore inferiore a quello del cono luminoso vuoto capovolto emesso dal condensatore.
Il condensatore cardioide è un progetto per campo scuro riflettente che si basa su specchi interni per proiettare un cono di luce privo di aberrazioni sul piano del campione.



Condensatore cardioide per campo scuro
Fig. 23

Quando un campione viene posizionato sul vetrino, in particolare un campione non colorato e che non assorbe luce, i raggi obliqui attraversano il campione e sono diffratti, riflessi e / o rifratti da discontinuità ottiche (come la membrana cellulare, il nucleo e gli organuli interni) permettendo a questi deboli raggi di entrare nell'obiettivo.

Il campione può quindi essere visto luminoso su uno sfondo altrimenti nero.

In termini di ottica di Fourier, l'illuminazione del campo scuro rimuove l'ordine zero (luce non ingrandita) dal modello di diffrazione formato sul piano focale posteriore dell'obiettivo.

Ciò si traduce in un'immagine formata esclusivamente da intensità di diffrazione di ordine superiore disseminate dal campione.

I candidati ideali per l'illuminazione in campo scuro includono piccoli organismi acquatici viventi, diatomee, piccoli insetti, ossa, fibre, capelli, batteri non colorati, lievito e protozoi.

I campioni non biologici comprendono cristalli minerali e chimici, particelle colloidali, campioni di particelle di polvere e sezioni sottili di polimeri e ceramiche contenenti piccole inclusioni, differenze di porosità o gradienti di indice di rifrazione.

Prestare attenzione quando si preparano i campioni per la microscopia in campo scuro poiché le caratteristiche che si trovano al di sopra e al di sotto del piano di messa a fuoco possono anche disperdere la luce e contribuire al degrado dell'immagine.

Anche lo spessore del campione e lo spessore del vetrino del microscopio sono molto importanti e, in generale, un campione sottile è auspicabile per eliminare la possibilità di artefatti di diffrazione che possono interferire con la formazione dell'immagine.

12.3 Microscopia in campo scuro ad alto ingrandimento

Per lavori più precisi e sfondi più scuri, è possibile scegliere un condensatore progettato appositamente per il campo oscuro, ovvero per trasmettere solo raggi obliqui.

Esistono diverse varietà: condensatori a campo scuro “a secco” con aria tra la parte superiore del condensatore e la parte inferiore del vetrino e condensatori a campo oscuro a immersione che richiedono l’uso di una goccia di olio per immersione (alcuni invece sono progettati per utilizzare l’acqua) che stabilisce il contatto tra la parte superiore del condensatore e la parte inferiore del vetrino del campione.

Il condensatore ad immersione per campo scuro ha superfici interne a specchio e passa raggi di grande obliquità e privo di aberrazione cromatica, producendo i migliori risultati e lo sfondo più nero.

Forse il condensatore di campo oscuro più usato è il paraboloide, costituito da un pezzo di vetro solido a cui è stata data una forma molto precisa di un paraboloide. Come discusso sopra, il condensatore per campo scuro a secco è utile per obiettivi con aperture numeriche inferiori a 0.75, mentre i condensatori ad immersione cardioide e paraboloide (Fig. 23) possono essere utilizzati con obiettivi di apertura numerica molto elevata (fino a 1.4).
Gli obiettivi con un’apertura numerica superiore a 1.2 richiedono una riduzione della loro apertura di lavoro poiché la loro apertura numerica massima può superare l’apertura numerica del condensatore, consentendo così alla luce diretta di entrare nell’obiettivo.
Per questo motivo, molti obiettivi con aperture numeriche elevate progettati per l’uso con campo scuro e illuminazione da campo chiaro sono realizzati con un diaframma a iride regolabile incorporato che funge da diaframma di apertura.

Questa riduzione dell’apertura numerica limita anche il potere risolutivo dell’obiettivo e l’intensità della luce nell’immagine. Gli obiettivi specializzati progettati esclusivamente per i lavori in campo scuro sono prodotti con un’apertura numerica massima vicino al limite inferiore dell’apertura numerica del condensatore di campo oscuro.
Non hanno diaframmi interni ad iride, tuttavia i diametri di montaggio dell’obiettivo sono regolati in modo che almeno una lente interna abbia il diametro ottimale da fungere come diaframma di apertura.

Il condensatore cardioide è molto sensibile all’allineamento e deve essere posizionato con cautela per sfruttare il cono d’illuminazione molto nitido, rendendolo il più difficile condensatore di campo oscuro da utilizzare.
Inoltre, il condensatore produce una quantità significativa di abbagliamento, anche dalle particelle di polvere più minute, e la lunghezza focale corta può causare scarsa illuminazione su oggetti che superano pochi micron in termini di dimensioni o spessore.
Quando si scelgono vetrini da microscopio per microscopia di campo scuro ad alto ingrandimento quantitativo, accertarsi di selezionare vetrini fatti con una miscela di vetro esente da impurità fluorescenti.

È necessario prestare particolare attenzione ai dettagli sulla lubrificazione di un condensatore ad apertura numerica elevata sul fondo del vetrino del campione. È molto difficile evitare l’introduzione di minuscole bolle d’aria nell’area tra la lente superiore del condensatore e il fondo del vetrino del microscopio e questa tecnica dovrebbe essere praticata alla perfezione.
Le bolle d’aria causeranno bagliori e distorsioni dell’immagine, con conseguente perdita di contrasto e degradazione generale dell’immagine.

Si verificano inoltre problemi quando si utilizzano vetrini da microscopio troppo spessi o troppo sottili.
Molti condensatori a campo scuro contengono la gamma di spessore della guida utilizzabile incisa direttamente sul supporto del condensatore.
Se il vetrino è troppo spesso, è spesso difficile mettere a fuoco il condensatore senza ricorrere a un olio per immersione a viscosità più elevata. D’altra parte, i vetrini troppo sottili hanno la tendenza a rompere il legame dell’olio tra il condensatore e il vetrino. È una buona idea acquistare vetrini da microscopio dello spessore corretto per evitare uno dei problemi sopra menzionati.

I condensatori ad apertura numerica elevata, se destinati all’uso a secco o con olio, devono essere accuratamente centrati nel percorso ottico del microscopio per ottenere prestazioni ottimali.
Per ottenere ciò, molti condensatori a campo scuro sono costruiti con un piccolo cerchio inciso sulla superficie superiore per facilitare il centraggio del condensatore. La centratura viene eseguita con un obiettivo a basso ingrandimento (10x-20x) mediante l’osservazione del cerchio inciso e utilizzando le viti di centraggio del condensatore per garantire che il cerchio (e il condensatore) siano centrati correttamente nel percorso ottico.

12.4 Centraggio del condensatore per campo scuro

1. Selezionare un campione per campo scuro e posizionarlo sul tavolino del microscopio.
2. Inserire l'obiettivo 10x nel percorso ottico e mettere a fuoco.

- **Il condensatore proietterà un punto luminoso sul campione che può essere utilizzato per centrare il percorso ottico.**

3. Utilizzare le viti di centraggio del condensatore ① per spostare l'anello di luce al centro del campo visivo. (Fig. 24)

- **Potrebbe essere utile variare l'altezza del condensatore per vedere il punto.**
- **Spesso è vantaggioso utilizzare un obiettivo 10x a bassa potenza quando si centrano condensatori per campo scuro ad apertura numerica elevata.**
- **Osservando un campione con l'obiettivo 10x mentre si alza e si abbassa lentamente il condensatore, verrà raggiunto un punto in cui un punto luminoso apparirà nel campo visivo come illustrato nella Fig. 25(a). Quando il condensatore è leggermente sollevato o abbassato, comparirà una macchia scura simile a quella mostrata nella Fig. 25(b), se il condensatore è centrato correttamente. Nei casi in cui il condensatore non è allineato e centrato correttamente, un tipico campo visivo potrebbe apparire come quello mostrato nelle Figg. 25(c) e (d). Il posizionamento ideale e corretto del condensatore è illustrato nella Fig. 25 (a), e il condensatore deve essere regolato fino a quando il campo visivo non appare in questo modo, con le viti di centraggio del condensatore.**



Fig. 24

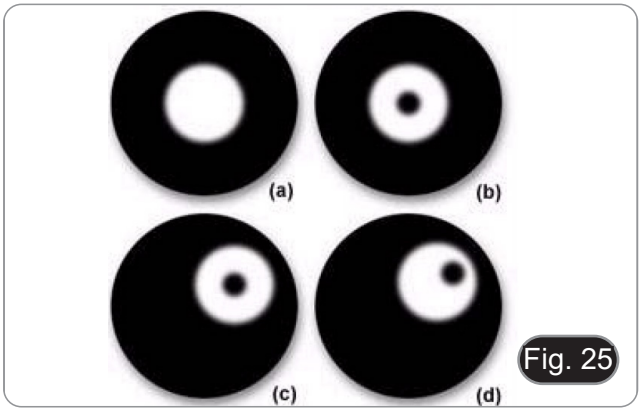
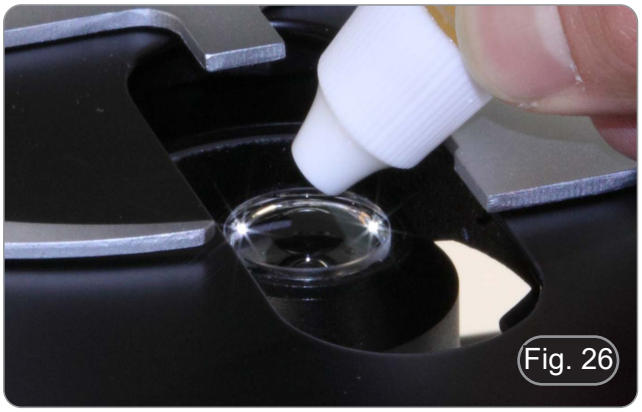


Fig. 25

4. Rimuovere il vetrino e mettere una goccia di olio (in dotazione) sulla lente frontale del condensatore. (Fig. 26)

- **Assicurarsi che non ci siano bolle d'aria. Le bolle d'aria nell'olio danneggiano la qualità dell'immagine.**

5. Riposizionare il vetrino e alzare il condensatore fino a che l'olio sulla lente frontale del condensatore non sia a contatto con il vetrino.
6. Posizionare l'area da osservare al centro del percorso ottico usando un obiettivo a basso ingrandimento (10x o 40x).
7. Mettere a fuoco il campione.


Fig. 26

8. Inserire nel percorso ottico l'obiettivo 100x Oil/Iris. Questo pre-posiziona tutti i componenti del sistema in preparazione per l'aggiunta di olio. Spostare l'obiettivo ad immersione su una posizione adiacente del revolver ed applicare l'olio sul campione. (Fig. 27)

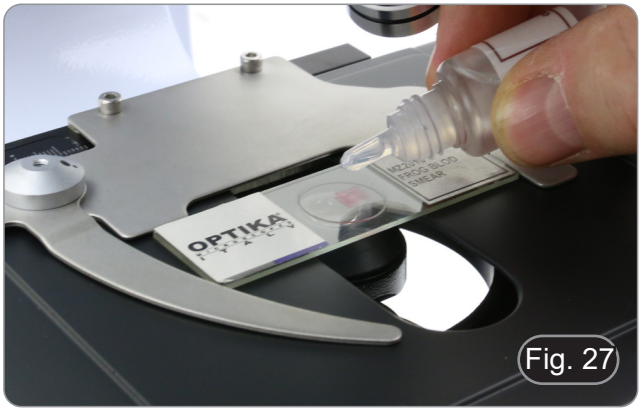


Fig. 27

9. In pratica si dovrà avere la situazione in cui il vetrino si trova completamente immerso in olio sia nella parte inferiore (interfaccia condensatore-vetrino) ①, sia nella parte superiore (interfaccia vetrino-obiettivo) ②. (Fig. 28)

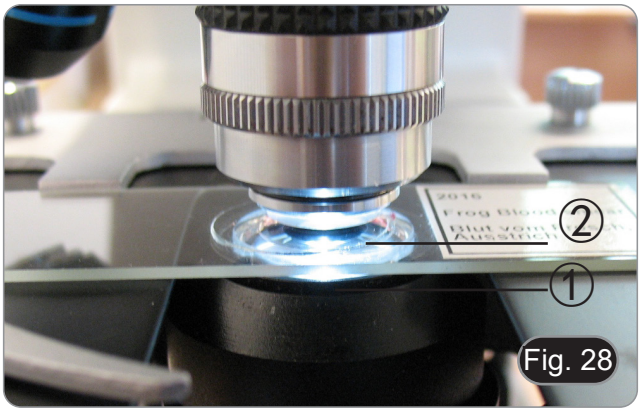
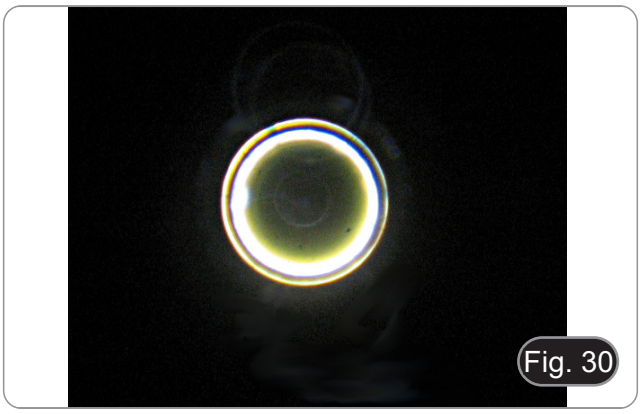


Fig. 28

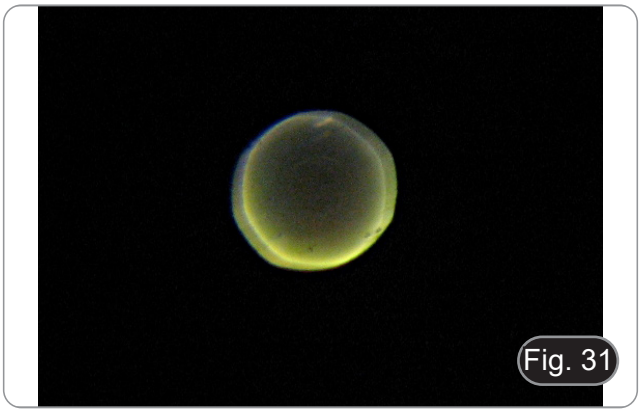
10. Rimuovere un oculare ed inserire il telescopio di centramento nel portaoculare vuoto. (Fig. 29)


Fig. 29

11. Ruotando la parte superiore del telescopio di centramento mettere a fuoco l'immagine dell'anello luminoso visibile alla periferia del campo visivo. (Fig. 30)


Fig. 30

- **Se il condensatore non è perfettamente centrato o se il condensatore non è all'altezza esatta (troppo in alto o troppo in basso), l'immagine proiettata sarà come quella di Fig. 31.**


Fig. 31

12. Ottimizzare il centraggio del condensatore agendo sulla manopola di regolazione di altezza del condensatore e sulle viti di centraggio del condensatore ① e del LED ②. (Fig. 32)

13. Dopo avere effettuato il centraggio ottimale del condensatore, rimuovere il telescopio di centramento e riposizionare l'oculare. Ora si può procedere con l'osservazione.



Fig. 32

14. L'obiettivo 100x ha un diaframma ad iride interno progettato per consentire la regolazione dell'apertura numerica. Ruotare il diaframma per chiudere l'iride. (Fig. 33)

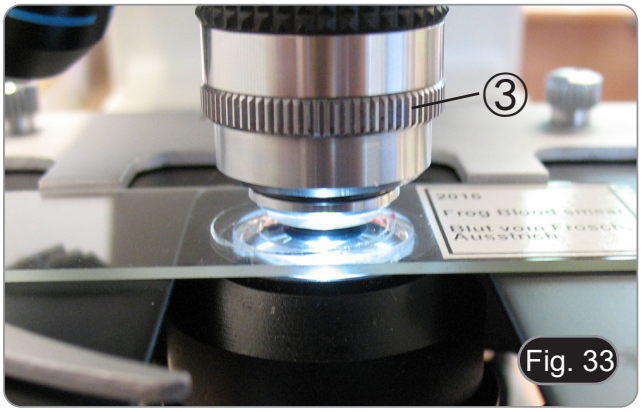
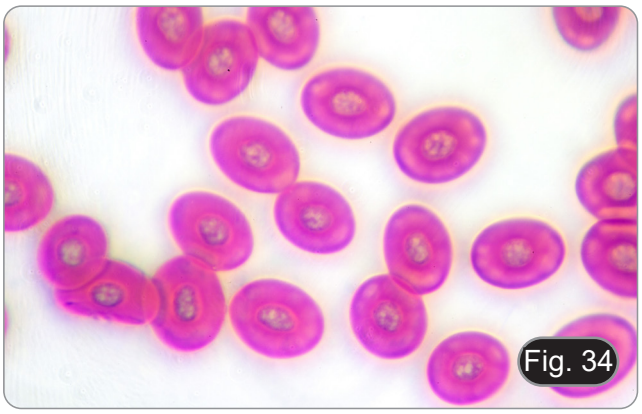
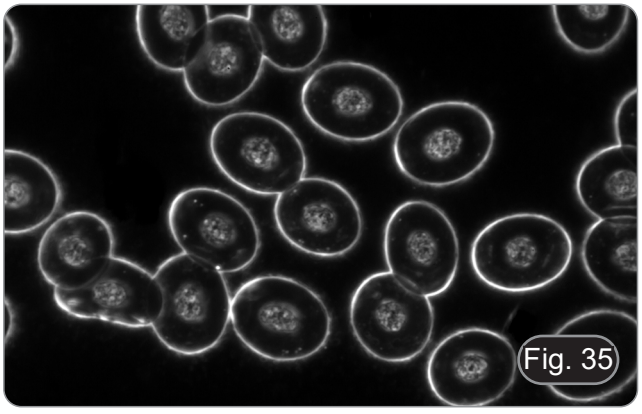


Fig. 33

15. L'effetto che si otterrà passando da un'iride completamente aperta (osservazione in campo chiaro) ad un'iride completamente chiusa (osservazione in campo scuro) è illustrata nelle Figg. 34 e 35.


Fig. 34


Fig. 35

13. Microfotografia

13.1 Uso di telecamere passo “C”

1. Allentare la vite di bloccaggio ① sul tubo trinoculare e rimuovere il tappo antipolvere ②. (Fig. 36)

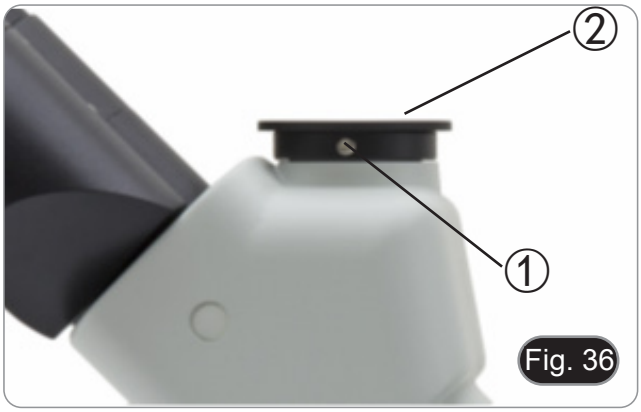


Fig. 36

2. Avvitare l’adattatore passo C ③ alla telecamera ④ e installare l’attacco rotondo del passo C nel foro vuoto del tubo trinoculare, quindi riavvitare la vite di serraggio ①. (Fig. 37)



Fig. 37

13.2 Uso di fotocamere Reflex

1. Inserire l’adattatore per reflex ① nel tubo di collegamento a microscopio ②.
2. Avvitare l’anello “T2” ③ (non in dotazione) all’adattatore per reflex
3. Collegare la fotocamera Reflex ④ all’anello “T2” appena montato (Fig. 38).
4. Montare la parte terminale del tubo di collegamento ② nel foro vuoto del tubo trinoculare, quindi riavvitare la vite di serraggio. (Fig. 36)

- L’anello “T2” non è fornito insieme al microscopio, ma è disponibile in commercio.
- Per la fotografia di preparati scuri, oscurare gli oculari e il mirino con un panno scuro per limitare la luce diffusa.
- Per misurare l’ingrandimento della macchina fotografica calcolare: ingrandimento obiettivo * ingrandimento macchina fotografica * ingrandimento lente.
- **Se si utilizza una macchina SLR, il movimento dello specchio potrebbe far vibrare la macchina. Si consiglia di sollevare lo specchio, di usare tempi di esposizione lunghi e uno scatto remoto.**



Fig. 38

14. Manutenzione

Ambiente di lavoro

Si consiglia di utilizzare il microscopio in un ambiente pulito e secco, privo di urti, ad una temperatura fra 0°C e 40°C e con una umidità relativa massima dell'85% (in assenza di condensazione). Si consiglia l'uso di un deumidificatore se necessario.

Prima e dopo l'utilizzo del microscopio



- Tenere il microscopio sempre in posizione verticale quando lo si sposta.
- Assicurarsi inoltre che le parti mobili, ad esempio gli oculari, non cadano.
- Non maneggiare senza precauzioni e non adoperare inutile forza sul microscopio.
- Non cercare di provvedere da soli alla riparazione.
- Dopo l'uso spegnere immediatamente la lampada, coprire il microscopio con l'apposita custodia antipolvere in dotazione e tenerlo in un luogo asciutto e pulito.

Precauzioni per un utilizzo sicuro



- Prima di collegare l'alimentatore alla rete elettrica assicurarsi che il voltaggio locale sia idoneo a quello dell'apparecchio e che l'interruttore della lampada sia posizionato su OFF.
- Attenersi a tutte le precauzioni di sicurezza della zona in cui ci si trova ad operare.
- L'apparecchio è omologato secondo le norme di sicurezza CE. Gli utenti hanno comunque piena responsabilità nell'utilizzo sicuro del microscopio.

Pulizia delle ottiche

- Qualora le ottiche necessitino di essere pulite, utilizzare prima di tutto aria compressa.
- Se questo non fosse sufficiente usare un panno non sfilacciato, inumidito con acqua e un detergente delicato.
- Come ultima opzione è possibile usare un panno inumidito con una soluzione 3:7 di alcol etilico ed etere.
- **Attenzione: l'alcol etilico e l'etere sono sostanze altamente infiammabili. Non usarle vicino ad una fonte di calore, a scintille o presso apparecchiature elettriche. Le sostanze devono essere adoperate in un luogo ben ventilato.**
- Non strofinare la superficie di nessun componente ottico con le mani. Le impronte digitali possono danneggiare le ottiche.
- Non smontare gli obiettivi o gli oculari per cercare di pulirli.

Per un migliore risultato, utilizzare il kit di pulizia OPTIKA (vedi catalogo).

Se si necessita di spedire il microscopio al produttore per la manutenzione, si prega di utilizzare l'imballo originale.

15. Guida alla risoluzione dei problemi

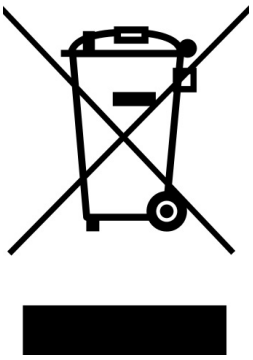
Consultare le informazioni riportate nella tabella seguente per risolvere eventuali problemi operativi.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUZIONE
I. Sezione Ottica:		
L'illuminazione è accesa ma il campo visivo è scuro.	I connettori dell'alimentatore non sono ben collegati	Collegarli
	La luminosità è troppo bassa	Regolarla ad un livello adeguato
I bordi del campo visivo sono vignettato o la luminosità è asimmetrica.	Il revolver non è in posizione corretta	Ruotare il revolver fino al clic stop
	L'olio non è presente o non è in quantità sufficiente sulla lente frontale del condensatore e sul vetrino	Verificare l'adeguata presenza di olio
Nel campo visivo si osservano sporco e polvere.	Sporco e polvere sul campione	Pulire il campione
	Sporco e polvere sull'oculare	Pulire l'oculare
L'immagine (usando il microscopio in campo chiaro) appare sdoppiata.	Il diaframma di apertura è troppo chiuso	Aprire il diaframma di apertura
	Il condensatore non è ben centrato o è ad un'altezza errata	Sistemare il condensatore in accordo al settaggio di Koehler.
La qualità delle immagini è scarsa: • L'immagine non è nitida; • Il contrasto non è alto; • I dettagli non sono nitidi;	Il revolver non si trova al centro del percorso luminoso	Ruotare il revolver finché non si blocca con un click
	Il diaframma di apertura nel campo visivo (quando si lavora in campo chiaro) è troppo aperto oppure troppo chiuso	Regolare il diaframma di apertura
	Le lenti (condensatore, obiettivi, oculari e vetrino) sono sporche	Pulire accuratamente tutte le componenti ottiche
	Per osservazioni in luce trasmessa, lo spessore del coprioggetto non deve superare gli 0.17 mm	Utilizzare un coprioggetto con spessore di 0.17 mm
	La messa a fuoco non è omogenea	Il portapreparati non è piano. Spostare il campione fino a trovare la posizione ideale.
	Si sta usando un campione non adatto all'osservazione in campo scuro	Usare un campione adeguato
Un lato dell'immagine non è a fuoco	Il revolver non è al centro del percorso luminoso	Ruotare il revolver finché non si arriva al clic stop
	Il preparato non si trova nella posizione corretta (es. inclinato)	Posizionare il preparato orizzontalmente sul piano
	La qualità ottica del vetrino portapreparato è scarsa	Utilizzare un vetrino di migliore qualità
II. Sezione Meccanica:		
La manopola macrometrica è difficile da ruotare	L'anello di regolazione della tensione è troppo stretto	Allentare l'anello di regolazione della tensione
La messa a fuoco è instabile	L'anello di regolazione della tensione è troppo allentato	Stringere l'anello di regolazione della tensione
III. Sezione Elettrica:		
Il LED non si accende.	Lo strumento non viene alimentato	Verificare il collegamento del cavo di alimentazione
La luminosità è insufficiente	La luminosità è regolata bassa	Regolare la luminosità
La luce lampeggia	Il cavo di alimentazione non è collegato bene	Verificare il collegamento del cavo

IV. Tubo di osservazione:		
Il campo visivo è diverso per ciascun occhio.	La distanza interpupillare non è corretta	Regolare la distanza interpupillare
	La correzione diottrica non è giusta	Regolare la correzione diottrica
	La tecnica di visione non è corretta, e l'operatore sforza la vista	Quando guarda il campione non focalizzi lo sguardo in un unico punto ma guardi l'intero campo visivo a disposizione. Periodicamente distolga lo sguardo e guardi un punto distante, dopodiché torni ad analizzare il campione.
V. Microfotografia e acquisizione video:		
Il bordo dell'immagine non è a fuoco	In un certo grado ciò è insito nella natura degli obiettivi acromatici	Per ridurre il problema al minimo, impostare il diaframma di apertura nella posizione migliore
Sull'immagine compaiono delle macchie chiare	Nel microscopio entra della luce diffusa attraverso gli oculari oppure il mirino della macchina fotografica / telecamera	Coprire gli oculari e il mirino con un panno scuro

Smaltimento

Ai sensi dell'articolo 13 del decreto legislativo 25 luglio 2005 n°151. "Attuazione delle direttive 2002/95/CE, 2002/96/CE e 2003/108/CE, relative alla riduzione dell'uso di sostanze pericolose nelle apparecchiature elettriche ed elettroniche, nonché allo smaltimento dei rifiuti".





Il simbolo del cassonetto riportato sulla apparecchiatura o sulla sua confezione indica che il prodotto alla fine della propria vita utile deve essere raccolto separatamente degli altri rifiuti. La raccolta differenziata della presente apparecchiatura giunta a fine vita è organizzata e gestita dal produttore. L'utente che vorrà disfarsi della presente apparecchiatura dovrà quindi contattare il produttore e seguire il sistema che questo ha adottato per consentire la raccolta separata dell'apparecchiatura giunta a fine vita. L'adeguata raccolta differenziata per l'avvio successivo della apparecchiatura dismessa al riciclaggio, al trattamento e allo smaltimento ambientalmente compatibile contribuisce ad evitare possibili effetti negativi sull'ambiente e sulla salute e favorisce il reimpiego e/o riciclo dei materiali di cui è composta l'apparecchiatura. Lo smaltimento abusivo del prodotto da parte del detentore comporta l'applicazione delle sanzioni amministrative previste dalla normativa vigente.

OPTIKA® S.r.l.
Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALY Tel.: +39 035.571.392
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

OPTIKA® Spain
spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA
usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China
china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® India
india@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Central America
camerica@optikamicroscopes.com

OPTIKA®
ITALY

Serie B-510

MANUAL DE INSTRUCCIONES

Modelo
B-510DK

Ver. 2.5 2023

Índice

1. Advertencia 57
2. Información de seguridad 57
3. Contenido del paquete 58
4. Desembalaje 59
5. Utilización 59
6. Símbolos 59
7. Descripción del instrumento 60
8. Montaje 62
9. Procesos de observación en campo claro 64
10. Procesos de observación en campo oscuro 65
11. Uso del microscopio 66
 11.1 Ajuste de la intensidad de luz 66
 11.2 Ajuste de la tensión 66
 11.3 Palanca de bloqueo del enfoque 66
 11.4 Platina 66
 11.5 Ajuste dioptrico 67
 11.6 Ajustar la distancia interpupilar 67
 11.7 Uso de los protectores de goma 67
 11.8 Centrar el condensador de campo claro 68
 11.9 Efectos del diafragma de campo 68
 11.10 Diafragma de apertura 68
12. Microscopía de campo oscuro 69
 12.1 Principios de microscopía a inmersión en aceite 69
 12.2 Principios de iluminación de campo oscuro 71
 12.3 Microscopía de campo oscuro de alto aumento 72
 12.4 Centrado del condensador de campo oscuro 73
13. Microfotografía 76
 13.1 Uso de cámaras de paso “C” 76
 13.2 Uso de cámara Reflex 76
14. Mantenimiento 77
15. Guía de solución de problemas 78

Medidas ecológicas y reciclaje 80

1. Advertencia

Este microscopio es un instrumento científico de precisión. Su utilización está pensada para una larga duración con un mínimo nivel de mantenimiento. Para su fabricación se han utilizado elementos ópticos y mecánicos de elevada calidad que lo convierten en el instrumento ideal para la utilización diaria en las aulas y el laboratorio. Informamos que esta guía contiene importantes informaciones sobre la seguridad y el mantenimiento del producto y por lo tanto debe ser accesible a todos aquellos que utilizan dicho instrumento.

2. Información de seguridad



Evitar una descarga eléctrica

Antes de conectar el microscopio a la toma de corriente, asegurarse que la tensión de entrada del lugar donde se usa coincide con la tensión de utilización del microscopio y que el interruptor del iluminador esté en posición
OFF. El usuario debe consultar las normas de seguridad de su país. El instrumento está dotado de una etiqueta de seguridad CE. No obstante estas pautas, el usuario debería utilizar el microscopio en función de sus necesidades pero con un mínimo de responsabilidad y seguridad. Por favor, siga las siguientes instrucciones y lea éste manual en su totalidad para asegurar la operación segura del equipo.

3. Contenido del paquete



① Estativo microscopio
② Oculares
③ Objetivos
④ Cabezal de observación
⑤ Aceite de inmersión
⑥ Llave allen
⑦ Llave para ajuste de la tensión
⑧ Funda anti polvo
⑨ Enchufe/transformador a corriente
⑩ Condensador campo claro
⑪ Condensador campo oscuro
⑫ Telescopio de centrado

4. Desembalaje

El microscopio esta embalado dentro de una caja de porexpan. Quitar el precinto que hay alrededor de la caja y abrirla. Tenga cuidado al abrir la caja ya que algunos accesorios ópticos como objetivos y oculares podrían caerse o dañarse. Con las dos manos (una sujetando el brazo y la otra la base) extraer el microscopio de dentro la caja de porexpan y poner sobre la mesa, procurando que ésta sea fuerte y estable.



Evite tocar las superficies ópticas como las lentes, los filtros o el cristal. Los restos de grasa u otros residuos pueden reducir la calidad visual de la imagen final y corroer la superficie de la óptica en poco tiempo.

5. Utilización

Modelos estándar

Para uso exclusivo de investigación y docencia. No está destinado a ningún uso terapéutico o diagnóstico animal o humano.

Modelos IVD

También para uso diagnóstico, orientado a obtener información sobre la situación fisiológica o patológica del sujeto.

6. Símbolos

A continuación le mostramos una lista de los símbolos que encontrará a lo largo de éste manual.



PRECAUCIÓN

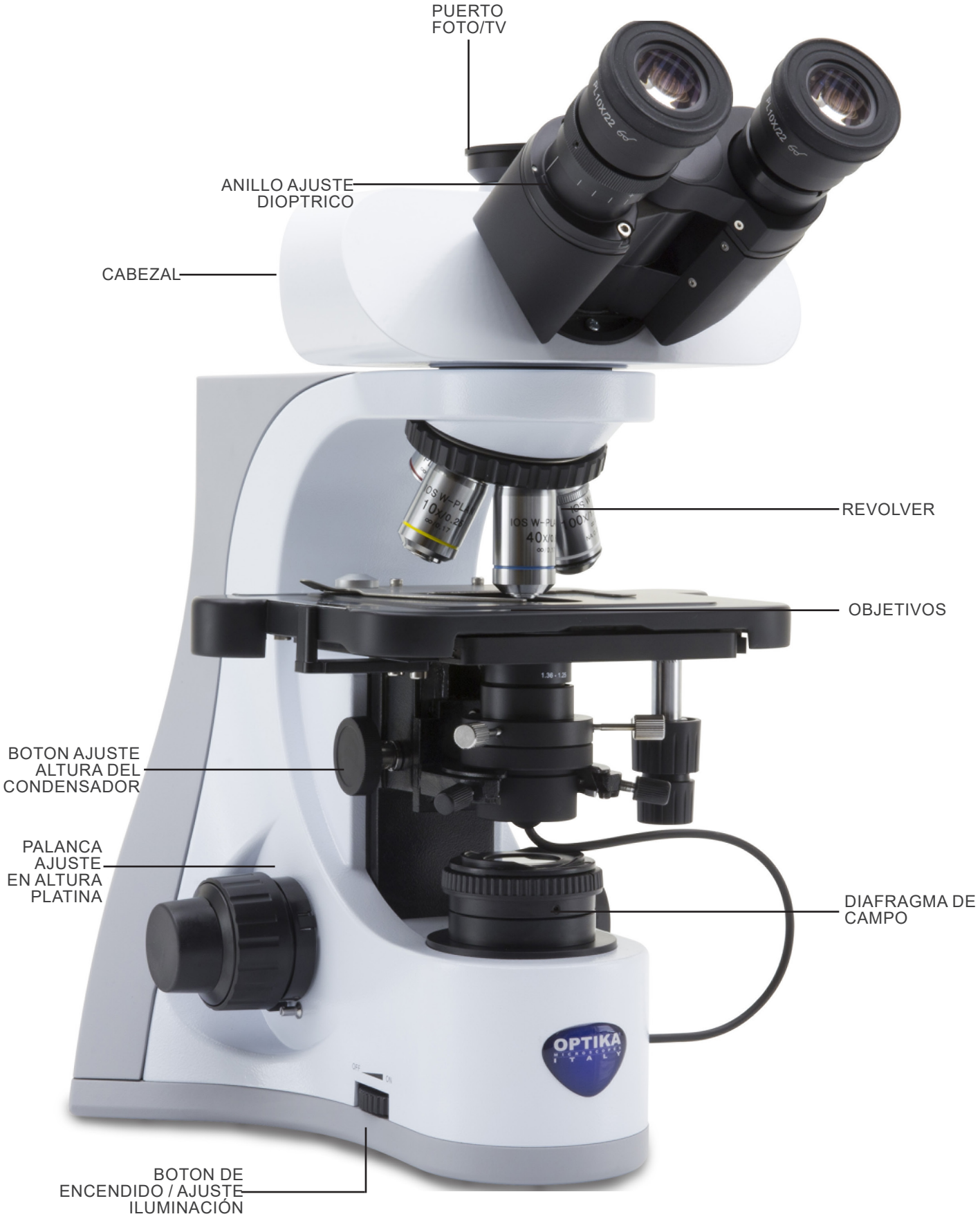
Éste símbolo indica riesgo alto y le advierte de proceder con precaución.



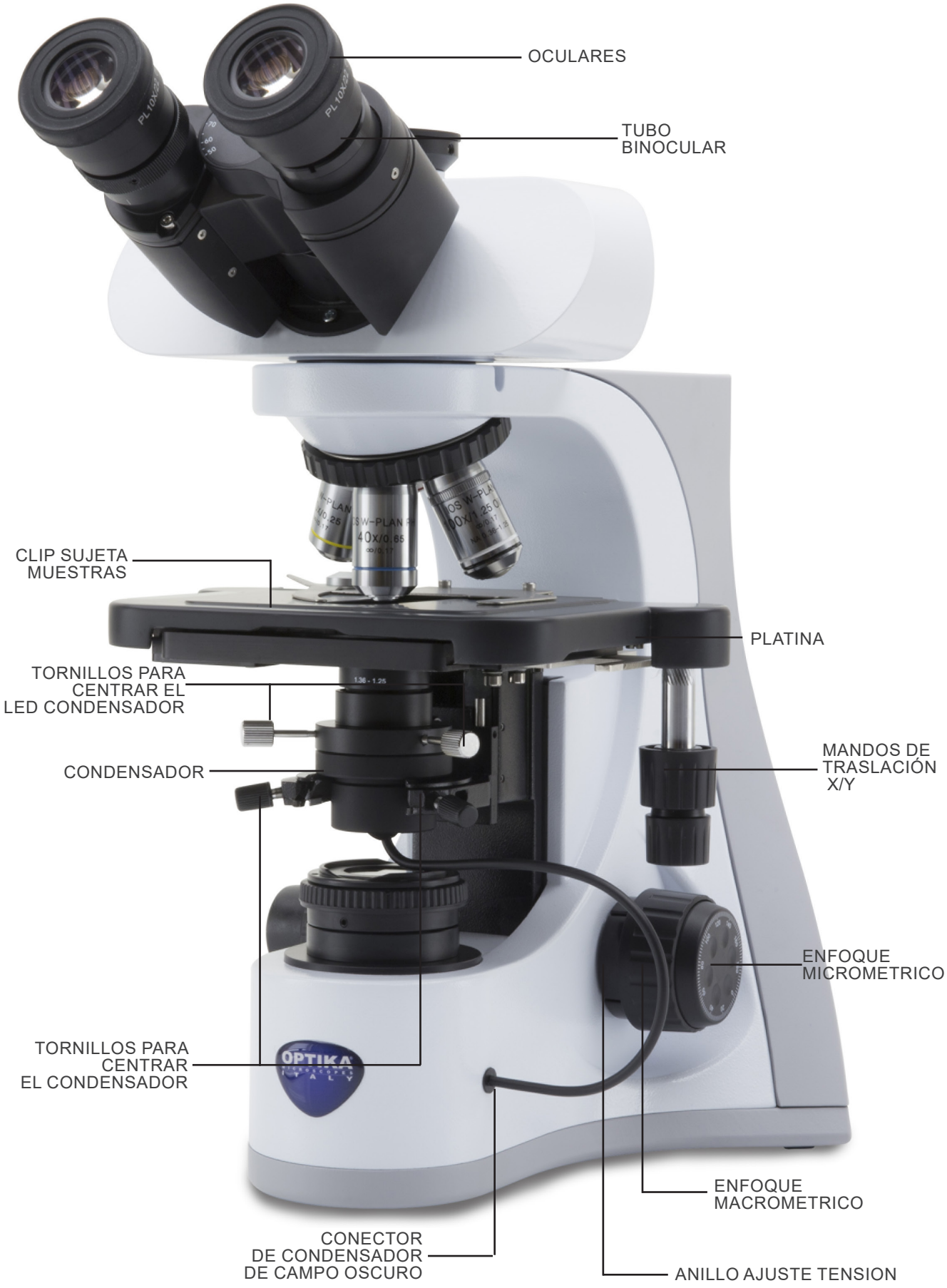
DESCARGA ELÉCTRICA

Éste símbolo indica riesgo de descarga eléctrica

7. Descripción del instrumento



Lado opuesto



8. Montaje

1. Insertar el cabezal sobre el estativo y fijarlo con el tornillo. (Fig. 1)

- **Sujetar el cabezal con una mano mientras lo está atornillando al estativo para evitar que caiga**.


Fig. 1

2. Insertar ambos oculares dentro de cada uno de los tubos porta-ocular. (Fig. 2)


Fig. 2

3. Colocar los objetivos en cada uno de los espacios que hay en el revolver y en sentido de las agujas del reloj, de menor a mayor aumento. (Fig. 3)


Fig. 3

4. Insertar el cable de corriente en la parte trasera del estativo. (Fig. 4)


Fig. 4

- **El microscopio se suministra con dos condensadores: uno para campo claro y otro para campo oscuro. Seleccionar el condensador adecuado para el modo de observación deseado.**

5. Baje el soporte del condensador usando la perilla de altura del condensador ①. (Fig. 5)



6. Insertar la cola de milano redonda del condensador en el soporte del condensador. (Fig. 6)



7. Apriete el tornillo de bloqueo del condensador ②. (Fig. 7)

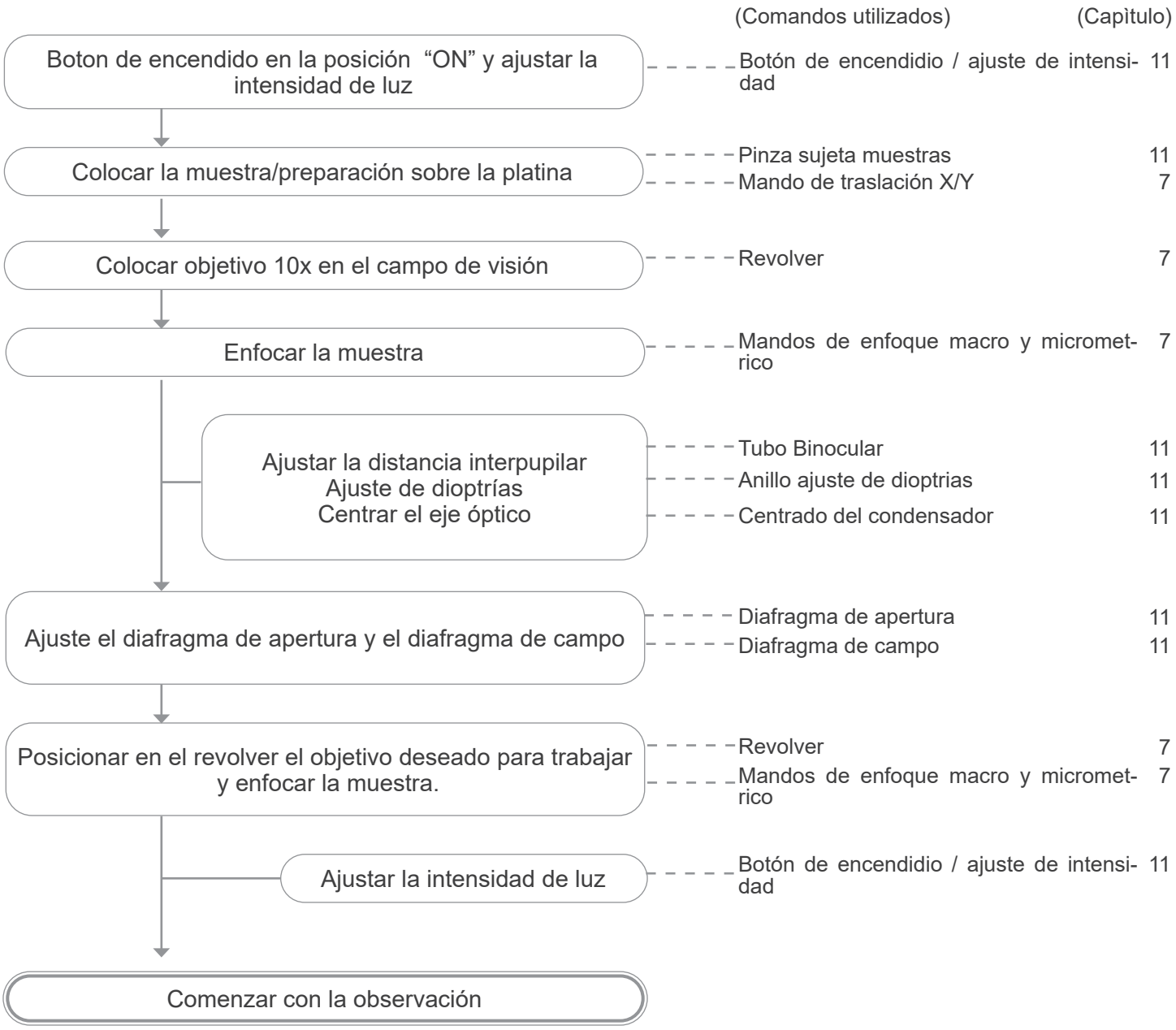


8. (Sólo para condensador de campo oscuro)
Conecte el enchufe del condensador al conector en el lado derecho del cuerpo del microscopio. (Fig. 8)

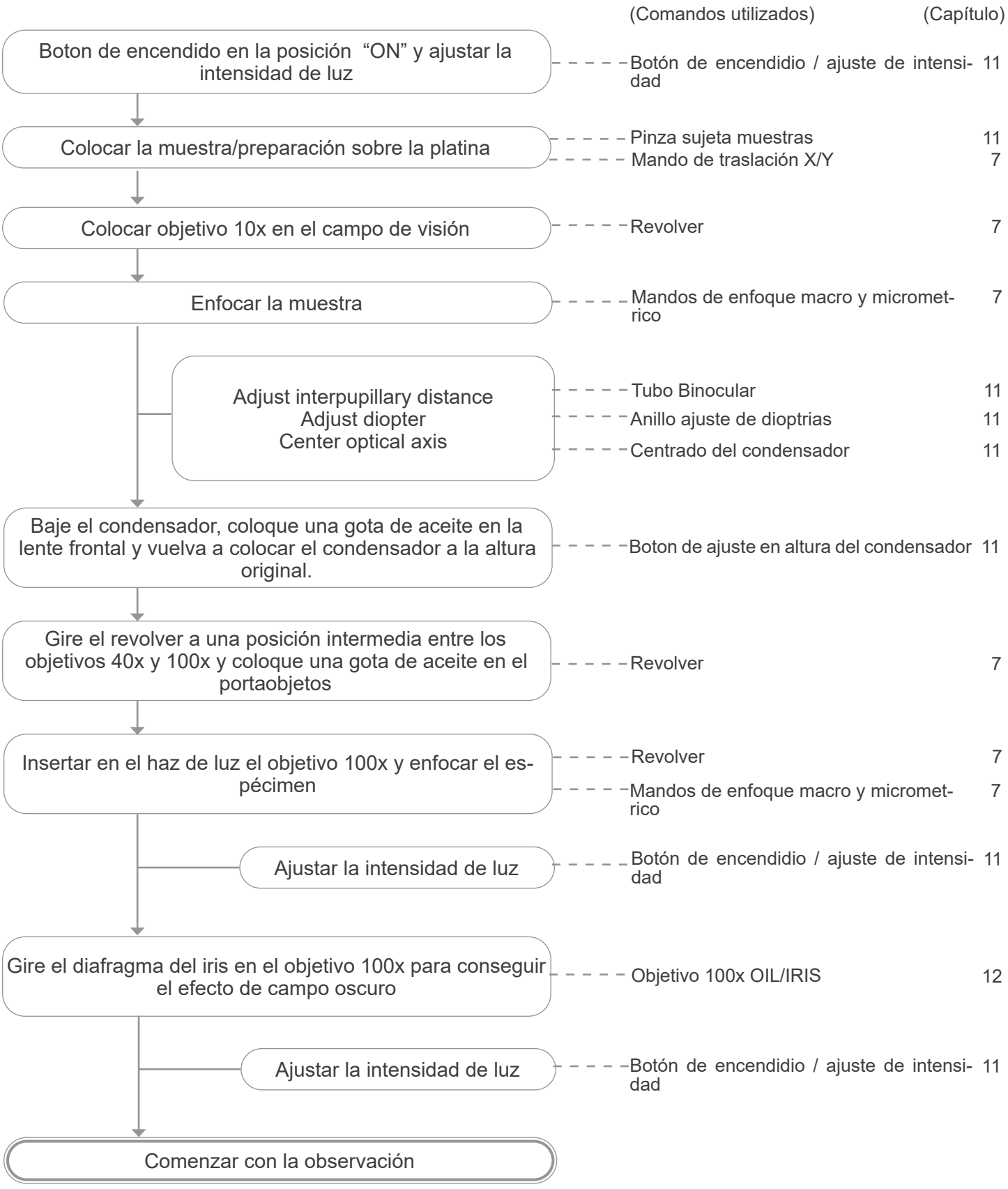
- **Cuando el enchufe del condensador está conectado, la luz procedente del LED del microscopio se apaga y el LED del condensador interno se enciende.**



9. Procesos de observación en campo claro



10. Procesos de observación en campo oscuro



11. Uso del microscopio

11.1 Ajuste de la intensidad de luz

Gire el botón de ajuste de intensidad de la luz para encender / apagar el microscopio y para aumentar / disminuir el voltaje de iluminación ①. (Fig. 9)

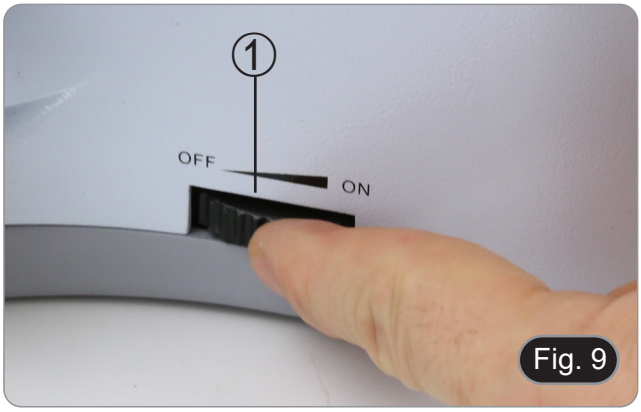


Fig. 9

11.2 Ajuste de la tensión

- **Ajustar el embrague del pomo con el anillo de embrague.**

La tensión del mando macrométrico viene preajustada de fábrica
1. Para modificar la tensión según las necesidades personales, gire el anillo ② con la herramienta provista. (Fig. 10)
- La rotación hacia la derecha aumenta la tensión.
- Si la tensión es demasiado floja, la platina podría caer hacia abajo por sí misma o deajustarse fácilmente la rotación del micrométrico. En este caso, gire el anillo para aumentar la tensión.



Fig. 10

11.3 Palanca de bloqueo del enfoque

El limitador tiene dos funciones: prevenir el contacto entre la muestra y el objetivo, y actuar como una “memoria de enfoque”
1. Una vez enfocada la muestra, tire de la palanca ③ hacia la parte delantera del microscopio bloquearla. (Fig. 11).
- Así se acciona el limitador de recorrido ascendente.
1. Puede mover hacia abajo la platina y cambiar la muestra, luego mover de nuevo hacia arriba dicha platina hacia el límite, la muestra estará casi enfocada, solo será preciso utilizar el mando micrométrico para terminar de enfocarla.
- **El limitador de enfoque no bloquea el movimiento micrométrico, se puede seguir utilizando normalmente.**
- **Para desbloquearlo, posicionar el mando en el sentido contrario.**

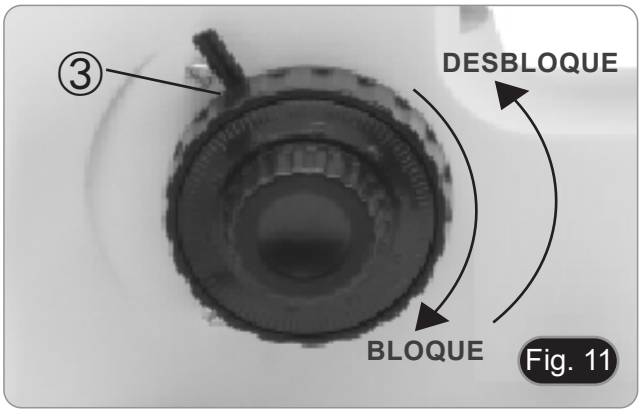


Fig. 11

11.4 Platina

Sobre la platina, se pueden colocar muestras de 26 x 76 mm y un grosor de 1,2 mm con un cristal cubre de 0,17 mm
Permite colocar dos muestras a la vez.
- **Abrir la pinza grande con muelle ④ y colocar una de las muestras. (Fig. 12)**
- **Cerrar la pinza suavemente la cual sujetará la firmemente la muestra.**
- **Si suelta la pinza de golpe, podría romper o hacer caer la muestra de la platina.**

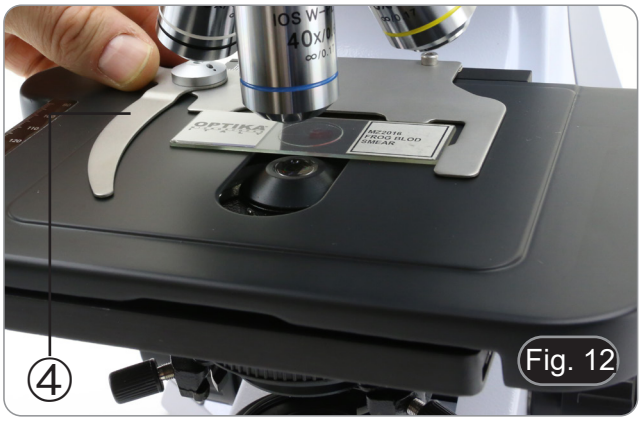


Fig. 12

11.5 Ajuste dioptrico

1. Mirar con el ocular derecho y el ojo derecho para enfocar la muestra.
2. Mirar con el ocular izquierdo y el ojo izquierdo, si la imagen no se ve clara, gire el anillo de ajuste dioptrías para compensar ①. (Fig. 13)

- **El rango de ajuste es de +/-5 dioptrías. El número indicado sobre en anillo de ajuste correspondería a la corrección dioptrica del usuario.**

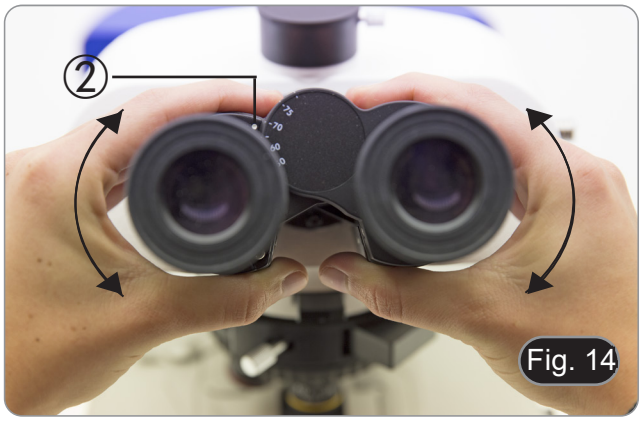


11.6 Ajustar la distancia interpupilar

Observe con ambos ojos, sujetar ambos tubos de observación con cada una de las manos, y mueva hacia arriba o hacia abajo hasta que vea una sola imagen de la muestra.

- **La graduación de la distancia interpupilar está indicada con un punto blanco "." ②, e indica la distancia entre los ojos de usuario. (Fig. 14)**

Dicha graduación va desde 48 a 75 mm.



11.7 Uso de los protectores de goma

- **Uso con gafas**

Doble hacia atrás los protectores oculares de goma con ambas manos. Los protectores oculares plegados evitan arañar las lentes de las gafas. (Fig. 15)



- **Uso sin gafas**

Levante los protectores oculares y observe en el microscopio colocando los ojos lo más cerca posible sobre los oculares, evitando que penetre luz externa. (Fig. 16)



11.8 Centrar el condensador de campo claro

1. Coloque la muestra en la platina, inserte el objetivo 10x en revolver y enfoque.
2. Inserte la lente frontal del condensador ①. (Fig. 17)
3. Gire el anillo de diafragma de campo ② en sentido contrario a las agujas del reloj, para cerrar completamente el diafragma.
4. Gire el botón de ajuste en altura del condensador ③ para enfocar los bordes del diafragma.
5. Con los tornillos para centrar el condensador ④ posicionar al centro de visión el circulo luminoso.
6. Abrir el diafragma poco a poco. Se considera que el condensador está centrado cuando la imagen del diafragma es simétrica al campo de visión.
7. En uso normal, abra el diafragma hasta que circunscriba el campo de visión.

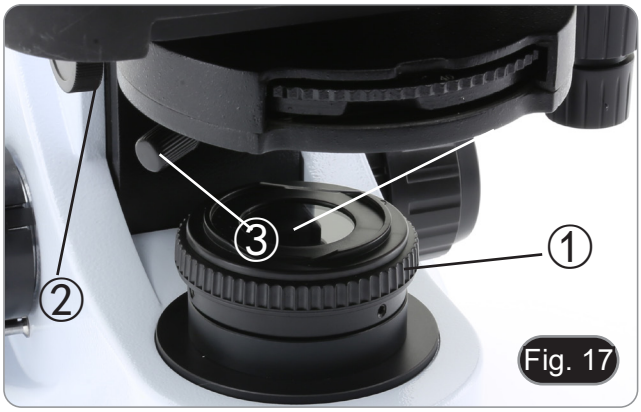
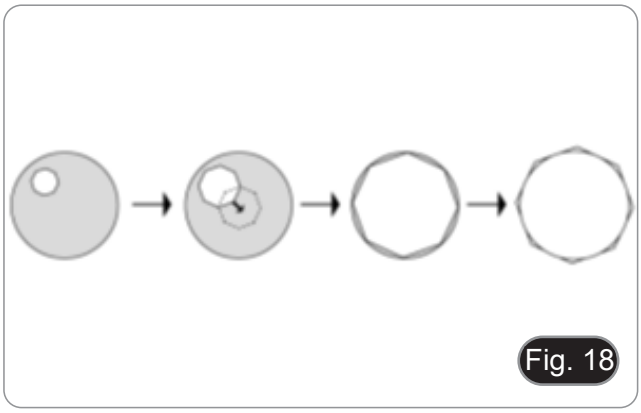


Fig. 17

11.9 Efectos del diafragma de campo

El diafragma de campo ajusta el área iluminada para obtener una imagen de alto contraste.
Ajuste el diafragma de acuerdo con el objetivo en uso hasta que circunscriba el campo de visión, a fin de eliminar la luz innecesaria en los oculares. (Fig. 18)


Fig. 18

11.10 Diafragma de apertura

- El valor de Apertura Numérica (A.N.) del diafragma afecta el contraste de la imagen. Aumentando o reduciendo este valor uno puede variar la resolución, el contraste y la profundidad del foco de la imagen
- Con muestras de bajo contraste ajuste el valor de apertura numérica ⑤ (impreso en el anillo del condensador) a aproximadamente 70% -80% de A.N. del objetivo (Fig. 19). Si es necesario, quite el ocular y, mirando a través del tubo vacío, ajuste el anillo del condensador para obtener una imagen como la de la Fig. 20.

Ejemplo: con objetivo PLAN 40x / 0.65 poner la escala a 0.65 x 0.8 = 0.52



Fig. 19

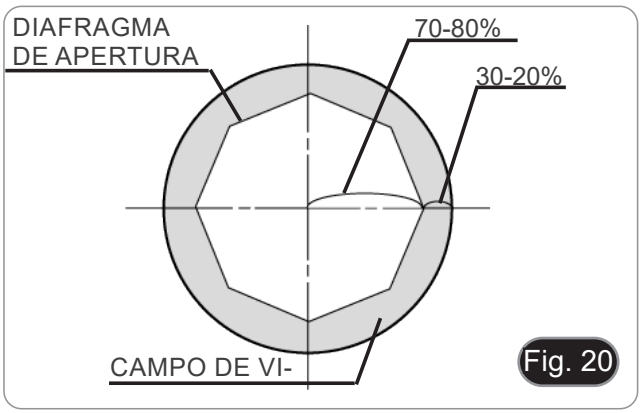


Fig. 20

12. Microscopía de campo oscuro

El B-510DK es un sistema de campo oscuro específico para el análisis de sangre con un condensador de campo oscuro 1.36 - 1.25 A.N. especial extra eficiente y un objetivo plan-acromático 100X con diafragma de iris ajustable.

La iluminación X-LED garantiza el alto nivel de intensidad de luz que normalmente se necesita en las técnicas de campo oscuro de gran aumento.

Para utilizar correctamente este microscopio, hay que familiarizarse con él:
a. técnica de inmersión en aceite
b. técnica de campo oscuro.

En el siguiente manual se presentan las bases de estos métodos (capítulos 12.1 y 12.2) y a continuación se ofrece una guía paso a paso de la configuración del B-510DK (capítulo 12.4).

También se dan consejos generales para la microscopía de inmersión.

12.1 Principios de microscopía a inmersión en aceite

La capacidad de un objetivo de microscopio para capturar los rayos de luz desviados de una muestra depende tanto de la apertura numérica como del medio a través del cual viaja la luz.

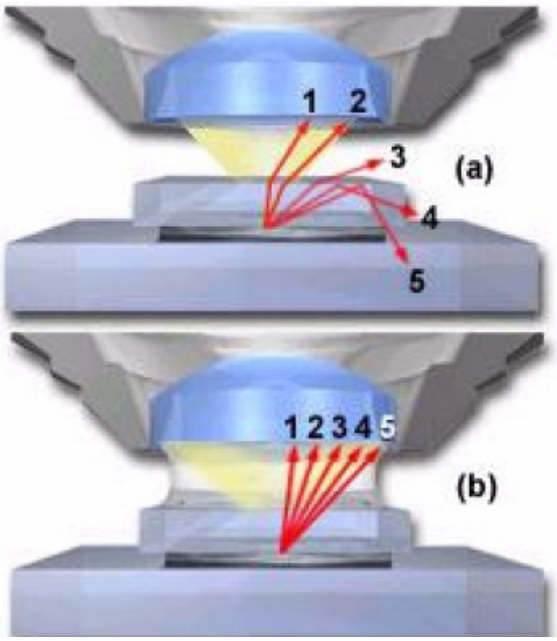
La apertura numérica de un objetivo es directamente proporcional al índice de refracción del medio de imagen entre la cubreobjetos y la lente frontal, y también al pecado de la mitad de la apertura angular del objetivo.

Debido a que el pecado no puede ser mayor de 90 grados, la apertura numérica máxima posible se determina por el índice de refracción del medio de inmersión.

La mayoría de los objetivos del microscopio utilizan el aire como el medio a través del cual los rayos de luz deben pasar entre el cubreobjetos, protegiendo la muestra y la lente frontal del objetivo. Los objetivos de este tipo se denominan objetivos secos porque se utilizan sin medios líquidos de imagen.

El aire tiene un índice de refracción de 1.0003, muy cercano al del vacío y considerablemente inferior al de la mayoría de los líquidos, incluyendo el agua (n = 1.33), la glicerina (n = 1.470) y los aceites de inmersión comunes para microscopios (media n = 1.515).

En la práctica, la apertura numérica máxima de un sistema de objetivo seco está limitada a 0.95, y los valores mayores sólo pueden lograrse utilizando ópticas diseñadas para medios de inmersión.



Inmersión en aceite y Apertura numérica

Fig. 21

El principio de la inmersión en aceite se muestra en la Fig. 21, donde los rayos de luz individuales se trazan a través de la muestra y pasan al objetivo o se refractan en otras direcciones. La Fig. 21(a) ilustra el caso de un objetivo seco con cinco rayos (marcados del 1 al 5) que pasan a través de una muestra que está cubierta con un cubreobjetos. Estos rayos se refractan en la interfase coverslip-aire y sólo los dos rayos más cercanos al eje óptico (rayos 1 y 2) del microscopio tienen el ángulo apropiado para entrar en la lente frontal del objetivo. El tercer rayo se refracta en un ángulo de unos 30 grados con respecto al cubreobjetos y no entra en el objetivo. Los dos últimos rayos (4 y 5) se reflejan internamente a través del cubreobjetos y, junto con el tercer rayo, contribuyen a la reflexión interna de la luz en las superficies de cristal que tienden a degradar la resolución de la imagen. Cuando el aire es reemplazado por aceite del mismo índice de refracción que el vidrio, como se muestra en la Fig. 21(b), los rayos de luz pasan directamente a través de la interfaz vidrio-aceite sin desviarse debido a la refracción. La apertura numérica se incrementa así por el factor n, el índice de refracción del aceite.

Los objetivos del microscopio diseñados para su uso con aceite de inmersión tienen una serie de ventajas sobre los que se utilizan en seco. Los objetivos de inmersión son típicamente de mayor corrección (ya sea fluorita o apocromática) y pueden tener aperturas numéricas de trabajo de hasta 1.40 cuando se usan con aceite de inmersión que tenga la dispersión y viscosidad adecuadas. Estos objetivos permiten que el diafragma del condensador se abra en mayor grado, extendiendo así la iluminación de la muestra y aprovechando el aumento de la apertura numérica.

Un factor que comúnmente se pasa por alto cuando se utilizan objetivos de inmersión en aceite de mayor apertura numérica son las limitaciones impuestas al sistema por el condensador .

En una situación en la que se utiliza un objetivo de aceite de A.N. = 1.40 para obtener imágenes de un espécimen con un condensador de menor apertura numérica (1.0 por ejemplo), la apertura numérica más baja del condensador prevalece sobre la del objetivo y la A.N. total del sistema se limita a 1.0, la apertura numérica del condensador.

Los modernos condensadores suelen tener un alto grado de corrección con valores de apertura numérica que oscilan entre 1.0 y 1.40. Para utilizar eficazmente todos los beneficios de la inmersión en aceite, la interfaz entre la lente frontal del condensador y la parte inferior del portaobjetos del microscopio que contiene la muestra también debe estar sumergida en aceite.
En la Fig. 22 se representa esquemáticamente un sistema ideal, en el que se ha colocado aceite de inmersión en las interfaces entre la lente frontal del objetivo y la diapositiva de la muestra, así como entre la lente frontal del condensador y la parte inferior de la diapositiva de la muestra.

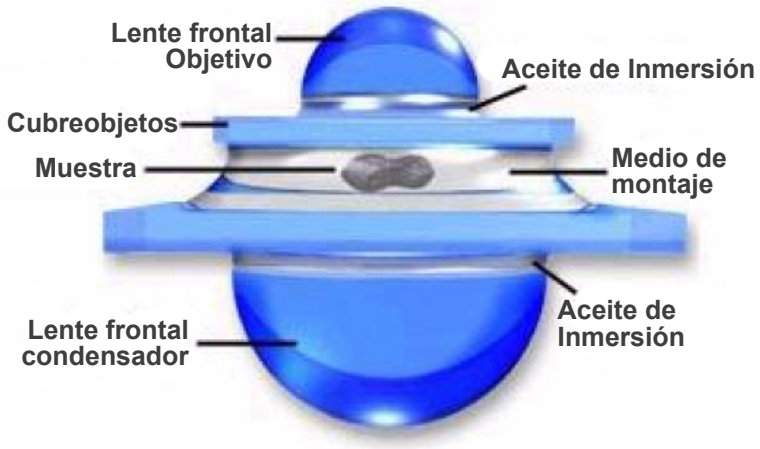
Este sistema se ha denominado Sistema de Inmersión Homogéneo y es la situación ideal para conseguir la máxima apertura numérica y resolución en un microscopio óptico.

En este caso, el índice de refracción y la dispersión de la lente frontal del objetivo, el aceite de inmersión, la lente frontal del condensador y el medio de montaje son iguales o casi iguales.

En este sistema ideal, un rayo de luz oblicuo puede pasar a través de la lente del condensador y completamente a través del portaobjetos del microscopio, el aceite de inmersión y el medio de montaje sin desviarse por refracción en interfaces de aceite de vidrio o de medio de montaje de vidrio.

Cuando se utilizan objetivos de inmersión en aceite de alto rendimiento, a veces se permite omitir el paso de engrasar la lente superior del condensador. Esto se debe a que el diafragma de apertura del condensador a menudo debe reducirse con objetivos menos corregidos para eliminar los artefactos y proporcionar una imagen óptima.

La reducción en el tamaño del diafragma reduce el aumento potencial de la apertura numérica (que se consigue engrasando la lente del condensador), por lo que la pérdida de calidad de imagen en estas condiciones suele ser insignificante.



Sistema de inmersión homogéneo

Fig. 22

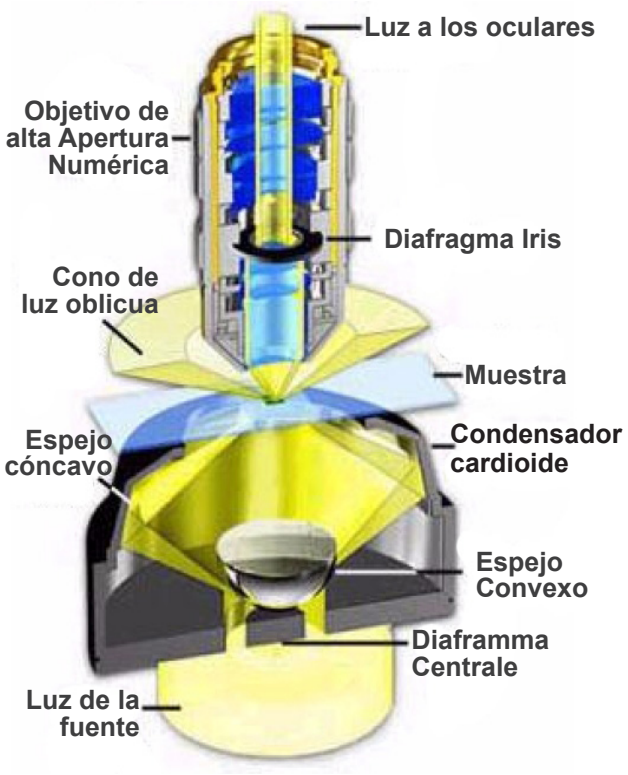
Todos estamos bastante familiarizados con la apariencia y visibilidad de las estrellas en una noche oscura, a pesar de sus enormes distancias de la Tierra. Las estrellas se pueden ver debido al fuerte contraste entre su débil luz y el cielo negro.

12.2 Principios de iluminación de campo oscuro

La microscopía de campo oscuro es una técnica de iluminación especializada que aprovecha la iluminación oblicua para mejorar el contraste en muestras que no son bien visualizadas bajo condiciones normales de iluminación de campo claro.

Todos nosotros estamos bastante familiarizados con la apariencia y la visibilidad de las estrellas en una noche oscura, a pesar de su enorme distancia de la tierra. Las estrellas se pueden ver debido al marcado contraste entre su tenue luz y el cielo negro.

Este principio se aplica en la microscopía de campo oscuro (también llamada de fondo oscuro), un método simple y popular para hacer que los objetos no manchados sean claramente visibles. Estos objetos suelen tener índices de refracción muy cercanos a los de su entorno y son difíciles de visualizar en la microscopía de campo claro convencional. Por ejemplo, muchos organismos acuáticos pequeños tienen un índice de refracción que oscila entre 1,2 y 1,4, lo que resulta en una diferencia óptica insignificante con respecto al medio acuoso circundante. Estos son candidatos ideales para la iluminación de campo oscuro.



Condensador cardioide para campo oscuro

Fig. 23

La iluminación de campo oscuro requiere bloquear la luz central que normalmente pasa a través y alrededor del espécimen, permitiendo que sólo los rayos oblicuos de cada acimut “golpeen” el espécimen montado en el portaobjetos del microscopio. La lente superior de un simple condensador de campo oscuro de Abbe es esféricamente cóncava, permitiendo que los rayos de luz que emergen de la superficie en todos los acimutes formen un cono hueco invertido de luz con un ápice centrado en el plano de la muestra. Si no hay ningún espécimen presente y la apertura numérica del condensador es mayor que la del objetivo, los rayos oblicuos se cruzan y todos estos rayos no podrán entrar en el objetivo debido a su oblicuidad. El campo de visión aparecerá oscuro.

El par condensador de campo oscuro / objetivo ilustrado en la Fig. 23 es una disposición de apertura numérica alta que representa la microscopía de campo oscuro en su configuración más sofisticada, que se discutirá en detalle más adelante. El objetivo contiene un diafragma interno de iris que sirve para reducir la apertura numérica del objetivo a un valor inferior al del cono de luz hueco invertido emitido por el condensador. El condensador cardioide es un diseño de campo oscuro reflectante que se basa en espejos internos para proyectar un cono de luz libre de aberraciones sobre el plano de la muestra.

Cuando se coloca un espécimen en el portaobjetos, especialmente un espécimen no manchado y no absorbente de luz, los rayos oblicuos atraviesan el espécimen y son difractados, reflejados y/o refractados por discontinuidades ópticas (tales como la membrana celular, el núcleo y los orgánulos internos) que permiten que estos rayos tenues entren en el objetivo. El espécimen puede entonces verse brillante sobre un fondo que de otro modo sería negro. En términos de óptica de Fourier, la iluminación de campo oscuro elimina el orden de cero (luz no dispersa) del patrón de difracción formado en el plano focal trasero del objetivo. Esto da como resultado una imagen formada exclusivamente a partir de intensidades de difracción de orden superior dispersas por el espécimen.

Los candidatos ideales para la iluminación de campo oscuro incluyen organismos acuáticos vivos diminutos, diatomeas, insectos pequeños, huesos, fibras, cabello, bacterias no manchadas, levaduras y protozoos.

Los especímenes no biológicos incluyen cristales minerales y químicos, partículas coloidales, especímenes de conteo de polvo y secciones delgadas de polímeros y cerámicas que contienen pequeñas inclusiones, diferencias de porosidad o gradientes de índice de refracción.

Se debe tener cuidado al preparar las muestras para la microscopía de campo oscuro, ya que las características que se encuentran por encima y por debajo del plano de enfoque también pueden dispersar la luz y contribuir a la degradación de la imagen.
El espesor del espécimen y el espesor del portaobjetos del microscopio también son muy importantes y, en general, es deseable una muestra delgada para eliminar la posibilidad de artefactos de difracción que puedan interferir con la formación de imágenes.

12.3 Microscopía de campo oscuro de alto aumento

Para un trabajo más preciso y fondos más negros, puede elegir un condensador diseñado especialmente para campo oscuro, es decir, para transmitir sólo los rayos oblicuos. Existen varias variedades: Condensadores de campo oscuro “seco” con aire entre la parte superior del condensador y la parte inferior del portaobjetos, y condensadores de campo oscuro de inmersión que requieren el uso de una gota de aceite de inmersión (algunos están diseñados para utilizar agua en su lugar), estableciendo contacto entre la parte superior del condensador y la parte inferior del portamuestras. El condensador de campo oscuro de inmersión tiene superficies internas espejadas y pasa rayos de gran oblicuidad y libre de aberraciones cromáticas, produciendo los mejores resultados y el fondo más negro.
Quizás el condensador de campo oscuro más utilizado es el paraboloide, que consiste en una pieza sólida de vidrio rectificado con gran precisión en la forma de un paraboloide.

Como se discutió anteriormente, el condensador de campo oscuro seco es útil para objetivos con aperturas numéricas por debajo de 0.75, mientras que los condensadores de inmersión paraboloide y cardioide (Fig. 23) pueden ser usados con objetivos de apertura numérica muy alta (hasta 1.4). Los objetivos con una apertura numérica superior a 1.2 requerirán una cierta reducción de su apertura de trabajo, ya que su apertura numérica máxima puede exceder la apertura numérica del condensador, permitiendo así que la luz directa entre en el objetivo. Por esta razón, muchos objetivos de alta apertura numérica diseñados para su uso con iluminación de campo oscuro y de campo claro se realizan con un diafragma de iris ajustable incorporado que actúa como un tope de apertura.

Esta reducción en la apertura numérica también limita el poder de resolución del objetivo así como la intensidad de la luz en la imagen. Los objetivos especializados diseñados exclusivamente para el trabajo en campo oscuro se producen con una apertura numérica máxima cercana al límite inferior de la apertura numérica del condensador de campo oscuro. No tienen diafragmas internos de iris, sin embargo, los diámetros de la montura de la lente se ajustan de manera que al menos una lente interna tenga el diámetro óptimo para que funcione como un tope de apertura.

El condensador cardioide es muy sensible a la alineación y debe colocarse cuidadosamente para aprovechar el cono muy afilado de la iluminación, lo que lo convierte en el condensador de campo oscuro más difícil de usar. Además, el condensador produce una cantidad significativa de resplandor, incluso a partir de las partículas de polvo más diminutas, y la corta distancia focal puede resultar en una mala iluminación de objetos que superen unas pocas micras de tamaño o grosor. Al elegir portaobjetos para la microscopía cuantitativa de campo oscuro de alto aumento, asegúrese de seleccionar portaobjetos hechos de una mezcla de vidrio que esté libre de impurezas fluorescentes.

Se debe prestar especial atención a los detalles de engrasar un condensador de alta apertura numérica en el fondo del portamuestras. Es muy difícil evitar la introducción de pequeñas burbujas de aire en el área entre la lente superior del condensador y el fondo del portaobjetos del microscopio, y esta técnica debe practicarse a la perfección. Las burbujas de aire causarán destello y distorsión de la imagen, lo que provocará una pérdida de contraste y una degradación general de la imagen.

También se encuentran problemas cuando se utilizan portaobjetos demasiado gruesos o demasiado delgados. Muchos condensadores de campo oscuro contienen la gama de espesores de diapositivas utilizables inscritos directamente en el soporte del condensador. Si el portaobjetos es demasiado grueso, a menudo es difícil enfocar el condensador sin recurrir a un aceite de inmersión de mayor viscosidad. Por otro lado, los portaobjetos demasiado delgados tienden a romper la unión de aceite entre el condensador y el portaobjetos. Es una buena idea comprar portaobjetos de precisión del grosor correcto para evitar cualquiera de los problemas mencionados anteriormente.
Los condensadores de alta apertura numérica, ya sea para uso en seco o con aceite, deben estar centrados con precisión en la trayectoria óptica del microscopio para lograr un rendimiento óptimo.

Para lograr esto, muchos condensadores de campo oscuro se construyen con un pequeño círculo grabado en la superficie superior para ayudar a centrar el condensador. El centrado se realiza con un objetivo de baja potencia (10x-20x) mediante imágenes del círculo grabado y utilizando los tornillos de centrado del condensador para asegurar que el círculo (y el condensador) estén correctamente centrados en la trayectoria óptica.

12.4 Centrado del condensador de campo oscuro

1. Seleccione una muestra de campo oscuro y colóquela en el microscopio entre el objetivo y el condensador.
2. Inserte el objetivo 10X en la trayectoria de la luz y enfoque la muestra.

- **El condensador proyectará un punto de luz sobre la muestra que puede utilizarse para centrar la trayectoria óptica.**

3. Utilice los tornillos de centrado del condensador ① para mover el anillo de luz hacia el centro del campo de visión. (Fig. 24)

- **Puede ser útil variar la altura del condensador para poder ver el spot.**
- **A menudo es ventajoso utilizar un objetivo 10x de baja potencia cuando se centran condensadores de campo oscuro con alta apertura numérica.**
- **Cuando se observa una muestra con el objetivo 10x mientras se sube y baja lentamente el condensador, se alcanza un punto en el que aparece un punto brillante en el campo de visión, como se ilustra en la Fig. 25(a). Como el condensador está ligeramente levantado o bajado, una mancha oscura similar a la que se muestra en la Fig. 25(b), si el condensador está correctamente centrado. En los casos en que el condensador no está correctamente alineado y centrado, un campo de visión típico podría verse como el que se muestra en la Fig. 25(c) y (d). La posición ideal y correcta del condensador se ilustra en la Fig. 25(a), y el condensador debe ajustarse hasta que aparezca el campo de visión de esta manera, con los tornillos de centrado del condensador.**



Fig. 24

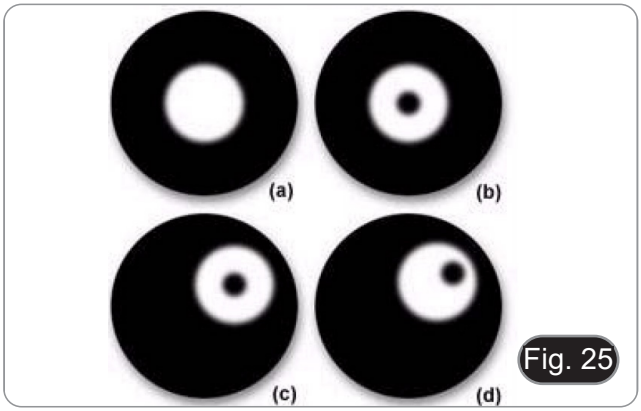
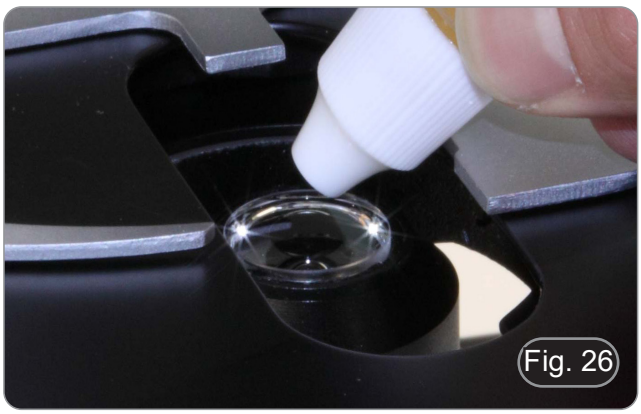


Fig. 25

4. Retire el portaobjetos y coloque una gota de aceite (suministrado) en la lente frontal del condensador. (Fig. 26)

- **Asegúrese de que no haya burbujas de aire. Las burbujas de aire en el aceite dañan la calidad de la imagen.**

5. Vuelva a colocar la muestra y levante el condensador hasta que el aceite de la lente del condensador esté en contacto con la muestra.
6. Mueva el área a observar en el centro de la trayectoria óptica utilizando un objetivo de bajo aumento (10x o 40x).
7. Enfoque la muestra.


Fig. 26

8. Insertar en el haz de luz el objetivo 100X de aceite/Iris. De este modo, se preajustan todos los componentes del sistema para preparar la adición de aceite. Mover el objetivo de inmersión a una posición adyacente de la boquilla y aplicar el aceite a la muestra. (Fig. 27)



Fig. 27

9. En realidad, la situación debe ser que la diapositiva esté completamente sumergida en aceite tanto en la parte inferior (interfaz condensador-vidrio) ①, como en la parte superior (interfaz vidrio-lente) ②. (Fig. 28)

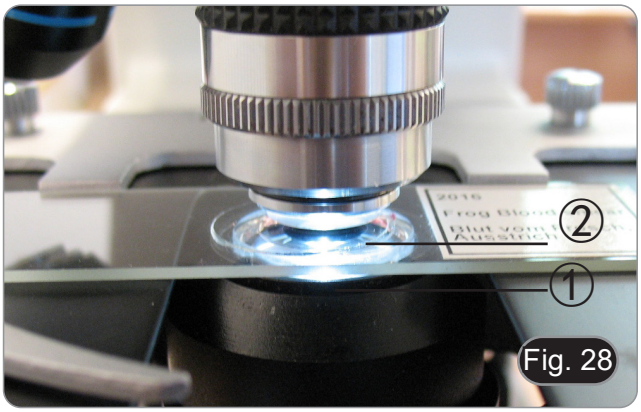
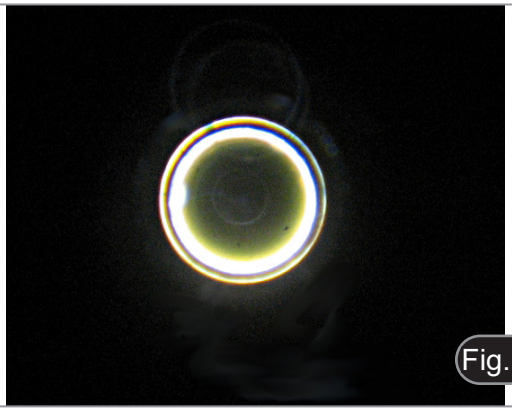


Fig. 28

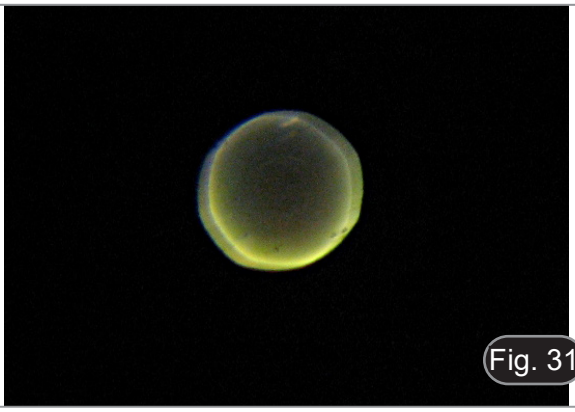
10. Retire un ocular e inserte el telescopio de centrado en la vaina vacía del ocular. (Fig. 29)


Fig. 29

11. Girando la parte superior del telescopio de centrado se enfoca la imagen del anillo de luz visible en la periferia del campo de visión. (Fig. 30)


Fig. 30

- **Si el condensador no está perfectamente centrado o si el condensador no está a la altura exacta (demasiado alto o demasiado bajo), la imagen proyectada será similar a la de la Fig. 31.**


Fig. 31

12. Ajuste con precisión el centrado del condensador con el botón de ajuste de altura del condensador, en los tornillos de centrado del condensador ① y LED ②. (Fig. 32)

13. Después de ajustar correctamente el condensador, retire el telescopio de centrado e inserte de nuevo el ocular. Ahora comienza la observación.



Fig. 32

14. El objetivo 100x tiene en el diafragma interno del iris que permite el ajuste de la apertura numérica. Gire el diafragma para cerrar el iris. (Fig. 33)

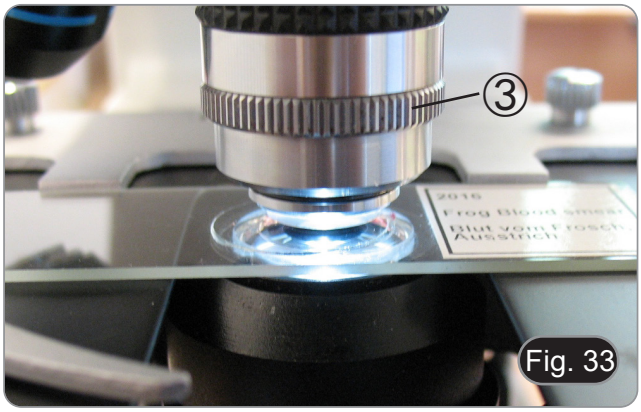
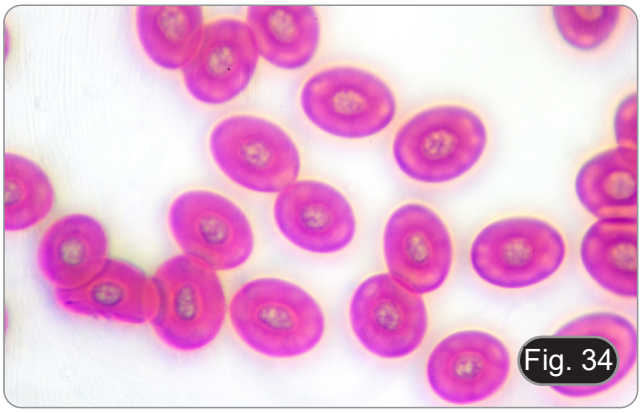
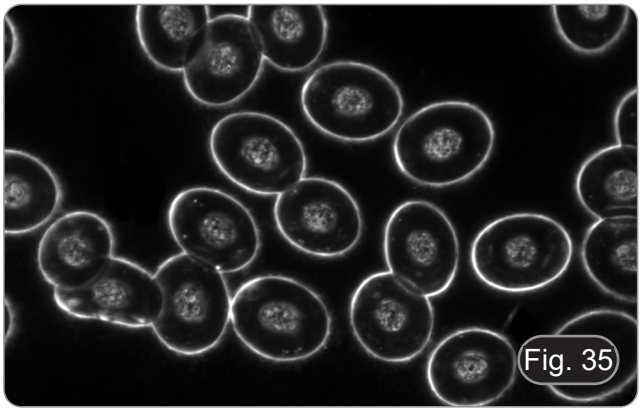


Fig. 33

15. El efecto que se obtiene al cambiar de un iris completamente abierto (observación de campo claro) a un iris completamente cerrado (observación de campo oscuro) se muestra en las Fig. 34 y 35.


Fig. 34


Fig. 35

13. Microfotografía

13.1 Uso de cámaras de paso “C”

1. Aflojar el tornillo ① del tubo trinocular y quitar la tapa negra ②. (Fig. 36)

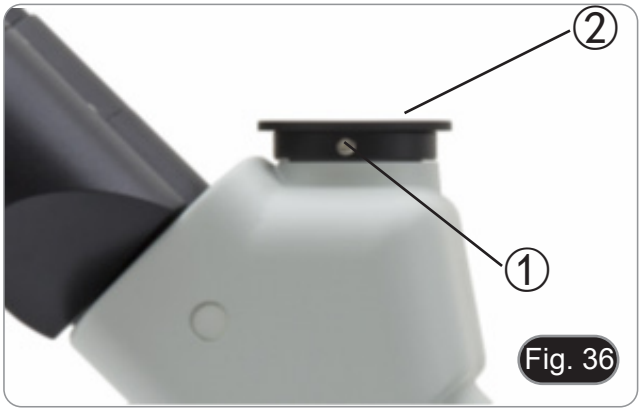


Fig. 36

2. Colocar el adaptador paso C a la cámara ④ e insertar el conjunto sobre el puerto trinocular, luego sujetarlo con el tornillo para que no se caiga ①. (Fig. 37)



Fig. 37

13.2 Uso de cámara Reflex

1. Insertar el adaptador de la cámara Reflex ① al tubo del microscopio ②.
2. Atornillar el aro “T2” ③ (no lo suministrada) al cuerpo de la cámara Reflex.
3. Conectar la cámara al aro “T2” ④ (Fig. 38).

- El aro “T2” no se suministra con el microscopio pero se encuentra fácilmente en una tienda de fotografía.

4. Montar el extremo del tubo de conexión ② en el orificio vacío del tubo triocular y apretar el tornillo de apriete. (Fig. 36)

- Mientras toma muestras oscuras, tapar los oculares y el visor con un paño oscuro para minimizar la luz difusa.
- Para calcular la ampliación de la cámara: aumento objetivo * aumento de la cámara * aumento de la lente.
- **Si usa una cámara SLR, el movimiento al apretar el botón para tomar una foto puede hacer que la cámara vibre.**
- **Sugerimos utilizar la opción de extensión del tiempo de exposición y un cable remoto.**



Fig. 38

14. Mantenimiento

Ambiente de trabajo

Se aconseja utilizar este microscopio en un ambiente limpio y seco; también se deben evitar los impactos. La temperatura de trabajo recomendada es de 0-40°C y la humedad relativa máxima es de 85 % (en ausencia de condensación). Si es necesario, utilizar un deshumidificador.

Consejos antes y después de la utilización del microscopio



- Durante los desplazamientos, mantener el microscopio en posición vertical y prestar mucha atención para evitar que se caigan los accesorios móviles, por ejemplo, los oculares.
- Manejar con cuidado el microscopio evitando usar una fuerza mayor de la necesaria.
- Evitar reparar el microscopio por su cuenta.
- Apagar la luz inmediatamente después de haber utilizado el microscopio, cubrirlo con su correspondiente funda antipolvo y mantenerlo en un ambiente limpio y seco.

Precauciones de seguridad relativas al sistema eléctrico



- Antes de conectar el microscopio a la toma de corriente, asegurarse que la tensión de entrada del lugar donde se usa coincide con la tensión de utilización del microscopio y que el interruptor del iluminador esté en la posición off.
- El usuario debe consultar las normas de seguridad de su país.
- El instrumento está dotado de una etiqueta de seguridad CE. No obstante estas pautas, el usuario debería utilizar el microscopio en función de sus necesidades pero con un mínimo de responsabilidad y seguridad.

Limpieza de la ópticas

- Si es necesario limpiar los componentes ópticos utilizar, en primer lugar, aire comprimido.
- Si no es suficiente, limpiar las ópticas con un paño, que no esté deshilachado, humedecido en agua y detergente neutro.
- Si todavía no es suficiente, humedecer un paño con una mezcla de 3 partes de etanol y 7 partes de éter.
- **Importante: el etanol y el éter son líquidos altamente inflamables. No se deben utilizar cercanos a una fuente de calor, chispas o instrumentación eléctrica. Utilizar en un ambiente bien aireado.**
- No frotar la superficie de ningún componente óptico con la manos. Las huellas digitales pueden dañar las ópticas.
- No desmontar los objetivos o los oculares para intentar limpiarlos.

Para obtener mejores resultados, utilice el kit de limpieza OPTIKA (véase el catálogo).

Si fuera necesario, enviar el microscopio a la empresa Optika para su mantenimiento se ruega utilizar el embalaje original.

15. Guía de solución de problemas

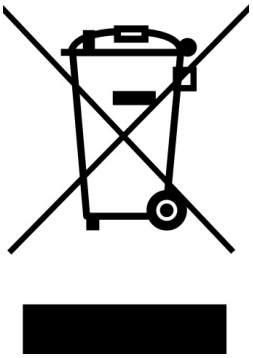
Revisar la información en la tabla a continuación para solucionar problemas de funcionamiento.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIÓN
I. Sección Óptica:		
El iluminador está encendido, pero el campo visible está oscuro.	El enchufe no está conectado al sistema de iluminación	Conectar
	La luminosidad es demasiado baja	Regular la luminosidad
El borde del campo visible se ha difuminado o la luminosidad es asimétrica	El revólver portaobjetivos no está en la posición correcta	Girar el revólver hasta que no se bloquee con un click
	El aceite no está presente o no es suficiente en la lente frontal del condensador y en el portaobjetos	Comprobar la presencia correcta de aceite
En el campo visible se ve polvo y manchas	Hay polvo y/o manchas en la preparación	Limpiar el preparado
	Hay polvo y/o manchas en el ocular	Limpiar el ocular
La imagen (usando el microscopio en campo claro) aparece doble	El diafragma de apertura está demasiado cerrado	Abrir el diafragma de apertura
	El condensador no está centrado correctamente o no está en una altura correcta	Posicionar el condensador según las indicaciones para condensadores Koehler
La calidad de las imágenes es insuficiente: • La imagen no es nítida; • No hay un buen contraste; • Los detalles no son nítidos	El revólver no se sitúa en el centro del recorrido luminoso	Girar el revólver hasta que no se bloquee con un click
	El diafragma de apertura en el campo de visión (cuando se trabaja en un campo claro) está demasiado abierto o demasiado cerrado	Regular el diafragma de apertura
	Las lentes (condensador, objetivo, ocular y planchas de cultivo) están sucias	Limpiar con cuidado todos los componentes ópticos
	Para las observaciones a la luz transmitida, el grosor del cubreobjetos no debe ser superior a 0.17 mm	Utilice un cubreobjetos con un grosor de 0.17 mm
	El enfoque no es homogéneo	La muestra no está nivelada. Mueva la muestra hasta que encuentre la posición ideal.
	Se está utilizando una muestra que no es adecuada para la observación en campo oscuro	Utilizar una muestra adecuada
Un lado de la imagen no está enfocado	El revólver no está en el centro del recorrido luminoso	Girar el revólver hasta que no se bloquee con un click
	El preparado no está en la posición correcta (ej. inclinado)	Situar el preparado horizontal al plano
	La calidad óptica del cristal portapreparados es baja	Utilizar un preparado de mayor calidad
II. Sección mecánica:		
El mando macrométrico gira con dificultad	El anillo de regulación de la tensión está demasiado cerrado	Aflojar el anillo de regulación de la tensión
El enfoque es inestable	El anillo de regulación de la tensión está demasiado flojo	Apretar el anillo de regulación de la tensión

III. Sección eléctrica:		
El LED no se enciende	El instrumento no tiene alimentación	Verificar la conexión del cable de alimentación
La luminosidad es insuficiente	La luminosidad posee una baja regulación	Ajuste la luminosidad
La luz parpadea	El cable de alimentación no está conectado correctamente	Verificar la conexión del cable
IV. Montaje de los oculares:		
El campo visible es diverso en cada ojo	La distancia interpupilar no es correcta	Regular la distancia interpupilar
	La compensación dioptrica no es correcta	Regular la compensación dioptrica
	La técnica de observación no es correcta y el usuario está forzando la vista.	Cuando se mira en el objetivo, no fijar el preparado pero mirar todo el campo visible. A intervalos regulares alejar los ojos del objetivo y mirar desde lejos para relajar la vista
V. Microfotografía y adquisición de videos		
El borde de la imagen no está enfocado	En un cierto grado esto es innato a la naturaleza de los objetivos acromáticos	Para reducir el problema al mínimo, regular el diafragma de apertura en la posición correcta
En la imagen aparecen manchas claras	En el microscopio entra luz difusa a través de los oculares o a través de la mira de la cámara fotográfica/telecámara	Cubrir los oculares y la mira con un paño oscuro

Medidas ecológicas y reciclaje

De conformidad con el artículo 13 del Decreto Legislativo Nº 151, de 25 de julio de 2005. “Aplicación de las Directivas 2002/95/CE, 2002/96/CE y 2003/108/CE sobre la reducción del uso de sustancias peligrosas en aparatos eléctricos y electrónicos y la eliminación de residuos.





El símbolo del envase en el aparato o en su embalaje indica que el producto debe ser recogido separadamente de otros residuos al final de su vida útil. La recogida selectiva de estos equipos al final de su vida útil es organizada y gestionada por el fabricante. Por lo tanto, el usuario que desee deshacerse de este equipo debe ponerse en contacto con el fabricante y seguir el sistema que ha adoptado para permitir la recogida selectiva del equipo al final de su vida útil. La recogida selectiva adecuada para el posterior reciclado, tratamiento y eliminación de los equipos desechados de forma compatible con el medio ambiente contribuye a evitar posibles efectos negativos sobre el medio ambiente y la salud y promueve la reutilización y/o el reciclado de los materiales que componen el equipo. La eliminación ilegal del producto por parte del propietario conlleva la aplicación de las sanciones administrativas previstas en la legislación vigente.

OPTIKA® S.r.l.
Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALY Tel.: +39 035.571.392
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

OPTIKA® Spain
spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA
usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China
china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® India
india@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Central America
camerica@optikamicroscopes.com

OPTIKA®
ITALY

Serie B-510

MANUEL D'UTILISATION

Modèle
B-510DK

Ver. 2.5 2023

Sommaire

1. Avertissement 84
2. Précautions 84
3. Contenu de l'emballage 85
4. Déballage 86
5. Emploi prévu 86
6. Symboles 86
7. Description de l'instrument 87
9. Procédures d'observation en fond clair 91
10. Procédures d'observation en fond noir 92
11. Utilisation du microscope 93
 11.1 Réglage de l'intensité lumineuse 93
 11.2 Réglage de la friction 93
 11.3 Levier de blocage de la mise au point 93
 11.4 Platine 93
 11.5 Compensation dioptrique 94
 11.6 Réglage de la distance interpupillaire 94
 11.7 Utilisation des Œillères en caoutchouc 94
 11.8 Réglage du condenseur fond clair 95
 11.9 Effets du diaphragme de champ 95
 11.10 Diaphragme de ouverture 95
12. Microscopie en fond noir 96
 12.1 Principes de la microscopie à immersion dans l'huile 96
 12.2 Principes de l'éclairage en fond noir 98
 12.3 Microscopie à fond noir à fort grossissement 99
 12.4 Centrage du condenseur à fond noir 100
13. Microphotographie 103
 13.1 Utilisation des caméras avec monture "C" 103
 13.2 Utilisation des caméras Reflex 103
14. Réparation et entretien 104
15. Guide résolution des problèmes 105
Ramassage 107

1. Avertissement

Le présent microscope est un appareil scientifique de précision créé pour offrir une durée de vie de plusieurs années avec un niveau d'entretien minimum. Les meilleurs composants optiques et mécaniques ont été utilisés pour sa conception ce qui fond de lui un appareil idéal pour une utilisation journalière.
Ce guide contient des informations importantes sur la sécurité et l'entretien du produit et par conséquent il doit être accessible à tous ceux qui utilisent cet instrument.
Nous déclinons toute responsabilité quant à des utilisations de l'instrument non conformes au présent manuel.

2. Précautions



Éviter choc électrique

Avant de connecter le câble d'alimentation au réseau électrique assurez vous que la tension d'entrée soit compatible avec celle de l'appareil et que l'interrupteur de l'éclairage soit en position arrêt. L'utilisateur devra consulter les normes de sécurités de son pays. L'appareil inclût une étiquette de sécurité C.E. Dans tous les cas, l'utilisateur assume toute responsabilité relative à l'utilisation sûre de l'appareil. Suivre les directives ci-dessous et lire ce manuel dans son intégralité pour un fonctionnement sûr de l'instrument.

3. Contenu de l’emballage



① Statif du microscope
② Oculaires
③ Objectifs
④ Tête d’oservation
⑤ Huile d’immersion
⑥ Clé Allen
⑦ Clé réglage friction
⑧ Housse de protection
⑨ Câble d’alimentation
⑩ Condensateur pour fond clair
⑪ Condensateur pour fond noir
⑫ Télescope de centrage

4. Déballage

Le microscope est logé dans un récipient moulé en polystyrène. Retirez le ruban adhésif du bord du conteneur et soulevez la moitié supérieure du conteneur. Faites attention à ce que les éléments optiques (objectifs et oculaires) ne tombent pas et ne soient pas endommagés. En utilisant les deux mains (une autour du bras et une autour de la base), soulever le microscope du conteneur et le poser sur un bureau stable.



Ne pas toucher à mains nues les surfaces optiques telles que les lentilles, les filtres ou les lunettes. Des traces de graisse ou d'autres résidus peuvent détériorer la qualité finale de l'image et corroder la surface optique en peu de temps.

5. Emploi prévu

Modèles standard

Réservé à la recherche et à l'enseignement. Ne pas utiliser à des fins thérapeutiques ou diagnostiques, animales ou humaines.

Modèles de DIV

Également à usage diagnostique, visant à obtenir des informations sur la situation physiologique ou pathologique du sujet.

6. Symboles

Le tableau suivant est un glossaire illustré des symboles qui sont utilisés dans ce manuel.



ATTENTION

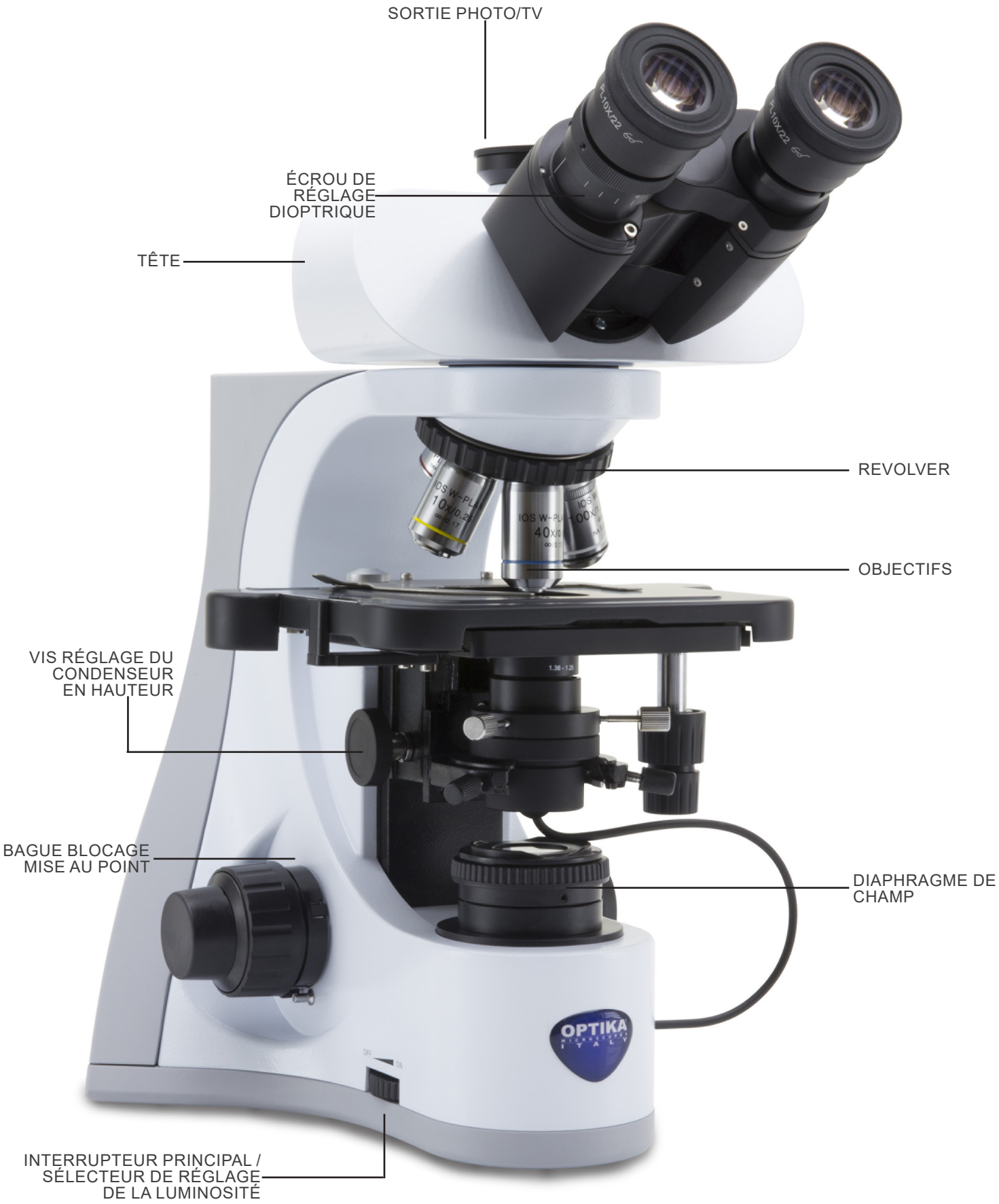
Ce symbole indique un risque potentiel et vous avertit de procéder avec prudence



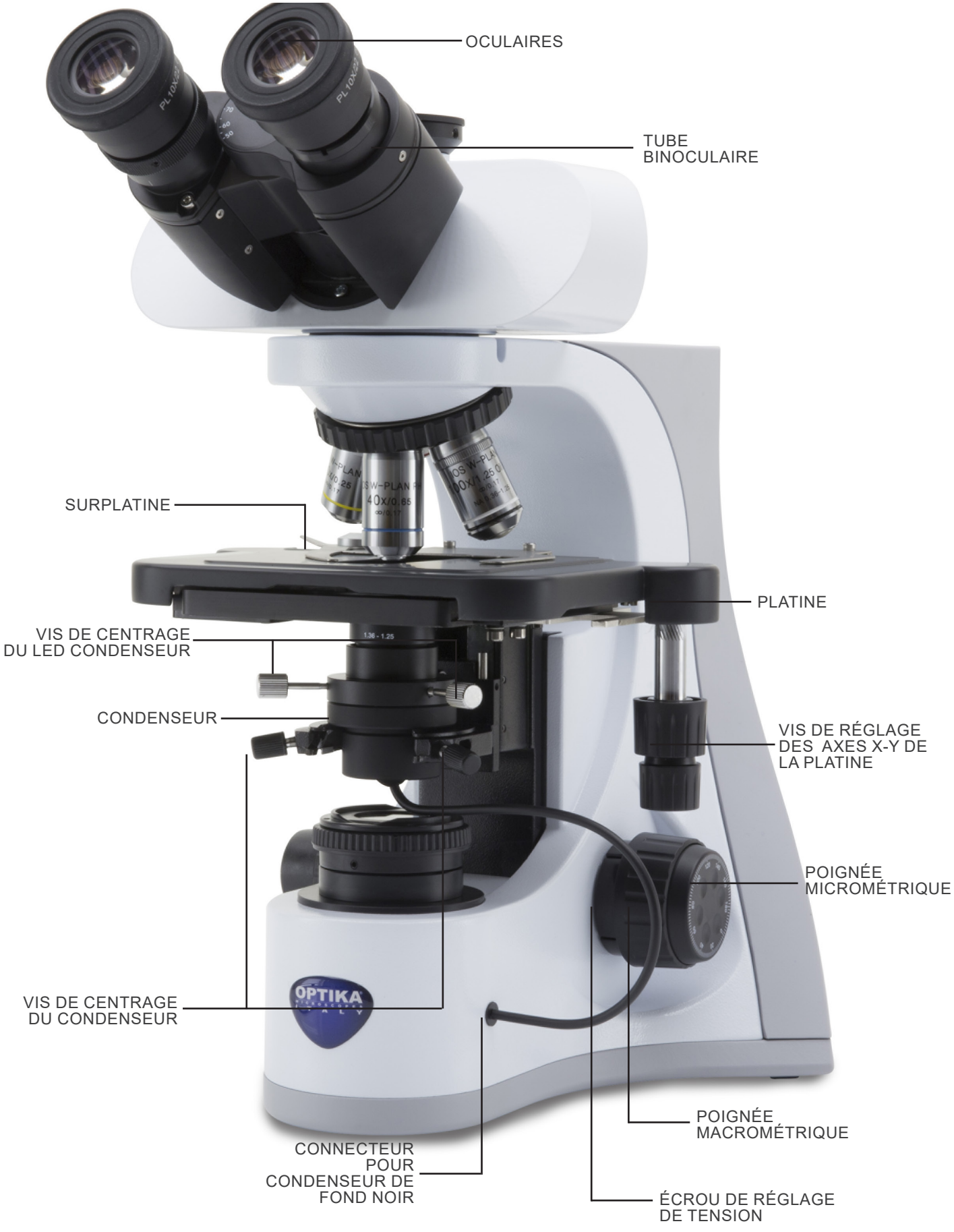
CHOC ÉLECTRIQUE

Ce symbole indique un risque de choc électrique.

7. Description de l'instrument



Côté opposé


OCULAIRES
TUBE BINOCULAIRE
SURPLATINE
PLATINE
VIS DE CENTRAGE DU LED CONDENSEUR
CONDENSEUR
VIS DE RÉGLAGE DES AXES X-Y DE LA PLATINE
POIGNÉE MICROMÉTRIQUE
VIS DE CENTRAGE DU CONDENSEUR
POIGNÉE MACROMÉTRIQUE
CONNECTEUR POUR CONDENSEUR DE FOND NOIR
ÉCROU DE RÉGLAGE DE TENSION

8. Assemblage

1. Insérer le support rond en queue d'aronde de la tête dans le support rond en queue d'aronde du statif et le fixer avec la vis de fixation en utilisant la clé Allen. (Fig. 1)

- **Tenir toujours la tête avec une main lorsque vous serrez la vis pour l'empêcher de tomber**.


Fig. 1

2. Insérer les oculaires dans les tubes porte oculaires de la tête optique. (Fig. 2)


Fig. 2

3. Tout en tournant la tourelle dans le sens horaire, fixer les objectifs en les vissant dans les logements de la tourelle en commençant par le grossissement le plus faible pour finir par le grossissement le plus élevé. (Fig. 3)


Fig. 3

4. Insérer la fiche d'alimentation dans le connecteur du panneau arrière du microscope. (Fig. 4)


Fig. 4

- **Le microscope est livré avec deux condenseurs: un pour fond clair et un pour fond noir. Sélectionner le condenseur approprié pour le mode d'observation désiré.**

5. Abaissez le support du condenseur à l'aide du bouton de réglage de la hauteur du condenseur ①. (Fig. 5)



6. Insérer la queue d'aronde ronde du condenseur dans le porte-condenseur. (Fig. 6)



7. Serrer la vis de blocage du condenseur ②. (Fig. 7)

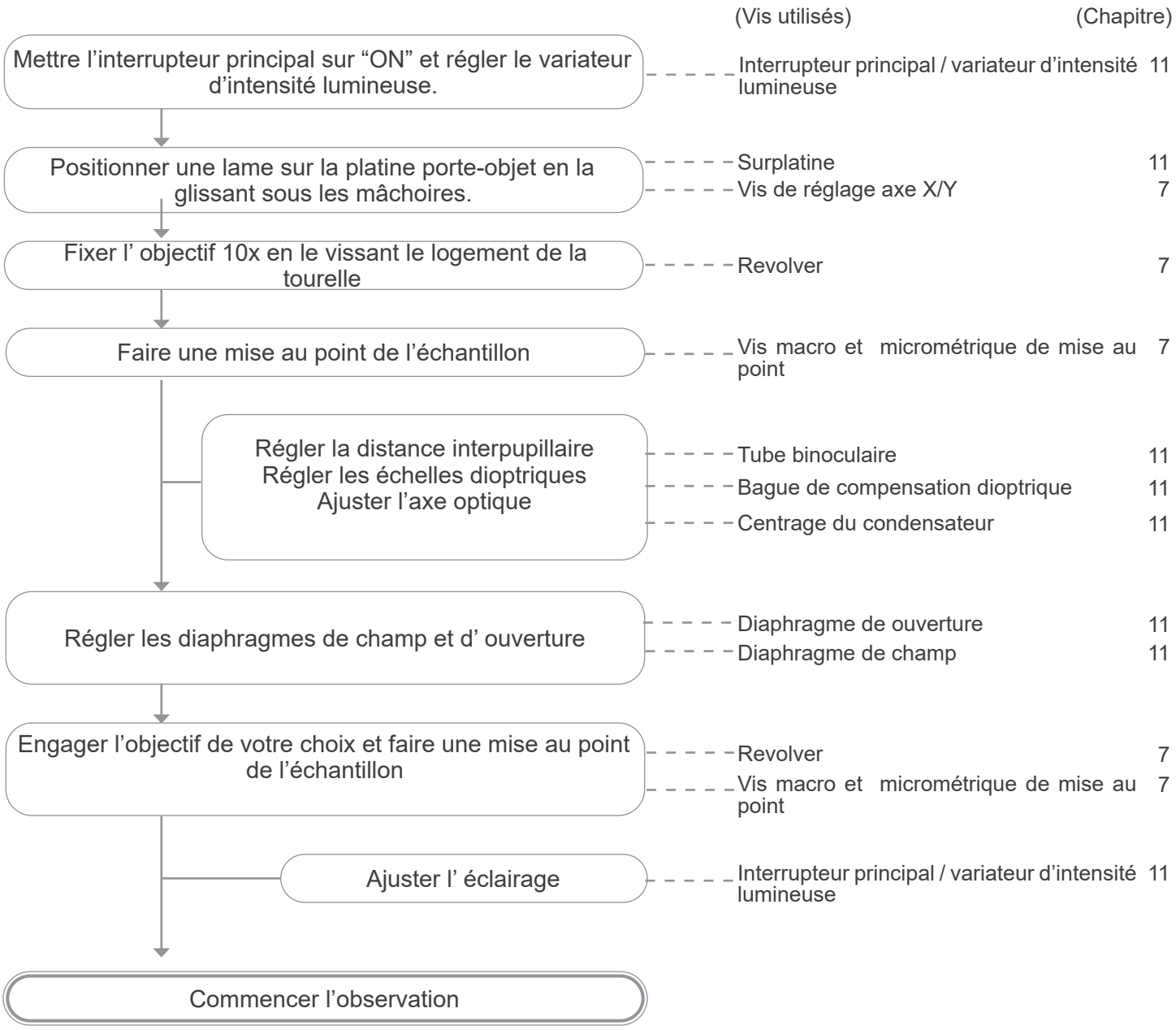


8. (Uniquement pour condenseur fond noir)
Connectez le connecteur du condenseur au connecteur situé sur le côté droit du statif. (Fig. 8)

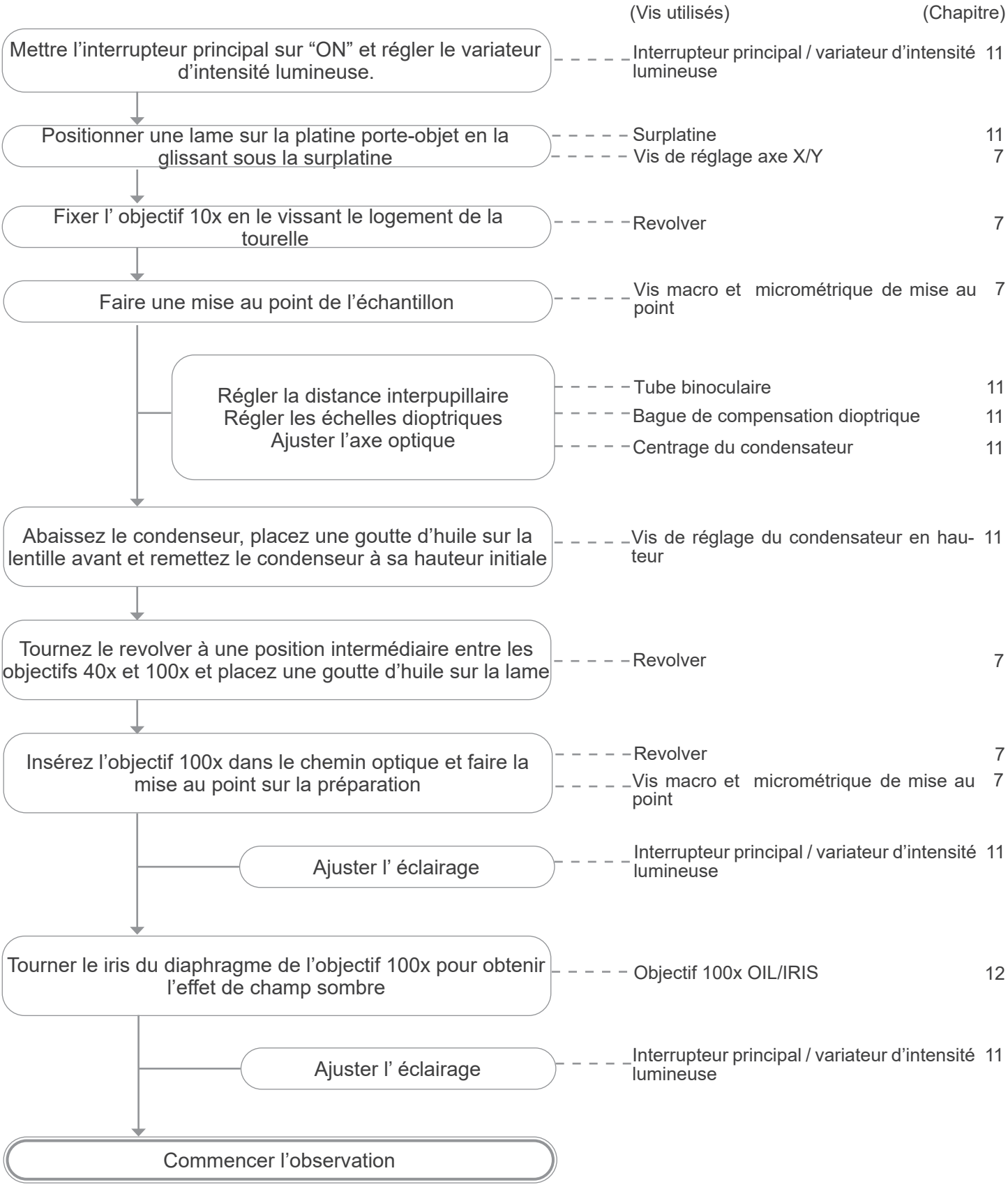
- **Lorsque la fiche du condenseur est branchée, la lumière provenant de la LED du microscope s'éteint et la LED interne du condenseur s'allume.**



9. Procédures d’observation en fond clair



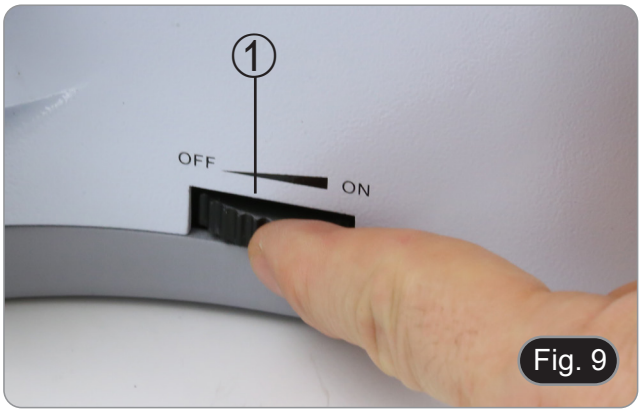
10. Procédures d'observation en fond noir



11. Utilisation du microscope

11.1 Réglage de l'intensité lumineuse

Tourner la molette de réglage de l'intensité lumineuse pour allumer et éteindre l'instrument, et pour augmenter ou diminuer la tension de l'illumination ①. (Fig. 9)



11.2 Réglage de la friction

- **Réglage de la friction de la vis à l'aide de la bague.**

La tension du bouton grossier est préréglée en usine.

1. Pour l'ajuster, il faut utiliser la clé fournie ② et faire tourner la bague de réglage de friction. (Fig. 10)

- Pour augmenter la friction, tourner la bague dans le sens de la rotation horaire.
- Si la platine s'abaisse sous l'effet de son propre poids ou si la mise au point obtenue avec la vis de mise au point micrométrique se perd rapidement, la friction est trop basse. Dans ce cas, tourner la bague de réglage de friction dans le sens de la rotation horaire pour augmenter la friction.



11.3 Levier de blocage de la mise au point

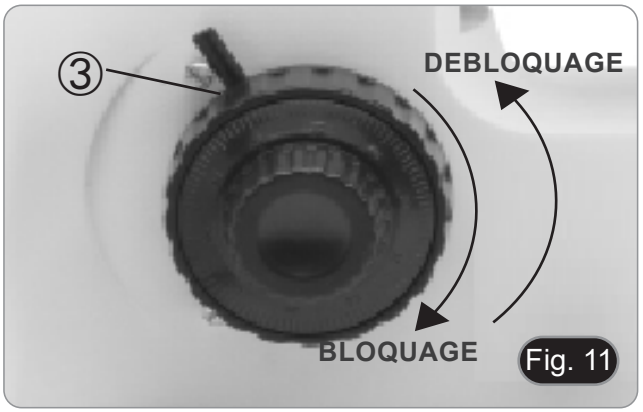
Le levier de blocage a une double fonction: empêcher le contact entre l'objectif et l'échantillon et de mémoire pour la mise au point.

1. Une fois la mise au point faite, tirer vers l'avant du microscope le levier ③ et le bloquer dans cette position. (Fig. 11)

- De cette façon, la limite supérieure de la mise au point est fixée.

2. A ce stade, vous pouvez abaisser la platine avec la vis de réglage macrométrique, remplacer l'échantillon, puis élever la platine jusqu'au point supérieur: l'échantillon sera approximativement focalisé et vous n'aurez qu'à faire une mise au point micrométrique pour obtenir la meilleure mise au point.

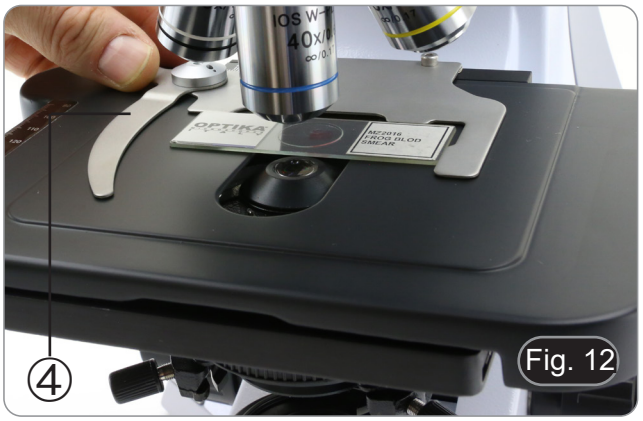
- **Le mouvement micrométrique n'est pas influencé par le blocage de la mise au point.**
- **Pour débloquer, déplacer le levier dans la direction opposée à celle utilisée pour le blocage.**



11.4 Platine

La platine accepte des lames standard de 26x76 mm, épaisseur 1.2 mm avec verre de protection 0.17 mm.
Deux lames peuvent être placées côte à côte sur la table. (Fig. 12)

- **Agrandir les mâchoires ④ et placer les lames frontalement sur la platine.**
- **Relâcher doucement la surplatine pour éviter la chute des lames.**
- **Le relâchement brusque de la surplatine peut entraîner la chute de l'une ou des deux lames.**



11.5 Compensation dioptrique

1. Regarder uniquement avec l'œil droit à travers l'oculaire droit et faire la mise au point avec les vis de mise au point macrométrique et micrométrique du microscope jusqu'à ce que l'image de l'échantillon soit la plus nette possible.
2. A présent regarder uniquement avec l'œil gauche à travers l'oculaire gauche et ajuster la mise au point, à l'aide de la bague de mise au point dioptrique, jusqu'à ce que l'image soit la plus nette possible ①. (Fig. 13)

- **La plage de compensation est de ± 5 dioptrie. Le nombre indiqué sur l'échelle de l'anneau de compensation devrait correspondre à la correction dioptrique de l'opérateur.**



Fig. 13

11.6 Réglage de la distance interpupillaire

En observant avec les deux yeux, soutenez le groupe d'oculaires. Faites-les pivoter le long de l'axe commun jusqu'à ce que vous obteniez un seul champ de vision.

- **Le point de repère "." ② indique sur l'échelle la distance interpupillaire de l'utilisateur. (Fig. 14)**

La distance interpupillaire varie entre 48-75 mm.

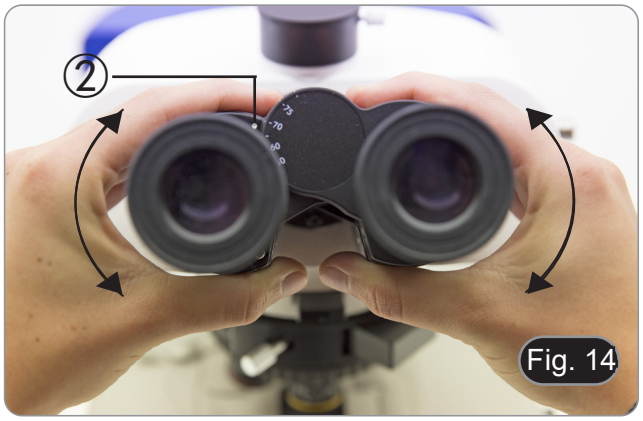


Fig. 14

11.7 Utilisation des Œillères en caoutchouc

- **Pour un utilisateur portant des lunettes**

Utiliser les œillères dans leur position normale repliée. Cela évitera de rayer les lunettes. (Fig. 15)


Fig. 15

- **Pour un utilisateur ne portant pas de lunette**

Déployer les œillères repliables qui constituent un écran qui empêchera toute lumière extérieure de passer entre les oculaires et les yeux. (Fig. 16)


Fig. 16

11.8 Réglage du condenseur fond clair

1. Placer l'échantillon sur la platine, engager l'objectif 10x et faire la mise au point.
2. Insérer dans le parcours optique la lentille du condenseur escamotable ①. (Fig. 17)
3. Fermer complètement le diaphragme de champ en tournant sa bague de réglage ② dans le sens contraire des aiguilles d'une montre.
4. Régler le condenseur en hauteur ③ jusqu'à ce que vous voyez apparaître une image nette du diaphragme de champ dans le champ visuel.
5. Utiliser les vis de centrage ④ du support de condenseur, pour amener l'image du diaphragme de champ au milieu du champ visuel.
6. Ouvrer progressivement le diaphragme de champ. Il est centré lorsque l'image du diaphragme est symétrique par rapport au champ visuel. Si nécessaire, re centrer légèrement avec les vis centrage du support du condenseur.
7. Ouvrer le diaphragme de champ jusqu'à ce qu'il disparaisse du champ visuel et que l'image circonscrit le champ visuel.

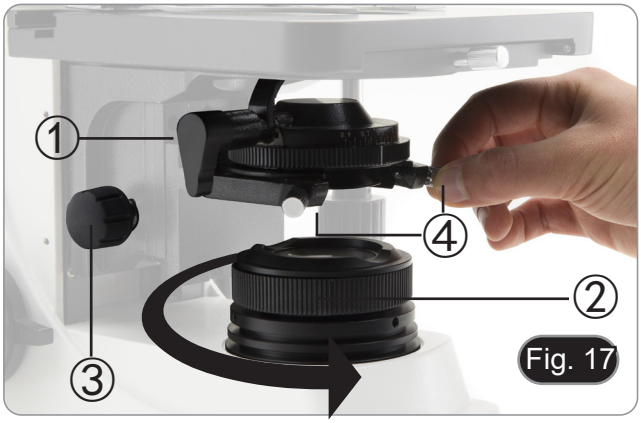
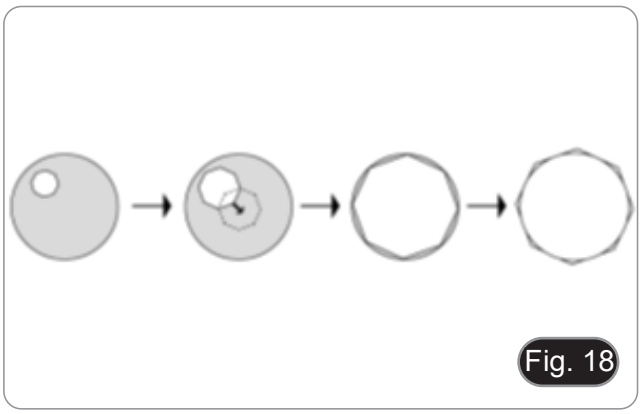


Fig. 17

11.9 Effets du diaphragme de champ

Le diaphragme de champ définit les dimensions du faisceau et limite la partie de l'objet qui sera imagée avec un contraste élevé et une bonne résolution. Adapter le diaphragme de champ en fonction de l'objectif utilisé jusqu'à ce que le diaphragme de l'iris circonscrit le champ de visuel pour éliminer la lumière inutile des oculaires.(Fig. 18)


Fig. 18

11.10 Diaphragme de ouverture

La valeur de l'ouverture numérique (N.A.) du diaphragme d'ouverture affecte le contraste de l'image. En augmentant ou en réduisant cette valeur, on peut faire varier la résolution, le contraste et la profondeur de champ de l'image.

Pour les échantillons à faible contraste, réglez la valeur de l'ouverture numérique ⑤ (imprimée sur l'anneau du condenseur) à environ 70 à 80 % de la valeur de l'azote de l'objectif (Fig. 19). Si nécessaire, retirer l'oculaire et, en regardant dans le manchon vide, ajuster la bague du condenseur afin d'obtenir une image comme celle de la fig. 20.

Ex: Avec l'objectif PLAN 40x / 0.65 régler l'échelle à 0.65 x 0.8 = 0.52



Fig. 19

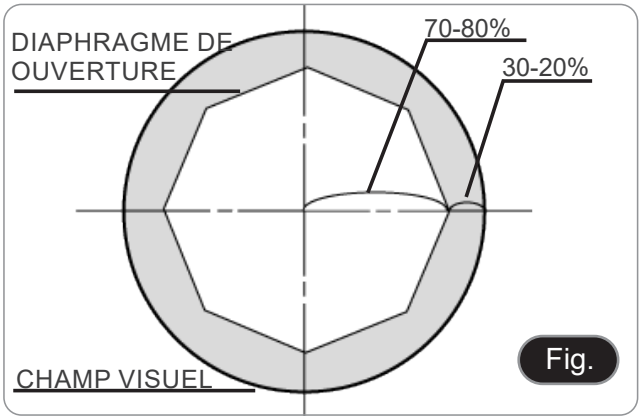


Fig.

12. Microscopie en fond noir

Le B-510DK est un système à fond noir spécifique pour l'analyse sanguine avec un condenseur spécial à fond noir de 1,36 à 1,25 N.A. et un objectif plan-achromatique 100X à diaphragme iris réglable.

L'éclairage X-LED assure le haut niveau d'intensité lumineuse généralement nécessaire dans les techniques de fond noir à fort grossissement.

Pour utiliser correctement ce microscope, il faut se familiariser avec:
a. technique d'immersion dans l'huile
b. la technique du fond noir.

Dans le manuel suivant, nous présentons les bases de ces méthodes (chapitres 12.1 et 12.2), puis nous donnons un guide étape par étape de la configuration du B-510DK (chapitre 12.4).

Des conseils généraux pour la microscopie par immersion sont également donnés.

12.1 Principes de la microscopie à immersion dans l'huile

La capacité d'un objectif de microscope à capturer les rayons lumineux déviés d'un échantillon dépend à la fois de l'ouverture numérique et du milieu dans lequel la lumière voyage.

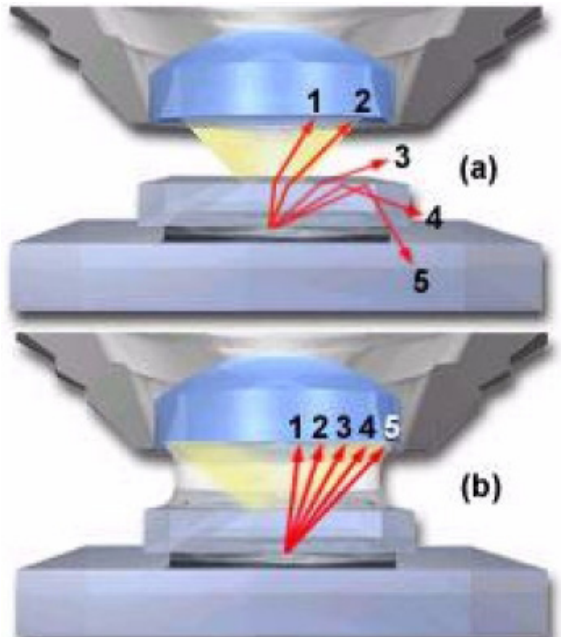
L'ouverture numérique d'un objectif est directement proportionnelle à l'indice de réfraction du milieu d'imagerie entre la lamelle de protection et la lentille frontale, ainsi qu'au péché de la moitié de l'ouverture angulaire de l'objectif.

Comme le péché ne peut être supérieur à 90 degrés, l'ouverture numérique maximale possible est déterminée par l'indice de réfraction du milieu d'immersion.

La plu part des objectifs de microscope utilisent l'air comme milieu à travers lequel les rayons lumineux doivent passer entre la lamelle protégeant l'échantillon et la lentille avant de l'objectif. Les objectifs de ce type sont appelés objectifs secs parce qu'ils sont utilisés sans milieu d'imagerie liquide.

L'air a un indice de réfraction de 1.0003, très proche de celui du vide et considérablement inférieur à celui de la plu part des liquides, y compris l'eau (n = 1.33), la glycérine (n = 1.470) et les huiles à immersion courantes pour microscope (moyenne n = 1.515).

En pratique, l'ouverture numérique maximale d'un système d'objectif sec est limitée à 0.95, et des valeurs supérieures ne peuvent être obtenues qu'en utilisant des optiques conçues pour des milieux d'immersion.



Immersion dans l'huile et Ouverture Numérique

Fig. 21

Le principe de l'immersion dans l'huile est démontré à la Fig. 21, où des rayons lumineux individuels sont tracés à travers l'échantillon et passent dans l'objectif ou sont réfractés dans d'autres directions. La Fig. 21(a) illustre le cas d'un objectif sec avec cinq rayons (étiquetés de 1 à 5) passant à travers un échantillon recouvert d'une lamelle. Ces rayons sont réfractés à l'interface coverslip-air et seuls les deux rayons les plus proches de l'axe optique (rayons 1 et 2) du microscope ont l'angle approprié pour pénétrer dans la lentille frontale de l'objectif. Le troisième rayon est réfracté à un angle d'environ 30 degrés par rapport à la lamelle et n'entre pas dans l'objectif. Les deux derniers rayons (4 et 5) sont réfléchis à l'intérieur de la lamelle et, avec le troisième rayon, contribuent à la réflexion interne de la lumière sur les surfaces vitrées qui ont tendance à dégrader la résolution des images. Lorsque l'air est remplacé par de l'huile ayant le même indice de réfraction que le verre, comme le montre la Fig. 21(b), les rayons lumineux passent maintenant directement à travers l'interface verre-huile sans déviation due à la réfraction. L'ouverture numérique est ainsi augmentée du facteur n, l'indice de réfraction de l'huile.

Les objectifs de microscope conçus pour être utilisés avec de l'huile d'immersion présentent un certain nombre d'avantages par rapport à ceux qui sont utilisés à sec. Les objectifs d'immersion sont généralement de plus grande correction (fluorite ou apochromatique) et peuvent avoir des ouvertures numériques de travail jusqu'à 1.40 lorsqu'ils sont utilisés avec une huile d'immersion ayant la dispersion et la viscosité appropriées. Ces objectifs permettent d'ouvrir davantage le diaphragme du condenseur de sous-étage, ce qui permet d'étendre l'éclairage de l'échantillon et de profiter de l'ouverture numérique accrue.

Un facteur souvent négligé lors de l'utilisation d'objectifs d'immersion d'huile à ouverture numérique accrue est la limitation du système par le condenseur de sous-étage.

Dans une situation où un objectif d'huile de NA = 1.40 est utilisé pour obtenir une image d'un échantillon avec un condenseur de sous-étage à plus petite ouverture numérique (1,0 par exemple), l'ouverture numérique inférieure du condenseur l'emporte sur celle de l'objectif et la NA totale du système est limitée à 1.0, l'ouverture numérique du condenseur.

Les condenseurs de sous-étage modernes ont souvent un degré de correction élevé avec des valeurs d'ouverture numériques comprises entre 1.0 et 1.40. Afin d'utiliser efficacement tous les avantages de l'immersion dans l'huile, l'interface entre la lentille avant du condenseur de sous-étage et la face inférieure de la lame du microscope contenant l'échantillon doit également être immergée dans l'huile.
Un système idéal est schématisé à la Fig. 22, où de l'huile d'immersion a été placée aux interfaces entre la lentille frontale de l'objectif et la lame d'échantillon et aussi entre la lentille frontale du condenseur et la face inférieure de la lame d'échantillon.

Ce système a été qualifié de Système d'Immersion Homogène et c'est la situation idéale pour obtenir une ouverture numérique et une résolution maximale dans un microscope optique.

Dans ce cas, l'indice de réfraction et la dispersion de la lentille frontale de l'objectif, de l'huile à immersion, de la lentille frontale du condenseur de sous-étage et du milieu de montage sont égaux ou très proches.

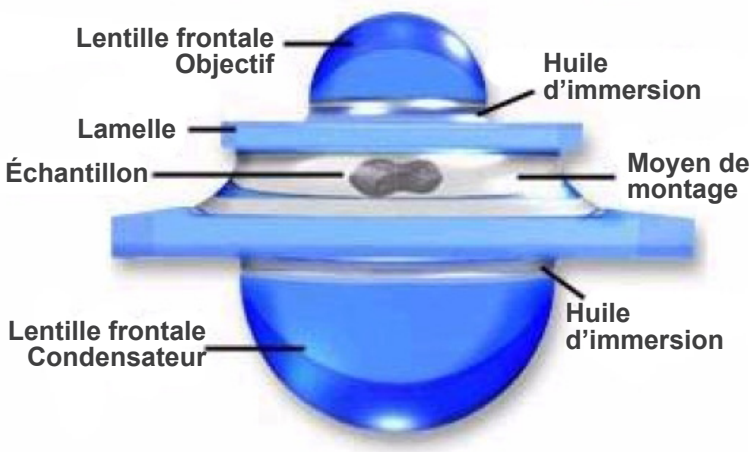
Dans ce système idéal, un rayon lumineux oblique peut passer à travers la lentille du condenseur et complètement à travers la lame du microscope, l'huile d'immersion et le milieu de montage sans être dévié par réfraction aux interfaces verre-huile ou verre moyen de montage.

Lors de l'utilisation d'objectifs d'immersion d'huile achromat de haute puissance, il est parfois permis d'omettre l'étape d'huilage de la lentille supérieure du condenseur.

En effet, le diaphragme d'ouverture du condenseur doit souvent être réduit avec des objectifs moins corrigés pour éliminer les artefacts et fournir une image optimale.

La réduction de la taille du diaphragme réduit l'augmentation potentielle de l'ouverture numérique (fournie par l'huilage de la lentille du condenseur), de sorte que la perte de qualité d'image dans ces conditions est généralement négligeable.

La microscopie fond noir est une technique d'éclairage spécialisée qui utilise l'éclairage oblique pour améliorer le contraste dans des échantillons qui ne peuvent pas être bien observés dans des conditions normales d'éclairage en fond clair.



Système d'immersion homogène

Fig. 22

Nous connaissons tous très bien l'apparence et la visibilité des étoiles par une nuit sombre, malgré leurs distances énormes par rapport à la Terre. Les étoiles peuvent être vues en raison du fort contraste entre leur faible luminosité et le ciel noir.

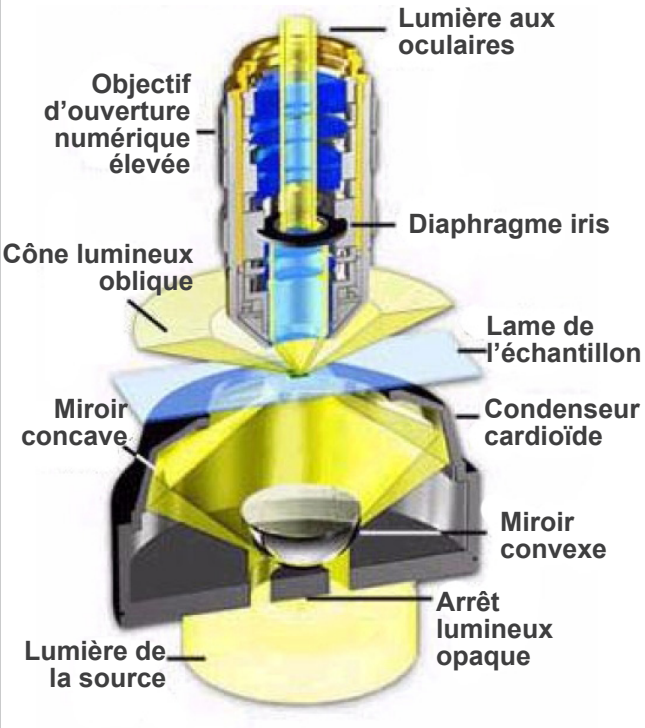
12.2 Principes de l'éclairage en fond noir

La microscopie fond noir est une technique d'éclairage spécialisée qui tire parti de l'éclairage oblique pour améliorer le contraste des spécimens qui ne sont pas bien représentés dans des conditions normales d'éclairage fond clair.

Nous connaissons tous très bien l'apparence et la visibilité des étoiles par une nuit sombre, et ce, malgré leurs énormes distances par rapport à la terre. Les étoiles peuvent être vues en raison du contraste frappant entre leur faible lumière et le ciel noir.

Ce principe est appliqué en microscopie en fond noir, une méthode simple et populaire pour rendre les objets non tachés clairement visibles. Ces objets ont souvent des indices de réfraction très proches de ceux de leur environnement et sont difficiles à photographier en microscopie à fond clair conventionnelle. Par exemple, de nombreux petits organismes aquatiques ont un indice de réfraction allant de 1.2 à 1.4, ce qui entraîne une différence optique négligeable par rapport au milieu aqueux environnant. Ce sont des candidats idéaux pour l'éclairage en fond noir.

L'éclairage en fond noir exige le blocage de la lumière centrale qui passe ordinairement à travers et autour de l'échantillon, permettant seulement aux rayons obliques de chaque azimut de "frapper" l'échantillon monté sur la lame du microscope. La lentille supérieure d'un simple condenseur à fond noir d'Abbe est sphérique concave, permettant aux rayons lumineux émergeant de la surface dans tous les azimuts de former un cône creux inversé de lumière avec un sommet centré dans le plan de l'échantillon. Si aucun échantillon n'est présent et que l'ouverture numérique du condenseur est supérieure à celle de l'objectif, les rayons obliques se croisent et tous ces rayons manqueront d'entrer dans l'objectif en raison de leur obliquité. Le champ de vision apparaît sombre.



Condenseur cardioïde pour fond noir

Fig. 23

La paire condenseur/objectif à fond noir illustrée à la Fig. 23 est un arrangement à ouverture numérique élevée qui représente la microscopie à fond noir dans sa configuration la plus sophistiquée, qui sera examinée en détail ci-dessous. L'objectif contient un diaphragme à diaphragme interne qui sert à réduire l'ouverture numérique de l'objectif à une valeur inférieure à celle du cône lumineux creux inversé émis par le condenseur. Le condenseur cardioïde est une conception à fond noir réfléchissant qui s'appuie sur des miroirs internes pour projeter un cône de lumière sans aberration sur le plan du spécimen.

Lorsqu'un échantillon est placé sur la lame, en particulier un échantillon non coloré qui n'absorbe pas la lumière, les rayons obliques traversent l'échantillon et sont diffractés, réfléchis et/ou réfractés par des discontinuités optiques (telles que la membrane cellulaire, le noyau et les organites internes) permettant à ces faibles rayons de pénétrer l'objectif. Le spécimen peut alors être vu clair sur un fond noir. En termes d'optique de Fourier, l'éclairage en fond noir élimine l'ordre zéro (lumière non diffusée) du modèle de diffraction formé dans le plan focal arrière de l'objectif. Il en résulte une image formée exclusivement à partir d'intensités de diffraction d'ordre supérieur diffusées par l'échantillon.

Les candidats idéaux pour l'éclairage en fond noir comprennent les minuscules organismes aquatiques vivants, les diatomées, les petits insectes, les os, les fibres, les cheveux, les bactéries non colorées, les levures et les protozoaires.

Les échantillons non biologiques comprennent les cristaux minéraux et chimiques, les particules colloïdales, les échantillons de poussière et les minces sections de polymères et de céramiques contenant de petites inclusions, des différences de porosité ou des gradients d'indice de réfraction.

Il faut faire attention lors de la préparation des échantillons pour la microscopie en fond noir, car les caractéristiques qui se trouvent au-dessus et au-dessous du plan de mise au point peuvent aussi disperser la lumière et contribuer à la dégradation de l'image.
L'épaisseur de l'échantillon et l'épaisseur de la lame du microscope sont également très importantes et, en général, un échantillon mince est souhaitable pour éliminer la possibilité d'artefacts de diffraction qui peuvent nuire à la formation de l'image.

12.3 Microscopie à fond noir à fort grossissement

Pour un travail plus précis et des arrière-plans plus noirs, vous pouvez choisir un condenseur conçu spécialement pour le fond noir, c'est-à-dire pour ne transmettre que des rayons obliques. Il existe plusieurs variétés: condenseurs à fond noir " sec " avec de l'air entre le dessus du condenseur et le dessous des condenseurs à fond noir à glissière et à immersion qui nécessitent l'utilisation d'une goutte d'huile d'immersion (certains sont conçus pour utiliser de l'eau) établissant le contact entre le dessus du condenseur et le dessous de la lame de l'échantillon. Le condenseur à immersion à fond noir a des surfaces internes en miroir et passe des rayons d'une grande obliquité et exempts d'aberration chromatique, produisant les meilleurs résultats et le fond le plus noir.
Le condenseur à fond noir le plus utilisé est peut-être le paraboloïde, constitué d'un morceau de verre massif rectifié avec une grande précision en forme de paraboloïde.

Comme on l'a vu plus haut, le condenseur à fond noir sec est utile pour les objectifs dont l'ouverture numérique est inférieure à 0.75, tandis que les condenseurs paraboloïdes et à immersion cardioïde (Fig. 23) peuvent être utilisés avec des objectifs à très grande ouverture numérique (jusqu'à 1.4). Les objectifs dont l'ouverture numérique est supérieure à 1.2 nécessiteront une certaine réduction de leur ouverture de travail, car leur ouverture numérique maximale peut dépasser l'ouverture numérique du condenseur, permettant ainsi à la lumière directe de pénétrer dans l'objectif.
Pour cette raison, de nombreux objectifs à ouverture numérique élevée conçus pour être utilisés avec des éclairages en fond noir ou en fond clair sont équipés d'un diaphragme à diaphragme réglable intégré qui agit comme butée d'ouverture.

Cette réduction de l'ouverture numérique limite également le pouvoir de résolution de l'objectif ainsi que l'intensité de la lumière dans l'image. Les objectifs spécialisés conçus exclusivement pour le travail en fond noir sont produits avec une ouverture numérique maximale proche de la limite inférieure de l'ouverture numérique du condenseur en fond noir. Ils n'ont pas de diaphragmes à diaphragme interne, mais les diamètres des monture d'objectif sont ajustés pour qu'au moins un objectif interne ait le diamètre optimal pour fonctionner comme diaphragme d'ouverture.

Le condenseur cardioïde est très sensible à l'alignement et doit être positionné avec soin pour tirer parti du cône d'illumination très aigu, ce qui en fait le condenseur fond noir le plus difficile à utiliser. De plus, le condenseur produit une quantité importante d'éblouissement, même à partir des particules de poussière les plus infimes, et la courte distance focale peut entraîner un mauvais éclairage sur des objets dont la taille ou l'épaisseur dépasse quelques microns. Lorsque vous choisissez des lames de microscope pour la microscopie quantitative à fond noir à fort grossissement, assurez-vous de choisir des lames faites d'un mélange de verre exempt d'impuretés fluorescentes.

Une attention particulière doit être portée aux détails du huilage d'un condenseur à ouverture numérique élevée jusqu'au fond de la lame de l'échantillon. Il est très difficile d'éviter l'introduction de minuscules bulles d'air dans la zone située entre la lentille supérieure du condenseur et le fond de la lame du microscope, et cette technique doit être pratiquée à la perfection. Les bulles d'air provoquent une éruption et une distorsion de l'image, ce qui entraîne une perte de contraste et une dégradation générale de l'image.

Des problèmes se posent également lors de l'utilisation de lames de microscope trop épaisses ou trop minces. De nombreux condenseurs à fond noir contiennent la gamme d'épaisseur de glissière utilisable inscrite directement sur le support du condenseur. Si la lame est trop épaisse, il est souvent difficile de focaliser le condenseur sans recourir à une huile d'immersion plus visqueuse. Par contre, les lames trop minces ont tendance à rompre le lien d'huile entre le condenseur et la lame. C'est une bonne idée d'acheter des lames de microscope de précision de la bonne épaisseur pour éviter les problèmes mentionnés ci-dessus.
Les condenseurs à ouverture numérique élevée, qu'ils soient destinés à être utilisés à sec ou à l'huile, doivent être centrés avec précision sur le trajet optique du microscope pour obtenir des performances optimales.

Pour ce faire, de nombreux condenseurs à fond noir sont construits avec un petit cercle gravé sur la surface supérieure pour faciliter le centrage du condenseur. Le centrage est effectué avec un objectif de faible puissance (10x-20x) en imaginant le cercle gravé et en utilisant les vis de centrage du condenseur pour s'assurer que le cercle (et le condenseur) sont correctement centrés dans le chemin optique.

12.4 Centrage du condenseur à fond noir

1. Sélectionner un échantillon en fond noir et le placer sur la platine du microscope entre l'objectif et le condenseur.
2. Insérer 10x l'objectif dans le trajet lumineux et focaliser l'échantillon.

- **Le condenseur projette un point lumineux sur l'échantillon qui peut être utilisé pour centrer le chemin optique.**

3. Utilisez les vis de centrage du condenseur ① pour déplacer l'anneau lumineux au centre du champ de vision. (Fig. 24)

- **Il peut être utile de varier la hauteur du condenseur afin de visualiser le spot.**
- **Il est souvent avantageux d'utiliser un objectif de faible puissance 10x lors du centrage de condenseurs fond noir à grande ouverture numérique.**
- **Lors de l'observation d'un échantillon avec l'objectif 10x tout en soulevant et abaissant lentement le condenseur, un point sera atteint où un point lumineux apparaîtra dans le champ de vision comme illustré à la Fig. 25 (a). Comme le condenseur est légèrement relevé ou abaissé, une tache sombre semblable à celle illustrée à la Fig. 25 (b), si le condenseur est correctement centré. Dans les cas où le condenseur n'est pas correctement aligné et centré, un champ de vision typique peut ressembler à celui de la Fig. 25(c) et (d). Le positionnement idéal et correct du condenseur est illustré à la Fig. 25(a), et le condenseur doit être ajusté jusqu'à ce que le champ de vision apparaisse de cette manière, avec les vis de centrage du condenseur.**



Fig. 24

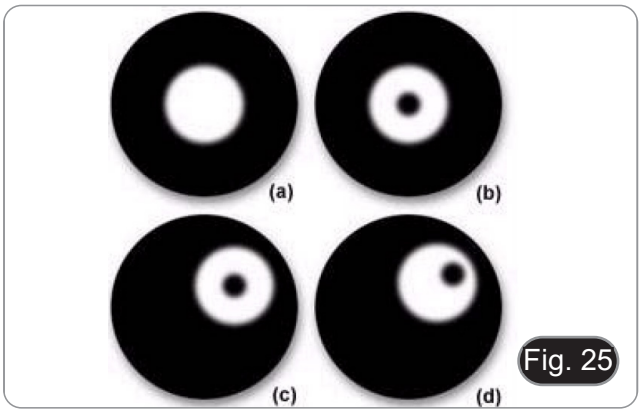
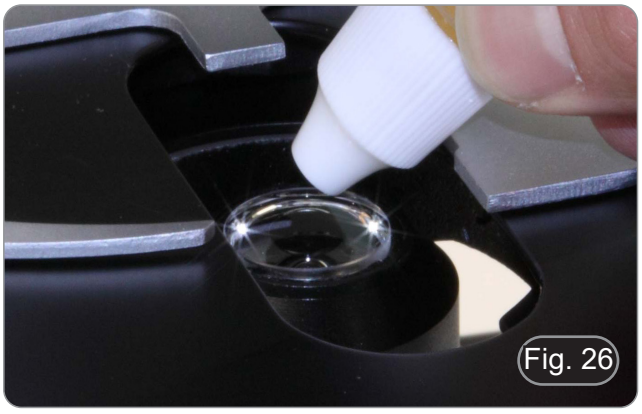


Fig. 25

4. Retirez la lame et mettez une goutte d'huile (fournie) sur la lentille avant du condenseur. (Fig. 26)

- **Assurez-vous qu'il n'y a pas de bulles d'air. Les bulles d'air dans l'huile endommagent la qualité de l'image.**

5. Repositionner la glissière et soulever le condenseur jusqu'à ce que l'huile sur la lentille du condenseur soit en contact avec la glissière.
6. Déplacer la zone à observer au centre du trajet optique à l'aide d'un objectif à faible grossissement (10x ou 40x).
7. Faire la mise au point sur l'échantillon.


Fig. 26

8. Insérez l'objectif 100X huile/Iris dans le trajet lumineux. Tous les composants du système sont ainsi pré réglés en vue de l'ajout d'huile. Amener l'objectif à immersion dans une position adjacente de la tourelle et appliquer l'huile sur l'échantillon. (Fig. 27)

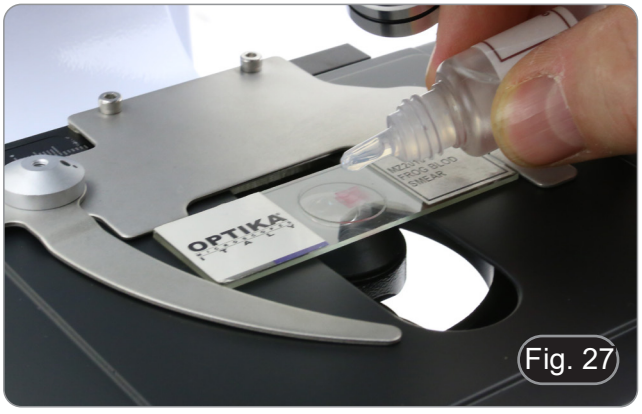


Fig. 27

9. En fait, la glissière doit être complètement immergée dans l'huile dans la partie inférieure (interface condenseur-verre) ①, et dans la partie supérieure (interface verre-objectif) ②. (Fig. 28)

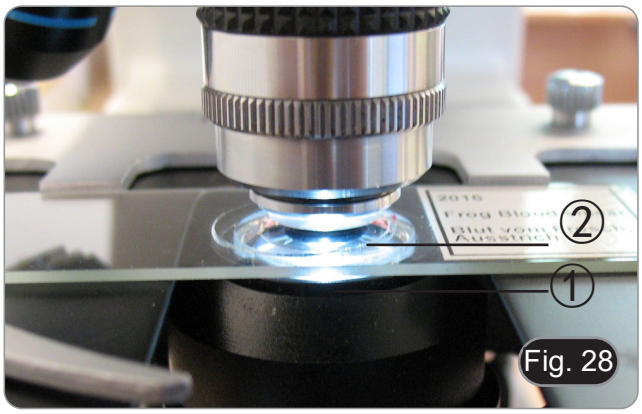
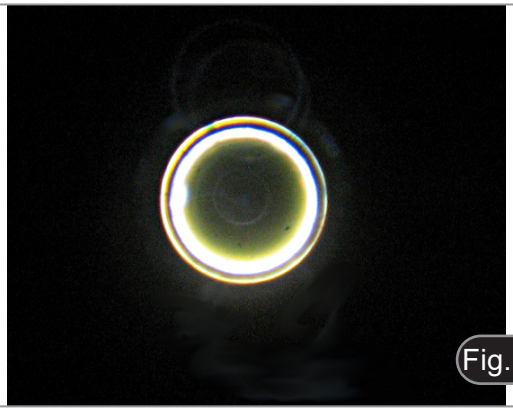


Fig. 28

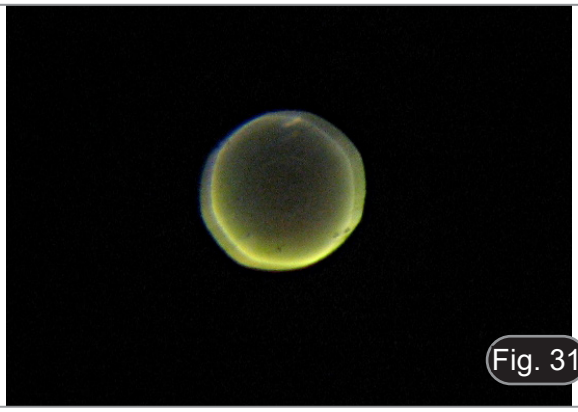
10. Retirer un oculaire et insérer le télescope de centrage dans la douille d'oculaire vide. (Fig. 29)


Fig. 29

11. La rotation de la partie supérieure du télescope de centrage focalise l'image de l'anneau lumineux visible dans la périphérie du champ de vision. (Fig. 30)


Fig. 30

- **Si le condenseur n'est pas parfaitement centré ou si le condenseur n'est pas à la hauteur exacte (trop haut ou trop bas), l'image projetée sera similaire à celle de la Fig. 31.**


Fig. 31

12. Réglez avec précision le centrage du condenseur à l'aide du bouton de réglage de la hauteur du condenseur, sur le vis de centrage du condenseur ① et du LED ②. (Fig. 32)

13. Après avoir correctement réglé le condenseur, retirer le télescope de centrage et remettre l'oculaire en place. Commencez maintenant l'observation.



Fig. 32

14. Objectif 100x avec diaphragme à diaphragme interne qui permet le réglage de l'ouverture numérique. Tourner le diaphragme pour fermer l'iris. (Fig. 33)

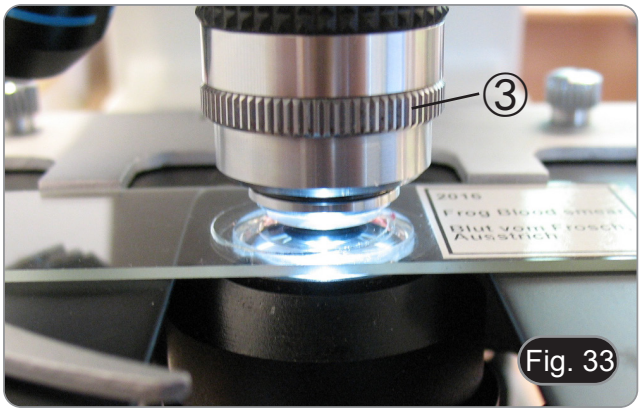
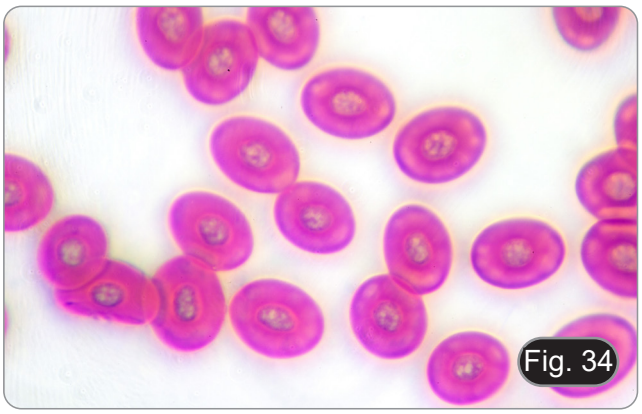
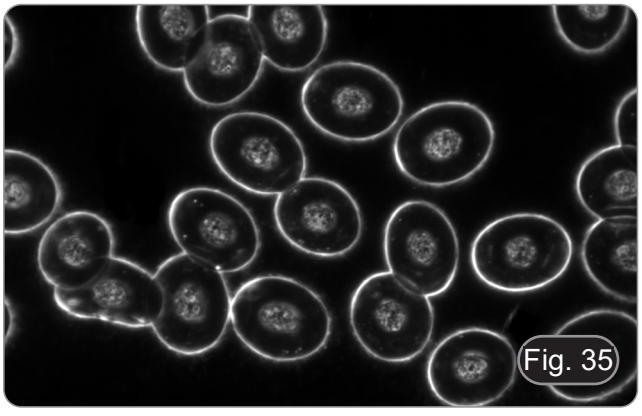


Fig. 33

15. L'effet que l'on obtient en passant d'un iris complètement ouvert (observation en fond clair) à un iris complètement fermé (observation en fond noir) est illustré aux Fig. 34 et 35.


Fig. 34


Fig. 35

13. Microphotographie

13.1 Utilisation des caméras avec monture “C”

1. Desserrer la vis de fixation ① à la jointure du tube et enlever le couvercle de protection noir ②. (Fig. 36)

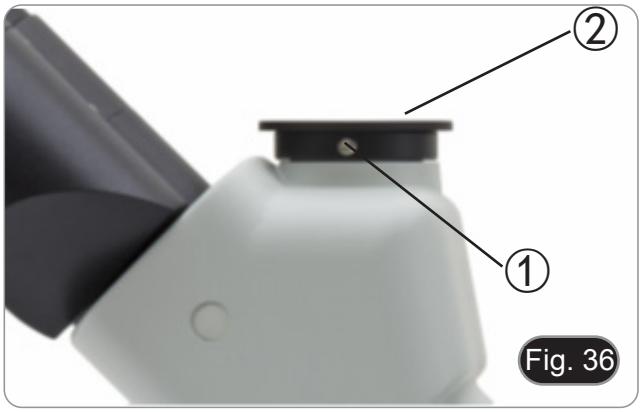


Fig. 36

2. Visser l’adaptateur de monture C ③ sur la caméra ④ et insérer le support rond du monture C dans le tube trinoculaire, puis resserrer la vis de fixation ①. (Fig. 37)



Fig. 37

13.2 Utilisation des caméras Reflex

1. Insérer l’adaptateur Reflex ① dans le tube de connexion du microscope ②.
2. Visser l’anneau “T2” ③ (non fournie) sur l’adaptateur reflex.
3. Unir l’ appareil photo Reflex ④ à l’anneau “T2” juste assemblé. (Fig. 38).
4. Monter l’extrémité du tube de connexion ② dans le trou vide du tube trinoculaire, puis serrer la vis de serrage. (Fig. 36)

- L’anneau “T2” n’est pas fourni avec le microscope, mais est disponible dans le commerce.
- Pour photographier des préparations sombres, assombrissez les oculaires et le viseur avec un chiffon foncé pour limiter la lumière diffusée.
- Pour calculer le grossissement de l’ appareil photographique il faut: grossissement de l’ objectif * grossissement de l’ appareil * grossissement de la lentille.
- **Si vous utilisez un appareil reflex, le mouvement du miroir peut faire vibrer l’appareil.**
- **Il est conseillé de soulever le miroir, et d’utiliser une télécommande en pose longue.**



Fig. 38

14. Réparation et entretien

Environnement de travail

Il est conseillé d'utiliser le microscope dans un environnement propre et sec, protégé des impactes, à une température comprise entre 0°C y 40°C et avec une humidité relative maximale de 85% (en absence de condensation). Il est conseillé d'utiliser un déshumidificateur si nécessaire.

Conseils avant et après l'utilisation du microscope



- Maintenir le microscope toujours en position verticale lorsque vous le déplacez.
- Assurez vous que les pièces mobiles (oculaires) ne tombent pas.
- Manipulez avec attention le microscope en évitant de le forcer.
- Ne réparez pas le microscope vous même.
- Éteindre immédiatement la lumière après avoir utilisé le microscope, couvrez le avec la housse prévue à cet effet et conservez le dans un endroit propre et sec.

Précaution de sécurité sur le système électrique



- Avant de connecter le câble d'alimentation sur le réseau électrique assurez vous que la tension d'entrée soit compatible avec celle de l'appareil et que l'interrupteur de l'éclairage soit en position arrêt.
- L'utilisateur devra consulter les normes de sécurités de son pays.
- L'appareil inclût une étiquette de sécurité C.E. Dans tous les cas, l'utilisateur assume toute responsabilité relative à l'utilisation sûre de l'appareil.

Nettoyage des optiques

- Si vous souhaitez nettoyer les optiques, utilisez dans un premier temps de l'air comprimé.
- Si cela n'est pas suffisant, utilisez alors un chiffon non effiloché, humidifié avec un peu d'eau et avec un détergent délicat.
- Comme dernière option, il est possible d'utiliser un chiffon humide avec une solution de 3:7 d'éthanol et d'éther.
- **Attention: l'éthanol et l'éther sont des substances hautement inflammables. Ne les utilisez pas près d'une source de chaleur, d'étincelles ou d'appareils électriques. Les substances chimiques doivent être utilisées dans un environnement aéré.**
- Ne pas frotter la superficie d'aucun des composants optiques avec les mains.
- Les empreintes digitales peuvent endommager les parties optiques.

Pour les meilleurs résultats, utiliser le kit de nettoyage OPTIKA (voir le catalogue).

Conserver l'emballage d'origine dans le cas où il serait nécessaire de retourner le microscope au fournisseur pour un entretien ou une réparation.

15. Guide résolution des problèmes

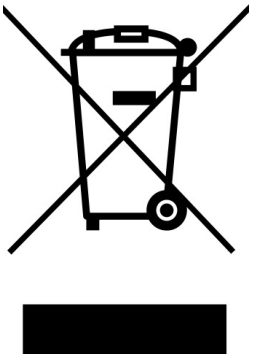
Passer en revue les informations dans le tableau ci-dessous pour résoudre les problèmes opérationnels.

PROBLÈME	CAUSE	SOLUTION
I. Section Optique:		
La lampe est allumée mais le champ visuel est sombre.	Les câbles d'alimentation ne sont pas branchés correctement. Les connecteurs ne sont pas bien raccordés	Brancher les correctement
	L'intensité lumineuse est trop faible	Procéder au réglage
Vignettage du champ visuel, image est irrégulièrement éclairée sur les bords.	Le revolver porte-objectifs ne s'est pas encliqueté.	Encliqueter le revolver porte-objectifs.
	L'huile n'est pas présente ou pas en quantité suffisante sur la lentille avant du condenseur et sur la lame	Vérifier la présence correcte de l'huile
Des saletés ou des poussières sont présentes dans le champ visuel lorsque vous regarder dans l'oculaire.	La préparation est sale	Nettoyer l'échantillon
	L'oculaire est sale	Nettoyer l'oculaire
L'image (à l'aide du microscope dans le fond clair) semble être doublée.	Le diaphragme d'ouverture est trop fermé	Ouvrer-le à la taille voulue
	Le condenseur est mal focalisé ou il n'est pas positionné correctement.	Corriger la position du condenseur selon le concept de Koehler.
Mauvaise qualité d'image: • L'image n'est pas nette; • Le contraste n'est pas élevé; • Les détails ne sont pas clairs;	Le revolver n'est pas au milieu du parcours lumineux	Encliqueter le revolver
	Le diaphragme d'ouverture dans le champ de vision (lorsque vous travaillez dans un fond clair) est trop ouvert ou trop fermé	Ajuster le diaphragme d'ouverture
	Surfaces optiques des objectifs, oculaires, préparations, condenseurs ou filtres recouvertes de poussières.	Nettoyer les composants optiques.
	Utilisation de lamelles couvre-objet dont l'épaisseur n'est pas adaptée aux objectifs pour lumière transmise nécessitant des lamelles de 0,17 mm.	Utiliser des lamelles couvre-objet de 0,17 mm d'épaisseur.
	La mise au point n'est pas homogène	La platine n'est pas installée correctement. Déplacer l'échantillon jusqu'à trouver la position idéale
	Un échantillon qui ne convient pas à l'observation en champ sombre est utilisé	Utiliser un échantillon approprié
Une partie du champ visuel n'est pas nette.	La tourelle porte-objectif n'est pas installée correctement ou n'a pas atteint la position d'encliquetage.	Installer-la correctement et tourner la jusqu'au déclic
	La préparation est inclinée par rapport à la surface de la platine.	Repositionner correctement l'échantillon sur la platine.
	Verre de la lame de l'échantillon microscopique est de mauvaise qualité	Utiliser une lame de qualité supérieure
II. Section Mécanique:		
Commande macrométrique dur à tourner.	Le col de réglage de la tension est trop serré	Desserrer le col de réglage de la tension
Mise au point instable	Le col de réglage de la tension est trop desserré	Serrer le col de réglage de la tension

III. Section Électrique		
Le LED n'allumera pas	Pas d' alimentation électrique	Vérifier la connexion du câble d'alimentation
L'éclairage n'est pas assez.	L'intensité lumineuse est faible	Ajuster l'éclairage
Éclairs de lumière.	Connexion incorrecte du câble	Contrôler câble d'alimentation
IV. Montage tube d'observation		
Champ visuel différent d'un oeil à l'autre.	Distance interpupillaire incorrecte	Réglage distance interpupillaire
	Correction dioptrique incorrecte	Réglage correction dioptrique
	Observation technique incorrecte, efforts visuels de l'opérateur	Observation à travers l' objectif, ne pas fixer l'échantillon mais observer tout le champ visuel. De temps en temps éloigner les yeux, regarder un objet distant, et retourner à l'objectif
V. Microphotographie et vidéo:		
Les bords de l'image sont flous	Relatif en substance à la nature des objectifs achromatiques généralement	Minimiser le problème par un réglage correcte du diaphragme d'ouverture
Rais lumineux sur l'image.	Entrée de lumière diffuse dans le microscope à travers les oculaires et le viseur de la caméra	Couvrir les oculaires et le viseur avec un pan de tissu obscur

Ramassage

Conformément à l'Article 13 du D.L du 25 Juillet 2005 nº151 «Action des Directives 2002/95/CE, 2002/96/CE et 2003/108/CE, relatives à la réduction de l'utilisation de substances dangereuses dans l'appareil électrique et électronique et à l'élimination des résidus».





Le Symbole du conteneur qui figure sur l'appareil électrique ou sur son emballage indique que le produit devra être, à la fin de sa vie utile, séparé du reste des résidus. La gestion du ramassage sélectif du présent instrument sera effectuée par le fabricant. Par conséquent, l'utilisateur qui souhaite éliminer l'appareil devra se mettre en contact avec le fabricant et suivre le système que celui-ci a adopté pour permettre le ramassage sélectif de l'appareil. Le ramassage sélectif correct de l'appareil pour son recyclage, traitement et élimination compatible avec l'environnement contribue à éviter d'éventuels effets négatifs sur l'environnement et la santé et favorise sa réutilisation et/ou recyclage des composants de l'appareil. L'élimination du produit de manière abusive de la part de l'utilisateur entraînera l'application de sanctions administratives sur la norme en vigueur.

OPTIKA® S.r.l.
Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALY Tel.: +39 035.571.392
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

OPTIKA® Spain
spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA
usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China
china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® India
india@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Central America
camerica@optikamicroscopes.com

OPTIKA®
ITALY

Serie B-510

BEDIENUNGSANLEITUNG

Modell
B-510DK

Ver. 2.5 2023

Inhalt

1. Hinweis 111
2. Sicherheitsinformationen 111
3. Verpackungsinhalt 112
4. Auspacken 113
5. Verwendung 113
6. Wartung- und Gefahrzeichen 113
7. Beschreibung des Instruments 114
8. Montage 116
9. Hellfeldbeobachtungsverfahren 118
10. Dunkelfeldbeobachtungsverfahren 119
11. Verwendung des Mikroskops 120
    - 11.1 Einstellen der Helligkeit 120
    - 11.2 Fokusspannungseinstellung 120
    - 11.3 Scharfstellungsfesthaltung 120
    - 11.4 Objekttisch 120
    - 11.5 Dioptrienverstellung 121
    - 11.6 Einstellung des Augenabstandes 121
    - 11.7 Verwendung von Augenschirmen 121
    - 11.8 Zentrierung des Kondensators 122
    - 11.9 Auswirkungen der Feldblende 122
    - 11.10 Aperturblende 122
12. Dunkelfeld-Mikroskopie 123
    - 12.1 Prinzipien der Ölmikroskopie 123
    - 12.2 Prinzipien der Dunkelfeldbeleuchtung 125
    - 12.3 Hochvergrößernde Dunkelfeldmikroskopie 126
    - 12.4 Kondensatorzentrierung für Dunkelfeld 127
13. Mikrofotografie 130
    - 13.1 Verwendung von C-Mount Kameras 130
    - 13.2 Verwendung von Spiegelreflexkameras 130
14. Wartung 131
15. Probleme und Lösungen 132

Wiederverwertung 134

1. Hinweis

Dieses Mikroskop ist ein wissenschaftliches Präzisionsgerät, es wurde entwickelt für eine jahrelange Verwendung bei einer minimalen Wartung. Dieses Gerät wurde nach den höchsten optischen und mechanischen Standards und zum täglichen Gebrauch hergestellt. Diese Bedienungsanleitung enthält wichtige Informationen zur korrekten und sicheren Benutzung des Geräts. Diese Anleitung soll allen Benutzern zur Verfügung stehen.
Wir lehnen jede Verantwortung für eine fehlerhafte, in dieser Bedienungsanleitung nicht gezeigten Verwendung Ihrer Produkte ab.

2. Sicherheitsinformationen



Elektrische Entladung verhindern

Bevor Sie das Netzkabel anstecken, vergewissern Sie sich, dass die Spannung für das Mikroskop geeignet ist und dass der Beleuchtungsschalter sich in Position OFF befindet.
Beachten Sie alle Sicherheitsvorschriften des Arbeitsplatzes, an dem Sie mit dem Mikroskop arbeiten. Das Gerät entspricht den CE-Normen. Die Benutzer tragen während der Nutzung des Geräts die volle Verantwortung dafür.

3. Verpackungsinhalt



① Hauptkörper
② Okular
③ Objektive
④ Optischer Kopf
⑤ Immersionsöl
⑥ Inbusschlüssel
⑦ Spannungsregelschlüssel
⑧ Staubschutzhaube
⑨ Netzteil
⑩ Hellfeld-Kondensator
⑪ Dunkelfeld-Kondensator
⑫ Zentrier-Teleskop

4. Auspacken

Das Mikroskop ist in einer Schachtel aus Styroporschicht enthalten. Entfernen Sie das Klebeband von der Schachtel und öffnen Sie mit Vorsicht den oberen Teil, ohne Objektive und Okulare zu beschädigen. Mit beiden Händen (eine um dem Stativ und eine um der Basis) ziehen Sie das Mikroskop aus der Schachtel heraus und stellen Sie es auf eine stabile Oberfläche.



Berühren Sie optische Oberflächen wie Linsen, Filter oder Glas nicht mit bloßen Händen. Spuren von Fett oder anderen Rückständen können die endgültige Bildqualität beeinträchtigen und die Optikoberfläche in kurzer Zeit angreifen.

5. Verwendung

Standardmodelle

Nur für Forschung und Lehre verwenden. Nicht für therapeutische oder diagnostische Zwecke bei Tieren oder Menschen bestimmt.

IVD-Modelle

Auch für diagnostische Zwecke, um Informationen über die physiologische oder pathologische Situation des Patienten zu erhalten.

6. Wartung- und Gefahrzeichen

Die folgende Tabelle zeigt die Symbole, die in dieser Anleitung verwendet werden.



VORSICHT

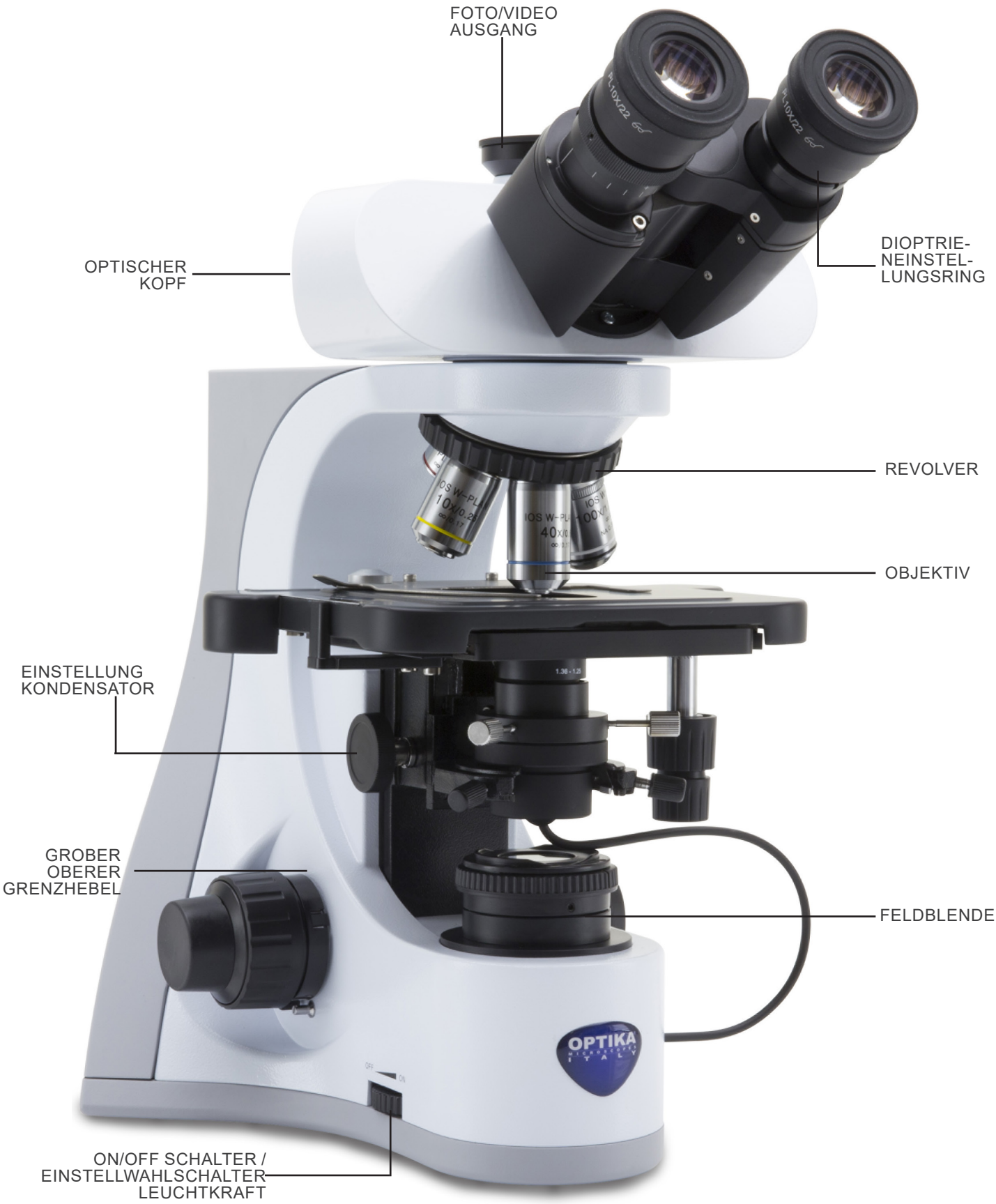
Dieses Symbol zeigt eine potentielle Gefahr und warnt, mit Vorsicht zu verfahren.



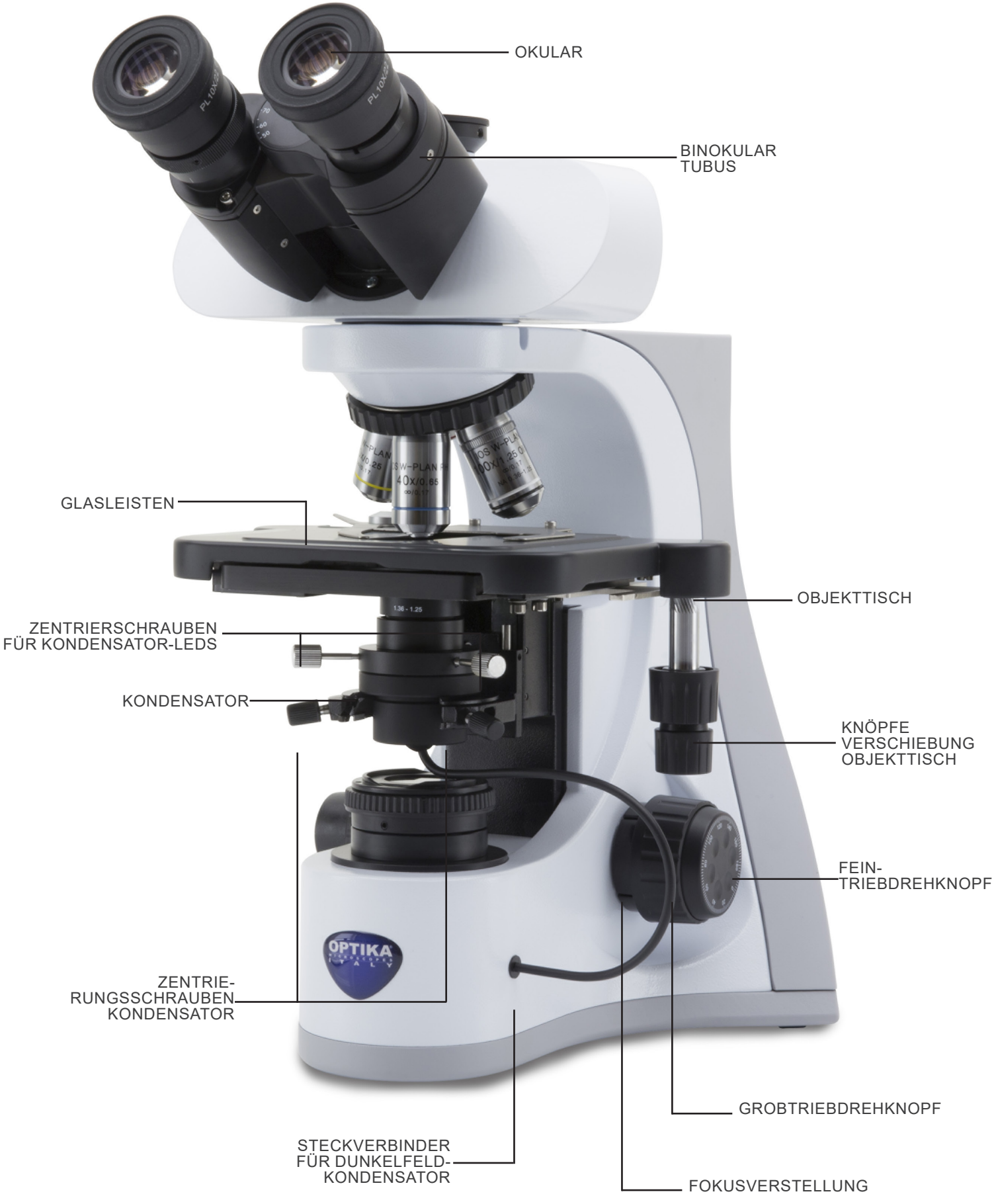
ELEKTRISCHE ENTLADUNG

Dieses Symbol weist auf eine Gefahr von Stromschlägen.

7. Beschreibung des Instruments



Gegenüberliegende Seite



8. Montage

1. Setzen Sie den optischen Kopf über dem Stativ ein und ziehen Sie die Schraube an. (Fig. 1)

- **Halten Sie den Kopf mit einer Hand während der Verriegelung, um zu vermeiden, dass der Kopf herunterfällt**.


Fig. 1

2. Führen Sie beide Okulare in die Röhrenöffnungen ein. (Fig. 2)


Fig. 2

3. Schrauben Sie jedes Objektiv nach Vergrößerung (von der kleinsten bis der größten Vergrößerung) in den Revolver ein. (Fig. 3)


Fig. 3

4. Stecken Sie den Netzteilstecker in die Buchse auf der Rückseite des Hauptkörper. (Fig. 4)


Fig. 4

- **Das Mikroskop wird mit zwei Kondensatoren geliefert: einem für Hellfeld und einem für Dunkelfeld. Wählen Sie den geeigneten Kondensator für das gewünschte Beobachtungsverfahren aus.**

5. Senken Sie die Halterung des Kondensatorhalters mit der Höhenverstellschraube ① ab. (Fig. 5)



6. Stecken Sie den Schwalbenschwanz des Kondensators in den Kondensatorhalter. (Fig. 6)



7. Ziehen Sie die Klemmschraube des Verflüssigers ② an. (Fig. 7)

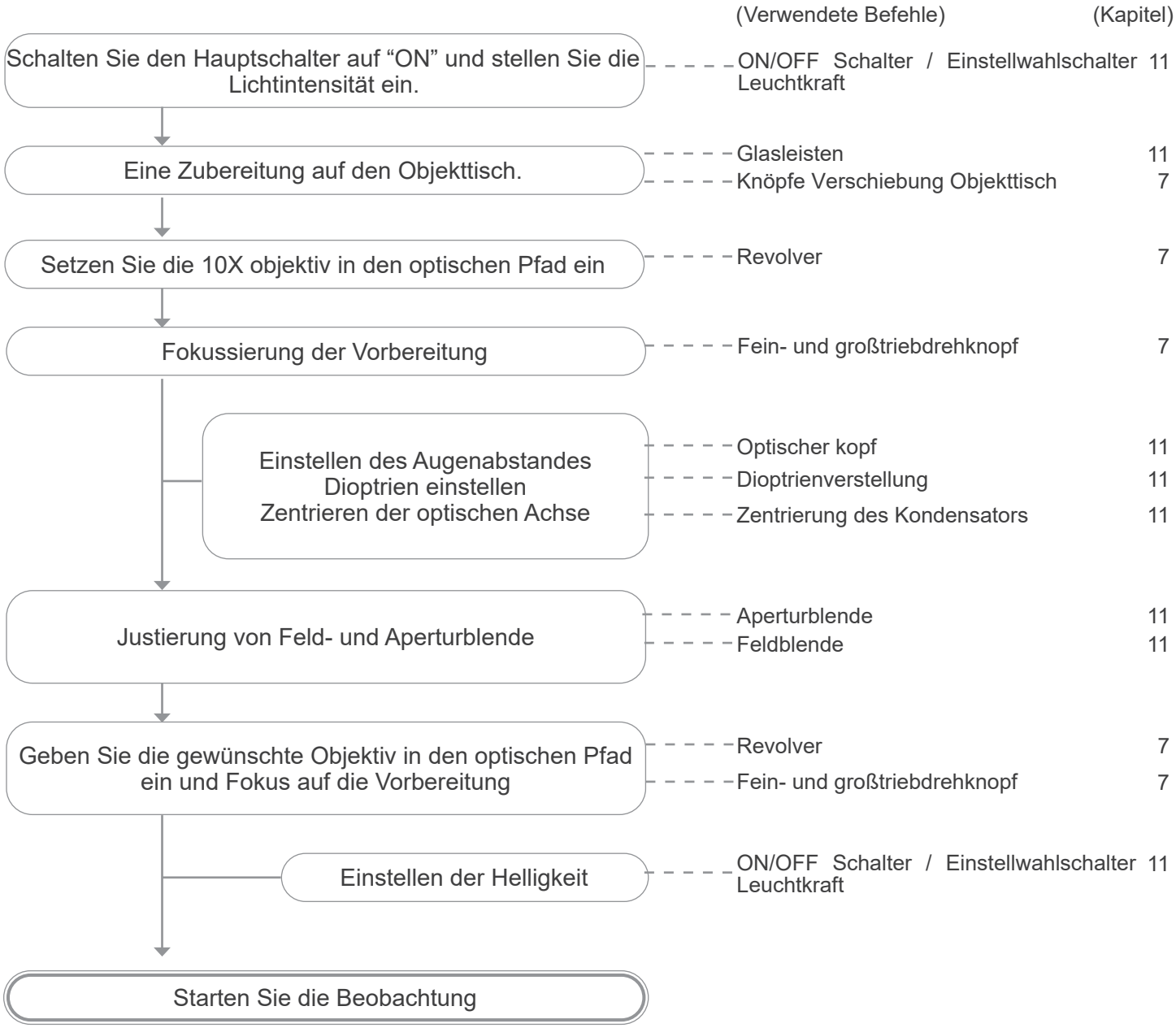


8. (Nur für Dunkelfeldkondensor)
   Verbinden Sie den Stecker des Kondensators mit dem Anschluss des Mikroskops an der Seite des Sockels. (Fig. 8)

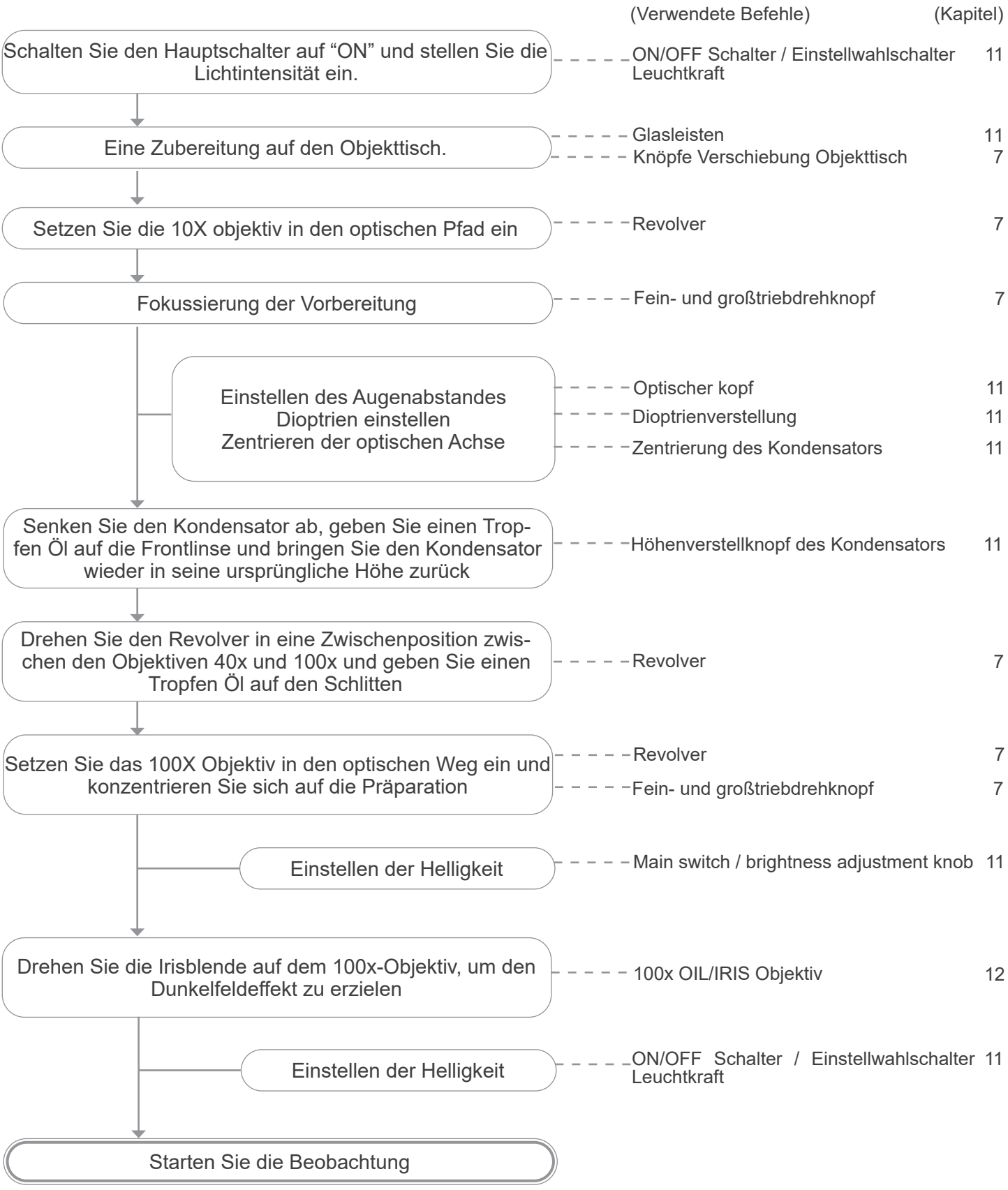
- **Wenn Sie den Kondensator anschließen, erlischt das Licht der LED des Mikroskops und die LED im Inneren des Kondensators leuchtet.**



9. Hellfeldbeobachtungsverfahren



10. Dunkelfeldbeobachtungsverfahren



11. Verwendung des Mikroskops

11.1 Einstellen der Helligkeit

Verwenden Sie das Einstellrad ①, um das Gerät ein- und auszuschalten und die Beleuchtungsspannung zu erhöhen oder zu verringern. (Fig. 9)

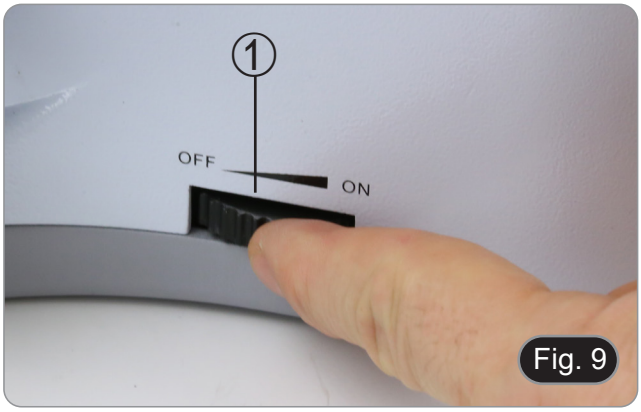


Fig. 9

11.2 Fokusspannungseinstellung

- **Stellen Sie die Spannung mit dem mitgelieferten Werkzeug ein.**

Die Grobtriebsspannung ist werkseitig voreingestellt.

1. Um die Spannung an die persönlichen Bedürfnisse anzupassen, drehen Sie den Ring ② mit dem mitgelieferten Werkzeug. (Fig. 10)

- Durch Drehen im Uhrzeigersinn wird die Spannung erhöht.
- Wenn die Spannung zu locker ist, kann der Objekttisch von selbst nachlassen oder der Fokus nach der Feineinstellung leicht verloren gehen. In diesem Fall drehen Sie den Knopf, um die Spannung zu erhöhen.



Fig. 10

11.3 Scharfstellungsfesthaltung

Der obere Begrenzungsknopf hat zwei Funktionen: Er verhindert den Kontakt zwischen Schlitten und Objektiv und dient als “Fokusspeicher”.

1. Ziehen nach dem Fokussieren des Objekts den Hebel ③ zur Vorderseite des Mikroskops und arretieren Sie ihn. (Fig. 11).

- Auf diese Weise wird die obere Grenze des Fokus eingestellt.

2. Jetzt kann man den Objekttisch mit dem Großfokusknopf absenken, das Probe wieder einsetzen und den Tisch wieder bis zur oberen Grenze anheben: Das Probe wird ungefähr fokussiert sein und benötigt eine Feineinstellung, um den richtigen Fokus zu erhalten.

- **Feinfokussierung wird durch die Groß-Fokussperre nicht beeinflusst.**
- **Zum Entriegeln den Hebel in die entgegengesetzte Richtung zu demjenigen bewegen, der für die Verriegelung verwendet wird.**

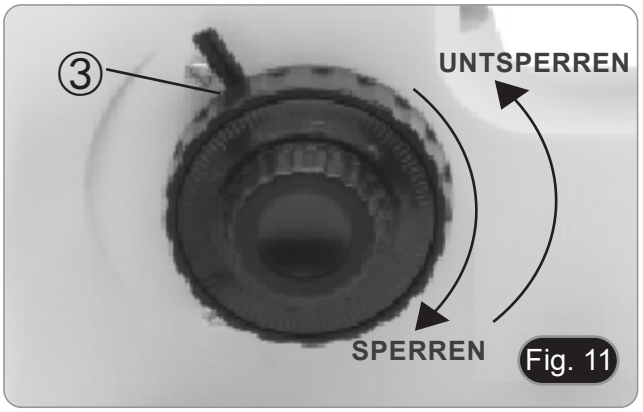


Fig. 11

11.4 Objekttisch

Der Objekttisch nimmt Standardschlitten 26 x 76 mm, Dicke 1,2 mm und Deckglas 0,17 mm auf.
Es ist möglich, zwei Schlitten nebeneinander auf dem Objekttisch unterzubringen. (Fig. 12)

- **Den beweglichen Arm des Glasleisten ④ ausfahren und die Schlitten frontal auf den Objekttisch.**
- **Lassen Sie den beweglichen Arm des Glasleisten vorsichtig los.**
- **Ein abruptes Lösen des Glasleisten kann dazu führen, dass ein oder beide Schlitten herausfallen.**



Fig. 12

11.5 Dioptrienverstellung

1. Stellen Sie die feintriebdrehknopf so ein, dass Sie ein klares und scharfes Bild erhalten, indem Sie mit dem rechten Auge schauen.
2. Drehen Sie den Dioptrieneinstellring ① am linken Okular, bis Sie auch mit dem linken Auge deutlich sehen können. (Fig. 13)

- **Der Einstellbereich beträgt ±5 Dioptrien. Die auf der Skala des Einstellrings angegebene Zahl sollte der Dioptrienkorrektur des Bedieners entsprechen.**



Fig. 13

11.6 Einstellung des Augenabstandes

Beobachten Sie mit beiden Augen und halten Sie die beiden Prismenbaugruppen des Okulars fest. Drehen Sie sie um ihre gemeinsame Achse, bis die Sichtfelder übereinstimmen.

- **Die Skala auf der Augenabstandsanzeige ②, die auf den Punkt "." am Okularhalter zeigt, zeigt den Abstand zwischen den Augen des Bedieners an. (Fig. 14)**

Der Bereich des Augenabstandes beträgt 48-75mm.

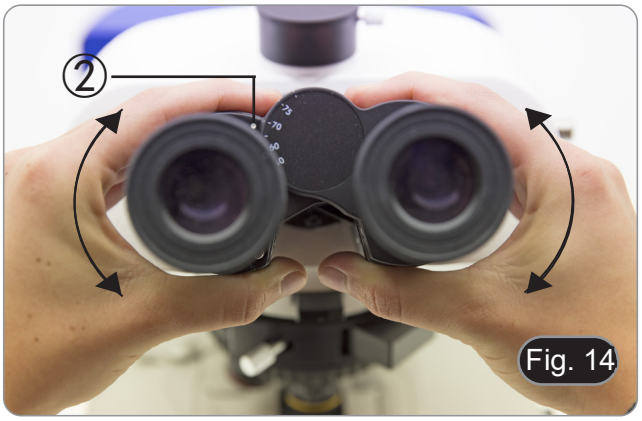


Fig. 14

11.7 Verwendung von Augenschirmen

- **Zur Verwendung mit einer Brille**

Falten Sie die Gummi-Augenschilde mit beiden Händen. Gefaltete Augenschirme vermeiden das Verkratzen der Gläser einer Brille. (Fig. 15)


Fig. 15

- **Verwendung ohne Brille**

Augenschirme anheben und am Mikroskop beobachten, um die Augen auf die Schirme zu richten, wobei Fremdlicht vermieden wird, das die Beobachtung stört. (Fig. 16)


Fig. 16

11.8 Zentrierung des Kondensators

1. Legen Sie die Probe auf den Couchtisch, setzen Sie die 10X objektiv in den Strahlengang ein und fokussieren Sie auf.
2. Setzen Sie die Frontlinse des ausschwenkbaren Kondensators ein ①. (Fig. 17)
3. Drehen Sie den Feld-Membranring ② gegen den Uhrzeigersinn, um die Membran vollständig zu schließen.
4. Drehen Sie den Höhenverstellknopf des Kondensators ③, um die Kanten der Membran zu fokussieren.
5. Drehen Sie die beiden Zentrierschrauben ④, um den hellen Punkt in die Mitte des Sichtfeldes zu bringen.
6. Öffnen Sie die blende. Der Kondensator wird zentriert, wenn das Membranbild symmetrisch zum Sichtfeld ist.
7. Öffnen Sie bei normalem Gebrauch die Membran, bis das Bild das Sichtfeld umschließt.

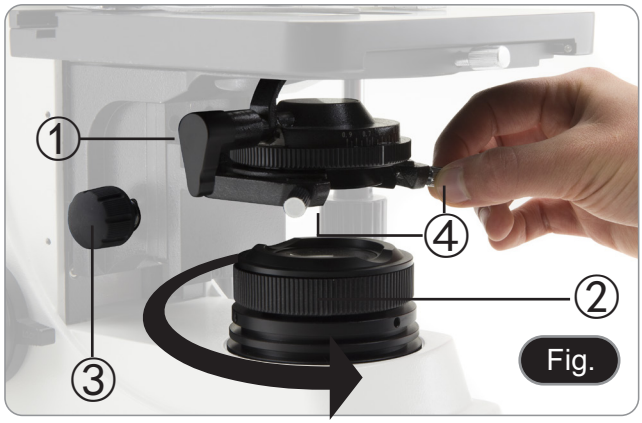
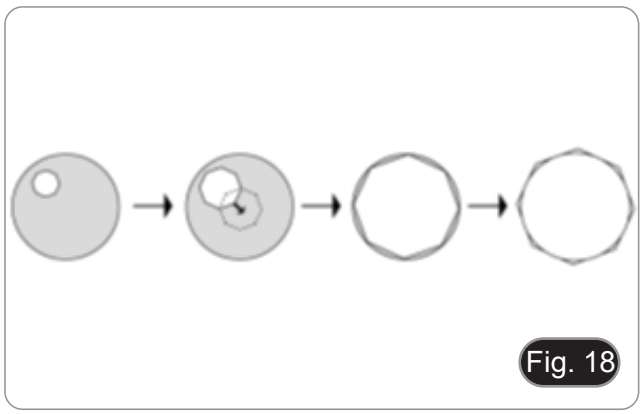


Fig.

11.9 Auswirkungen der Feldblende

Die Feldblende passt den beleuchteten Bereich an, um ein kontrastreiches Bild zu erhalten.
Stellen Sie die Sichtfeldblende entsprechend der verwendeten Linse ein, bis die Irisblende das Sichtfeld umschließt, um unnötiges Licht für die Okulare zu vermeiden. (Fig.18)


Fig. 18

11.10 Aperturblende

- Der numerische Öffnungswert (A.N.) der Aperturblende beeinflusst den Kontrast des Bildes. Das Erhöhen oder Verringern dieses Wertes in Abhängigkeit von der numerischen Apertur des Objektivs ändert die Auflösung, den Kontrast und die Tiefenschärfe des Bildes.
- Stellen Sie bei kontrastarmen Proben den numerischen Aperturwert ⑤ (aufgedruckt auf dem Kondensatorring) auf ca. 70%-80% der N.A. des Objektivs ein. (Fig. 19) Falls erforderlich, entfernen Sie das Okular und stellen Sie den Kondensatorring mit Blick in die leere Hülse ein, um ein Bild wie in Fig. 20 zu erhalten.

Beispiel: mit Objektiv PLAN 40x / 0.65 die Skala auf 0,65 x 0,8 = 0.52 einstellen.



Fig.

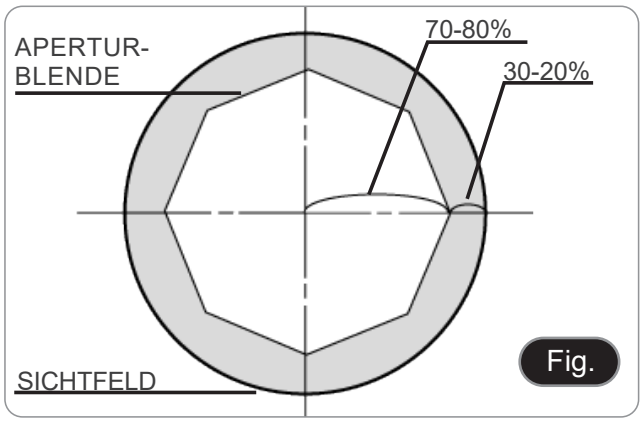


Fig.

12. Dunkelfeld-Mikroskopie

B-510DK ist ein Dunkelfeldsystem speziell für die Blutanalyse mit einem speziellen, besonders effizienten Dunkelfeldkondensor von 1,36 - 1,25 N.A. und einem plan-achromatischen 100X-Objektiv mit einstellbarer Irisblende.
Die X-LED-Beleuchtung gewährleistet die hohe Lichtintensität, die typischerweise bei hochvergrößernden Dunkelfeldtechniken benötigt wird.

Um dieses Mikroskop richtig einsetzen zu können, muss man sich mit folgenden Techniken vertraut machen:
a. Ölimmersionstechnike
b. Dunkelfeldtechnik.

Im folgenden Handbuch stellen wir die Grundlagen dieser Methoden vor (Kapitel 12.1 und 12.2) und geben dann eine schrittweise Anleitung zur Konfiguration des B-510DK (Kapitel 12.4).

Außerdem werden allgemeine Tipps für die Immersionsmikroskopie gegeben.

12.1 Prinzipien der Ölmikroskopie

Die Fähigkeit des Objektivs des Mikroskops, die von einer Probe abgelenkten Lichtstrahlen zu erfassen, hängt sowohl von der numerischen Apertur als auch vom Medium ab, durch das das Licht fließt.

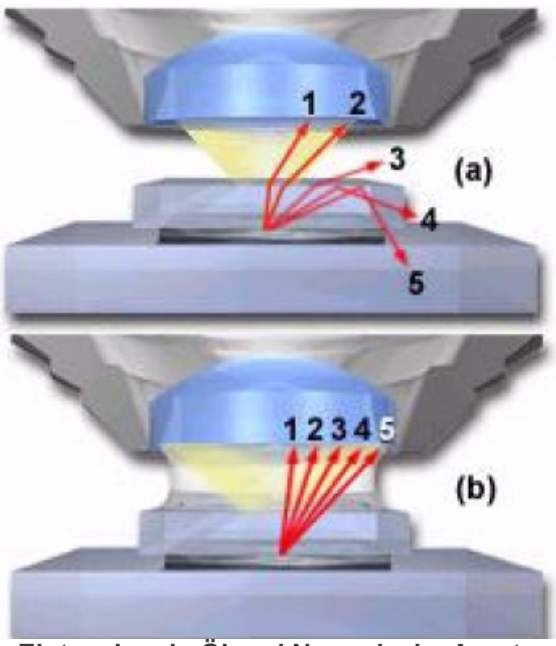
Die numerische Apertur einer Linse ist direkt proportional zum Brechungsindex des Mediums zwischen Linsenkappe und Frontlinse sowie zum Sinus der halben Winkelapertur der Linse.

Da der Sinus nicht größer als 90 Grad sein darf, wird die maximal mögliche numerische Apertur durch den Brechungsindex des Immersionsmediums bestimmt.

Die meisten Mikroskopobjektive verwenden Luft als Medium, durch das Lichtstrahlen zwischen der Schutzabdeckung der Probe und der Frontlinse der Linse gelangen müssen. Solche Linsen werden als trockene Linsen bezeichnet, da sie ohne flüssige Zwischenmedien verwendet werden.

Luft hat einen Brechungsindex von 1.0003, ist sehr vakuumnah und deutlich niedriger als die meisten Flüssigkeiten, einschließlich Wasser (n = 1.33), Glycerin (n = 1.470) und gängige Mikroskop-Immersionsöle (Durchschnitt n = 1.515).

In der Praxis ist die maximale numerische Apertur eines trockenen Linsensystems auf 0.95 begrenzt und höhere Werte können nur durch die Verwendung der für das Medium der Immersion ausgelegten Optik erreicht werden.



Eintauchen in Öl und Numerische Apertur

Fig. 21

Das Prinzip der Ölimmersion ist in Fig. 21 dargestellt, wo die einzelnen Lichtstrahlen durch die Probe verfolgt und durch die Linse geleitet oder in andere Richtungen gebrochen werden. Fig. 21(a) veranschaulicht den Fall einer trockenen Linse mit fünf Strahlen (gekennzeichnet mit 1 bis 5), die durch eine mit einem Deckglas abgedeckte Probe hindurchgehen. Diese Strahlen werden in der Luft-Glas-Grenzfläche gebrochen und nur die beiden Strahlen, die der optischen Achse des Mikroskops am nächsten liegen (Strahlen 1 und 2), haben den entsprechenden Winkel, um in die vordere Objektivlinse zu gelangen. Der dritte Strahl wird in einem Winkel von etwa 30 Grad zum Objektivdeckel gebrochen und gelangt nicht in das Objektiv. Die letzten beiden Strahlen (4 und 5) werden intern durch den Objektivdeckel zurückreflektiert und tragen zusammen mit dem dritten Strahl zu internen Lichtreflexionen auf Glasflächen bei, die dazu neigen, die Bildauflösung zu verringern.

Wenn Luft durch Öl mit dem gleichen Brechungsindex wie Glas ersetzt wird, wie in Fig. 21(b) dargestellt, durchlaufen die Lichtstrahlen direkt die Glas-Öl-Grenzfläche ohne Abweichung durch die Brechung. Die numerische Apertur wird dann um den Faktor n, den Brechungsindex des Öls, erhöht.

Mikroskop-Linsen, die für den Einsatz mit Immersionsöl entwickelt wurden, haben eine Reihe von Vorteilen gegenüber trockenen Linsen. Immersionslinsen sind typischerweise von überlegener Korrektur (Fluorit oder Apochromat) und können numerische Aperturen von bis zu 1.40 aufweisen, wenn sie mit Immersionsöl mit entsprechender Dispersion und Viskosität verwendet werden. Mit diesen Linsen kann die Membran des Kondensators stärker geöffnet werden, wodurch die Ausleuchtung der Probe verlängert und die erhöhte numerische Apertur genutzt wird. Ein Faktor, der bei der Verwendung von Ölimmersionslinsen mit erhöhter numerischer Apertur häufig übersehen wird, sind die Einschränkungen des Systems durch den Kondensator.

In einer Situation, in der eine Öllinse mit NA = 1.40 zur Beobachtung einer Probe mit einem Kondensator mit kleinerer numerischer Apertur (z.B. 1.0) verwendet wird, überschreibt die untere numerische Apertur des Kondensators die der Linse und die gesamte NA des Systems ist auf 1.0 (die numerische Apertur des Kondensators) begrenzt.

Moderne Kondensatoren haben oft einen hohen Korrekturgrad mit numerischen Blendenwerten zwischen 1.0 und 1.40. Um alle Vorteile der Ölimmersion effektiv nutzen zu können, muss die Schnittstelle zwischen der Frontlinse des Kondensators unter dem Tisch und dem Boden des Objektträgers mit der Probe in Öl eingetaucht werden.
Ein ideales System ist in Fig. 22 schematisch dargestellt, wo das Immersionsöl an den Schnittstellen zwischen der Frontlinse der Linse und dem Probenschieber sowie zwischen der Frontlinse des Kondensators und dem Boden des Probenschiebers platziert wurde.

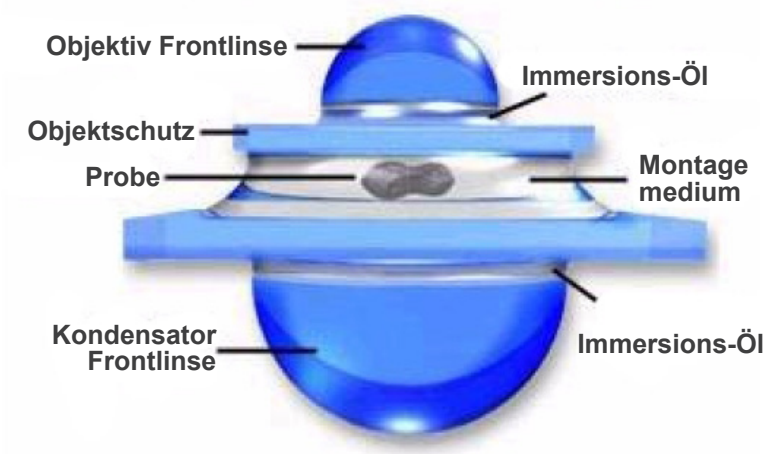
Dieses System wurde als homogenes Immersionssystem definiert und ist die ideale Situation, um maximale numerische Apertur und Auflösung in einem optischen Mikroskop zu erreichen.

In diesem Fall sind der Brechungsindex und die Dispersion der Frontlinse der Linse, des Immersionsöls, der Frontlinse des Kondensators und des Montagemediums gleich oder sehr nahe an ihr.

In diesem idealen System kann ein schräger Lichtstrahl durch die Kondensorlinse und vollständig durch den Objektträger, das Immersionsöl und das nicht brechende Montagemedium an Öl-Glas-Grenzflächen oder Montagemedium-Glas hindurchtreten.

Bei der Verwendung von achromatischen Ölimmersionszielen mit hoher Vergrößerung ist es manchmal möglich, die Schmierphase der oberen Kondensorlinse wegzulassen. Denn oft muss die Aperturblende des Kondensators mit weniger korrekten Objektiven reduziert werden, um Artefakte zu beseitigen und optimale Bilder zu liefern.

Die Verkleinerung der Membran reduziert die potenzielle Vergrößerung der numerischen Apertur (durch die Schmierung der Kondensorlinse), so dass der Verlust der Bildqualität unter diesen Bedingungen im Allgemeinen vernachlässigbar ist. Die Dunkelfeldmikroskopie ist eine spezielle Beleuchtungstechnik, die durch Schräglicht den Kontrast in Proben verbessert, die unter normalen Hellfeldbeleuchtungsbedingungen nicht gut beobachtet werden können.



Homogenes Immersionssystem

Fig. 22

Wir alle sind mit dem Aussehen und der Sichtbarkeit von Sternen in einer dunklen Nacht trotz ihrer großen Entfernungen von der Erde bestens vertraut. Sterne sind wegen des scharfen Kontrasts zwischen ihrem schwachen Licht und dem schwarzen Himmel zu sehen.

12.2 Prinzipien der Dunkelfeldbeleuchtung

Dieses Prinzip wird in der Dunkelfeldmikroskopie angewendet, einer einfachen und beliebten Methode, um ungefärbte Objekte deutlich sichtbar zu machen.
Solche Objekte haben oft Brechungsindizes, die sehr nahe an denen ihrer Umgebung liegen und in der konventionellen Lichtfeldmikroskopie schwer vorstellbar sind.
Beispielsweise haben viele kleine Wasserorganismen einen Brechungsindex zwischen 1.2 und 1.4, was zu einem vernachlässigbaren optischen Unterschied zum umgebenden wässrigen Medium führt. Dies sind ideale Kandidaten für die Dunkelfeldbeleuchtung.

Die Dunkelfeldbeleuchtung erfordert die Blockade des zentralen Lichts, das normalerweise durch und um die Probe hindurchgeht, so dass nur die schrägen Strahlen jedes Azimuts die auf dem Objektträger montierte Probe “treffen” können. Die obere Linse eines einfachen Abbe-Dunkelfeldkondensators ist kugelförmig konkav, so dass die aus der Oberfläche austretenden Lichtstrahlen in allen Azimuten einen invertierten hohlen Lichtkegel mit einem in der Probenebene zentrierten Scheitelpunkt bilden.
Wenn keine Probe vorhanden ist und die numerische Apertur des Kondensators größer ist als die des Ziels, kreuzen sich die schrägen Strahlen und alle diese Strahlen gelangen aufgrund ihrer Schräglage nicht in das Ziel. Das Sichtfeld erscheint dunkel.

Der in Fig. 23 dargestellte Kondensator/Objektiv für die Dunkelfeldmontage ist ein numerisches System mit hoher Apertur, das die Dunkelfeldmikroskopie in ihrer anspruchsvollsten Konfiguration darstellt und im Folgenden ausführlich erläutert wird.
Die Linse enthält eine interne Irisblende, die dazu dient, die numerische Apertur der Linse auf einen niedrigeren Wert zu reduzieren als der vom Kondensator abgegebene leere Lichtkegel auf dem Kopf.
Der Nierenkondensator ist ein reflektierendes Dunkelfeld-Design, das auf Innenspiegeln basiert, um einen fehlerfreien Lichtkegel auf die Probenebene zu projizieren.



Dunkelfeld Nierenkondensator

Fig. 23

Wenn eine Probe auf den Objektträger gelegt wird, insbesondere eine ungefärbte Probe, die kein Licht absorbiert, passieren die schrägen Strahlen die Probe und werden durch optische Diskontinuitäten (wie Zellmembran, Kern und innere Organellen) gebeugt, reflektiert und/oder gebrochen, so dass diese schwachen Strahlen in die Linse gelangen können.

Die Probe ist dann vor einem ansonsten schwarzen Hintergrund hell zu sehen.

In Bezug auf die Fourier-Optik entfernt die Dunkelfeldbeleuchtung die Nullordnung (nicht vergrößertes Licht) aus dem Beugungsmuster, das sich auf der hinteren Brennebene des Objektivs bildet.

Dies führt zu einem Bild, das ausschließlich aus Beugungsintensitäten höherer Ordnung besteht, die von der Probe gestreut werden.

Ideale Kandidaten für die Dunkelfeldbeleuchtung sind kleine lebende Wasserorganismen, Kieselalgen, kleine Insekten, Knochen, Fasern, Haare, ungefärbte Bakterien, Hefen und Protozoen.

Nichtbiologische Proben umfassen mineralische und chemische Kristalle, kolloidale Partikel, Staubpartikelproben und dünne Abschnitte von Polymeren und Keramiken, die kleine Einschlüsse, Unterschiede in der Porosität oder Brechungsindexgradienten enthalten.

Bei der Vorbereitung von Proben für die Dunkelfeldmikroskopie ist Vorsicht geboten, da Eigenschaften über und unter der Fokusebene auch Licht streuen und zum Bildabbau beitragen können.

Die Probendicke und die Dicke des Objektträgers sind ebenfalls sehr wichtig, und im Allgemeinen ist eine dünne Probe wünschenswert, um die Möglichkeit von diffraktiven Artefakten zu vermeiden, die Bilderzeugung stören können.

12.3 Hochvergrößernde Dunkelfeldmikroskopie

Für präziseres Arbeiten und schwärzere Hintergründe können Sie einen Kondensor wählen, der speziell für Dunkelfeld ausgelegt ist, d. h. nur schräge Strahlen durchlässt. Es gibt mehrere Varianten: „Trockene“ Dunkelfeldkondensoren, bei denen sich Luft zwischen der Oberseite des Kondensors und der Unterseite des Objektträgers befindet, und Eintauch-Dunkelfeldkondensoren, bei denen ein Tropfen Immersionsöl (einige können stattdessen auch Wasser verwenden) verwendet wird, um den Kontakt zwischen der Oberseite des Kondensors und der Unterseite des Objektträgers herzustellen. Der Immersions-Dunkelfeldkondensor hat innen verspiegelte Oberflächen und lässt Strahlen mit großer Schräglage und ohne chromatische Aberration durch, wodurch die besten Ergebnisse und der schwärzeste Hintergrund erzielt werden.
Der vielleicht am weitesten verbreitete Dunkelfeldkondensor ist der Paraboloidkondensor, der aus einem massiven Stück Glas besteht, das sehr genau in die Form eines Paraboloids geschliffen wurde.

Wie bereits erwähnt, eignet sich der trockene Dunkelfeldkondensor für Objektive mit einer numerischen Apertur unter 0,75, während der Paraboloid- und der Kardioidkondensor (Fig. 23) für Objektive mit sehr hoher numerischer Apertur (bis 1,4) verwendet werden können. Objektive mit einer numerischen Apertur von mehr als 1,2 erfordern eine gewisse Verringerung ihrer Arbeitsapertur, da ihre maximale numerische Apertur die numerische Apertur des Kondensors überschreiten kann, wodurch direktes Licht in das Objektiv eindringen kann.
Aus diesem Grund sind viele Objektive mit hoher numerischer Apertur, die sowohl für die Verwendung mit Dunkelfeld- als auch mit Hellfeldbeleuchtung konzipiert sind, mit einer eingebauten einstellbaren Irisblende ausgestattet, die als Aperturblende dient.

Diese Verringerung der numerischen Apertur schränkt auch das Auflösungsvermögen des Objektivs und die Lichtintensität im Bild ein. Spezialobjektive, die ausschließlich für die Dunkelfeldarbeit entwickelt wurden, werden mit einer maximalen numerischen Apertur hergestellt, die nahe der unteren Grenze der numerischen Apertur des Dunkelfeldkondensors liegt. Sie haben keine interne Irisblende, aber die Durchmesser der Objektivfassung sind so angepasst, dass mindestens eine interne Linse den optimalen Durchmesser hat, um als Aperturblende zu fungieren.

Der Kardioidkondensor reagiert sehr empfindlich auf die Ausrichtung und muss sorgfältig positioniert werden, um den sehr scharfen Beleuchtungskegel zu nutzen, was ihn zum schwierigsten Dunkelfeldkondensor macht. Außerdem erzeugt der Kondensor selbst bei kleinsten Staubpartikeln eine erhebliche Blendwirkung, und die kurze Brennweite kann zu einer schlechten Ausleuchtung von Objekten führen, deren Größe oder Dicke einige Mikrometer überschreitet. Bei der Auswahl von Objektträgern für die quantitative Dunkelfeldmikroskopie mit hoher Vergrößerung ist darauf zu achten, dass die Objektträger aus einer Glasmischung hergestellt werden, die frei von fluoreszierenden Verunreinigungen ist.

Beim Einölen eines Kondensors mit hoher numerischer Apertur auf der Unterseite des Objektträgers sollte sorgfältig auf die Details geachtet werden. Es ist sehr schwierig zu vermeiden, dass winzige Luftblasen in den Bereich zwischen der oberen Linse des Kondensors und dem Boden des Objektträgers gelangen, und diese Technik sollte bis zur Perfektion geübt werden. Luftbläschen verursachen Bildflackern und Verzerrungen, was zu einem Kontrastverlust und einer allgemeinen Bildverschlechterung führt.

Probleme treten auch bei der Verwendung von Objektträgern auf, die entweder zu dick oder zu dünn sind. Bei vielen Dunkelfeldkondensoren ist der Bereich der nutzbaren Objektträgerdicke direkt auf der Kondensorhalterung angegeben. Wenn der Objektträger zu dick ist, ist es oft schwierig, den Kondensor zu fokussieren, ohne auf ein Immersionsöl mit höherer Viskosität zurückzugreifen. Andererseits neigen zu dünne Objektträger dazu, die Ölverbindung zwischen dem Kondensor und dem Objektträger zu unterbrechen. Es empfiehlt sich, Präzisions-Objektträger mit der richtigen Dicke zu kaufen, um die oben genannten Probleme zu vermeiden.
Kondensoren mit hoher numerischer Apertur müssen, unabhängig davon, ob sie trocken oder mit Öl verwendet werden sollen, genau im Strahlengang des Mikroskops zentriert werden, um eine optimale Leistung zu erzielen.

Um dies zu erreichen, sind viele Dunkelfeldkondensoren mit einem kleinen, auf der Oberseite eingravierten Kreis ausgestattet, der die Zentrierung des Kondensors erleichtert. Die Zentrierung erfolgt mit einem Objektiv mit geringer Leistung (10x-20x), indem der eingravierte Kreis abgebildet und die Zentrierschrauben des Kondensors verwendet werden, um sicherzustellen, dass der Kreis (und der Kondensor) korrekt im Strahlengang zentriert sind.

12.4 Kondensatorzentrierung für Dunkelfeld

1. Wählen Sie eine Probe für das Dunkelfeld aus und legen Sie sie auf den Mikroskoptisch zwischen Linse und Kondensator.
2. Setzen Sie die 10x-Linse in den optischen Pfad ein und fokussieren Sie.

- **Der Kondensator projiziert einen hellen Punkt auf die Probe, mit dem der optische Weg zentriert werden kann.**

3. Verwenden Sie die Kondensatorzentrierschrauben ①, um den Lichtring in die Mitte des Sichtfeldes zu bewegen. (Fig. 24)

- **Es kann sinnvoll sein, die Höhe des Kondensators zu variieren, um den Punkt zu sehen.**
- **Es ist oft von Vorteil, eine 10x-Objektiv mit niedriger Leistung zu verwenden, wenn man Dunkelfeldkondensatoren mit hoher Apertur zentriert.**
- **Betrachtet man eine Probe mit dem 10x-Objektiv, während man den Kondensator langsam anhebt und absenkt, erreicht man einen Punkt, an dem ein heller Punkt im Sichtfeld erscheint, wie in Fig. 25(a) dargestellt. Wenn der Kondensator leicht angehoben oder abgesenkt wird, erscheint ein dunkler Fleck ähnlich dem in Fig. 25(b), wenn der Kondensator richtig zentriert ist. In Fällen, in denen der Kondensator nicht korrekt ausgerichtet und zentriert ist, kann ein typisches Sichtfeld auftreten, wie in den Figg. 25(c) und (d) dargestellt. Die ideale und korrekte Positionierung des Kondensators ist in Fig. 25(a) dargestellt, und der Kondensator sollte so lange eingestellt werden, bis das Sichtfeld so erscheint, mit den Kondensatorzentrierschrauben.**



Fig. 24

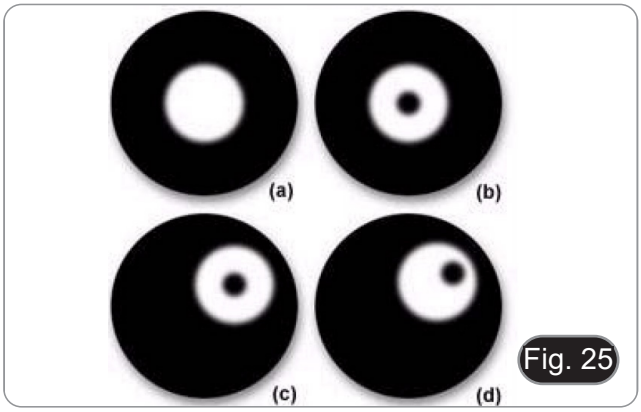


Fig. 25

4. Entfernen Sie den Schieber und geben Sie einen Tropfen Öl (mitgeliefert) auf die Frontlinse des Kondensatorse. (Fig. 26)

- **Achten Sie darauf, dass keine Luftblasen vorhanden sind. Luftblasen im Öl schädigen die Bildqualitä.**

5. Setzen Sie den Schlitten wieder auf und heben Sie den Kondensator an, bis das Öl auf der Objektivlinse des Kondensators mit dem Schlitten in Kontakt ist.
6. Platzieren Sie den zu beobachtenden Bereich in der Mitte des optischen Pfades mit einer Objektiv mit geringer Vergrößerung (10x oder 40x).
7. Fokussierung der Probe.


Fig. 26

8. Setzen Sie die 100x Öl/Iris-Objektiv in den optischen Pfad ein. Dadurch werden alle Komponenten des Systems vorpositioniert, um die Zugabe von Öl vorzubereiten. Bewegen Sie die Tauchlinse in eine benachbarte Revolverposition und tragen Sie Öl auf die Probe aufe. (Fig. 27)

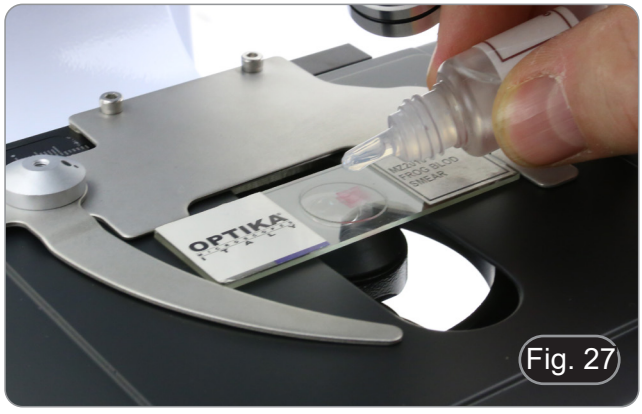


Fig. 27

9. In der Praxis müssen Sie die Situation haben, dass der Schlitten sowohl im unteren Teil (Kondensator-Glas-Schnittstelle) ① als auch im oberen Teil (Fenster-Ziel-Schnittstelle) ② vollständig in Öl eingetaucht ist. (Fig. 28)

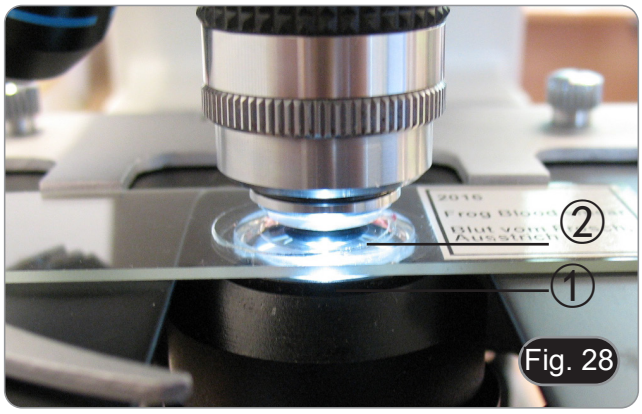
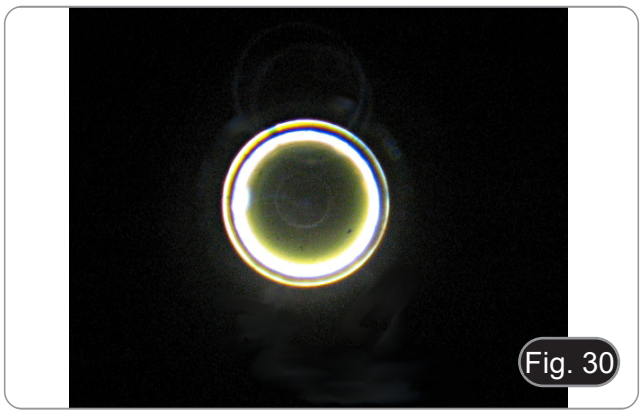


Fig. 28

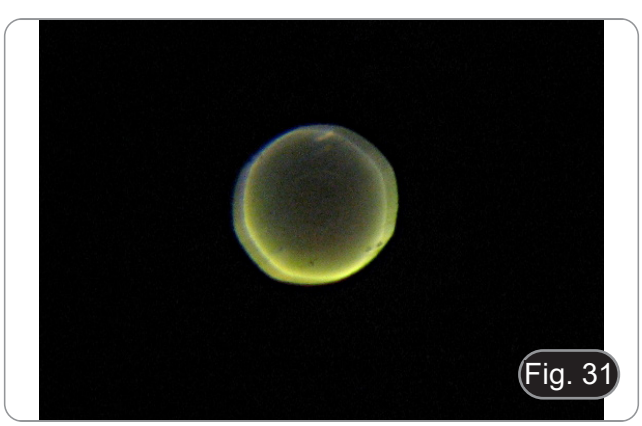
10. Ein Okular entfernen und das Zentrierteleskop in den leeren Okularhalter einsetzen. (Fig. 29)


Fig. 29

11. Drehen Sie die Oberseite des Zentrierteleskops, um das Bild des sichtbaren Lichtrings am Umfang des Sichtfeldes zu fokussieren. (Fig. 30)


Fig. 30

- **Wenn der Kondensator nicht perfekt zentriert ist oder wenn der Kondensator nicht auf der exakten Höhe (zu hoch oder zu niedrig) ist, wird das projizierte Bild wie in Fig. 31 dargestellt.**


Fig. 31

12. Optimieren Sie die Zentrierung des Kondensators, indem Sie auf den Höhenverstellknopf des Kondensators und auf die Zentrierschrauben des Kondensators ① und der LED ② wirken. (Fig. 32)

13. Nach optimaler Zentrierung des Kondensators das Zentrierteleskop entfernen und das Okular neu positionieren. Nun können Sie mit der Beobachtung fortfahren.



Fig. 32

14. Das Objektiv 100x verfügt über eine interne Irisblende, die es ermöglicht, die numerische Apertur einzustellen. Drehen Sie die Blende, um die Blende zu schließen. (Fig. 33)

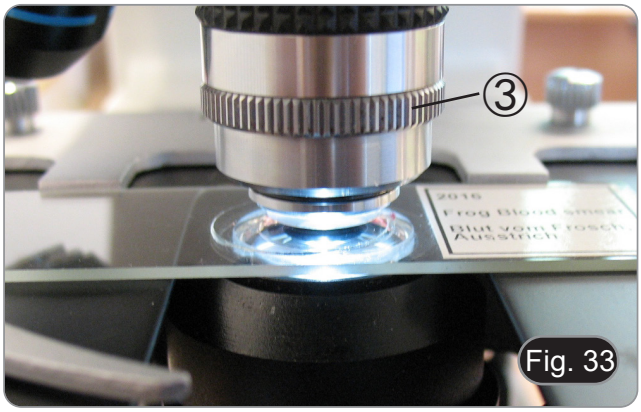
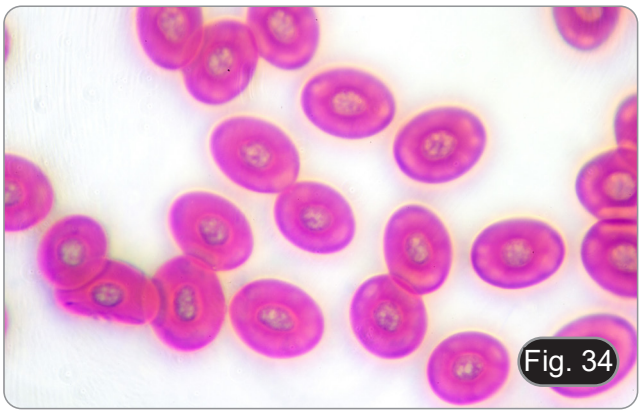
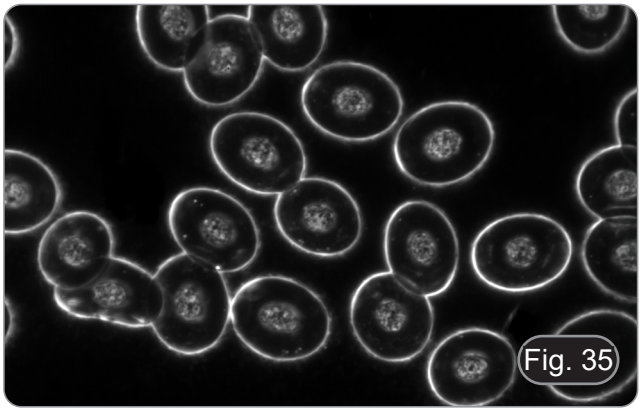


Fig. 33

15. Der Effekt, der durch den Übergang von einer vollständig offenen Iris (Beobachtung ähnlich einem Hellfeld) zu einer vollständig geschlossenen Iris (Beobachtung in einem Dunkelfeld) erzielt wird, ist in den Figg. 34 und 35 dargestellt.


Fig. 34


Fig. 35

13. Mikrofotografie

13.1 Verwendung von C-Mount Kameras

1. Lösen Sie die Sicherungsschraube ① am Binokulartubus und entfernen Sie die Staubkappe ②. (Fig. 36)

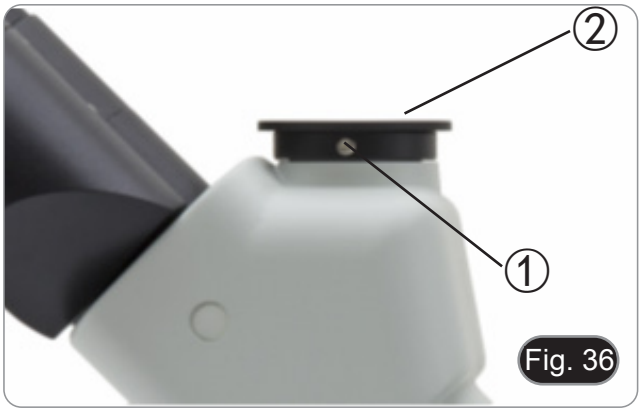


Fig. 36

2. Schrauben Sie den C-mount ③ an die Kamera ④ und montieren Sie die runde Halterung der C-mount in die leere Bohrung des Binokulartubus (Fig. 37)



Fig. 37

13.2 Verwendung von Spiegelreflexkameras

1. Setzen Sie den Reflexadapter ① in den Mikroskopanschluss-Schlauch ②.
2. A Schrauben Sie den “T2”-Ring ③ (nicht mitgeliefert) an den Reflexadapter.
3. Verbinden Sie die Spiegelreflexkamera ④ mit dem gerade montierten Ring “T2 (Fig. 38).
4. Montieren Sie das Ende des Verbindungsrohres ② in die leere Bohrung des Fernglasrohres und ziehen Sie die Klemmschraube an. (Fig. 36)

- Der Ring “T2” wird nicht mit dem Mikroskop geliefert, sondern ist im Handel erhältlich.
- Um dunkle Probe zu fotografieren, verdunkeln Sie Okulare und Sucher mit einem dunklen Tuch, um das Streulicht zu begrenzen.
- Um die Vergrößerung der Kamera zu berechnen: Objektiv * Vergrößerungskamera * Vergrößerungskamera * Vergrößerungslinse.
- **Wenn Sie eine Spiegelreflexkamera verwenden, kann die Bewegung des Spiegels die Maschine in Schwingungen versetzen.**
- **Es wird empfohlen, den Spiegel anzuheben, lange Belichtungszeiten zu verwenden und einen flexiblen Auslöser zu verwenden.**

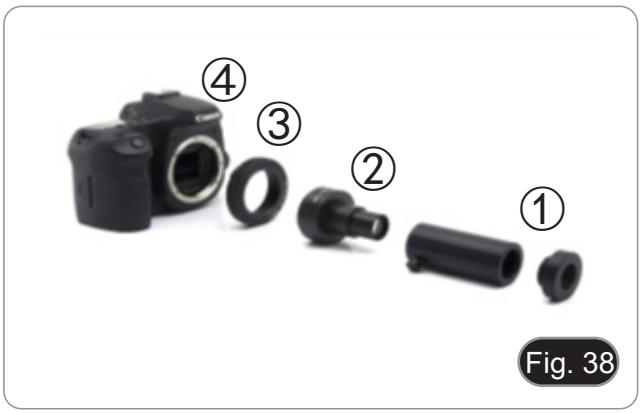


Fig. 38

14. Wartung

Arbeitsumfeld

Es wird empfohlen, das Mikroskop an einem sauberen, trockenen und stoßsicheren Ort zu verwenden, bei einer Temperatur zwischen 0° und 40° und einer Feuchtigkeit nicht über 85% (ohne Kondensation). Wenn nötig wird die Verwendung eines Luftentfeuchters empfohlen.

Vor und nach dem Gebrauch des Mikroskops



- Das Mikroskop muss immer vertikal stehen.
- Achten Sie darauf, die optischen Komponenten (z.B. Objektive, Okulare) nicht zu beschädigen oder diese nicht fallen lassen.
- Behandeln Sie das Mikroskop mit Vorsicht und gebrauchen Sie nicht zu viel Kraft.
- Führen Sie selber keinerlei Reparatur durch.
- Nach dem Gebrauch schalten Sie das Licht aus, decken Sie das Mikroskop mit der mitgelieferten Staubschutzhaube und bewahren Sie es an einem sauberen, trockenen Ort auf.

Elektrische Sicherheitsmaßnahmen



- Bevor Sie das Netzkabel anstecken, vergewissern Sie sich, dass die Spannung für das Mikroskop geeignet ist, und dass der Beleuchtungsschalter sich in position OFF befindet.
- Beachten Sie alle Sicherheitsvorschriften des Arbeitsplatzes, an dem Sie mit dem Mikroskop arbeiten.

Optikreinigung

- Wenn Sie die optischen Komponenten reinigen müssen, verwenden Sie zuerst Druckluft.
- Falls nötig reinigen Sie die optischen Komponenten mit einem weichen Tuch.
- Als letzte Option befeuchten Sie einen Tuch mit einer Mischung 3:7 von Ethanol und Ether.
- **Beachten Sie, dass Ethanol und Ether sehr entzündliche Flüssigkeiten sind. Sie müssen bei einer Wärmequelle, bei Funken oder bei elektrische Geräte nicht verwendet werden. Verwenden Sie diese Chemikalien in einer gut belüfteten Raum.**
- Scheuern Sie keine Oberfläche der optischen Komponenten mit den Händen, da Fingerabdrücke die Optik beschädigen können.
- Montieren Sie die Objektive und Okulare nicht ab, um sie zu reinigen.

Am Besten verwenden Sie das OPTIKA Reinigungskit (siehe Katalog)

Falls das Mikroskop aus Wartungszwecken an Optika zurückgeschickt werden muss, verwenden Sie bitte immer die Originalverpackung.

15. Probleme und Lösungen

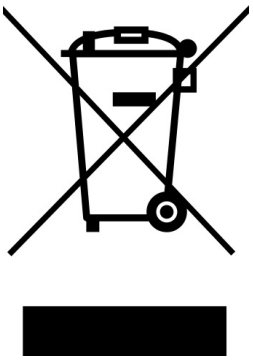
Lesen Sie die Informationen in der folgenden Tabelle, um Probleme bei der Bedienung zu beheben.

PROBLEM	URSACHE	LÖSUNG
I. Optisches System:		
Die Beleuchtung ist eingeschaltet, aber das Sichtfeld ist dunkel	Stromversorgungsstecker sind nicht gut angeschlossen.	Verbinden Sie sie
	Die Helligkeit ist zu gering.	Stellen Sie es auf ein geeignetes Niveau ein
Die Kanten des Sichtfeldes sind vignettiert oder die Helligkeit ist asymmetrisch.	Der Revolver ist nicht in der richtigen Position.	Drehen Sie den Revolver bis zum Anschlag.
	Öl ist nicht oder nicht in ausreichender Menge auf der Frontlinse des Kondensators und auf dem Schlitten vorhanden.	Überprüfen Sie das korrekte Vorhandensein von Öl.
Im Sichtfeld sind Schmutz und Staub zu sehen.	Schmutz und Staub auf der Probe	Reinigen Sie die Probe
	Schmutz und Staub auf dem Okular	Okular reinigen
Das Bild (mit dem Mikroskop im Hellfeld) erscheint verdoppelt.	Die Aperturblende ist zu geschlossen.	Öffnen Sie die Aperturblende
	Der Kondensator ist nicht gut zentriert oder befindet sich auf einer falschen Höhe.	Den Kondensator entsprechend der Einstellung von Koehler einstellen.
Die Bildqualität ist schlecht: • Das Bild ist nicht scharf; • Der Kontrast ist nicht hoch; • Die Details sind nicht scharf;	Der Revolver befindet sich nicht in der Mitte des Lichtweges.	Drehen Sie den Revolver, bis er mit einem Klick einrastet.
	Die Aperturblende im Sichtfeld (bei Arbeiten im Hellfeld) ist zu offen oder zu geschlossen	Einstellen der Aperturblende
	Die Linsen (Kondensator, Linsen, Okulare und Schieber) sind verschmutzt.	Die Linsen (Kondensator, Objektive, Okulare und Schieber) sind verschmutzt.
	Für Beobachtungen im Durchlicht darf die Dicke der Abdeckung 0,17 mm nicht überschreiten.	Verwenden Sie ein 0,17 mm starkes Deckglas.
	Die Fokussierung ist nicht homogen.	Das Vorbereitungsfach ist nicht waagerecht. Bewegen Sie die Probe, bis Sie die ideale Position gefunden haben.
	Es wird eine Probe verwendet, die sich nicht für die Dunkelfeldbeobachtung eignet	Verwenden Sie ein geeignetes Probe
Eine Seite des Bildes ist nicht scharf abgebildet.	Der Revolver befindet sich nicht in der Mitte des Lichtweges.	Drehen Sie den Revolver, bis er mit einem Klick einrastet.
	Die Präparation ist nicht in der richtigen Position (z.B. geneigt).	Legen Sie die Präparation horizontal auf die Oberfläche.
	Die optische Qualität des Glashalters ist schlecht.	Verwenden Sie eine Folie von besserer Qualität.
II. Mechanischer System:		
Der makrometrische Knopf ist schwer zu drehen.	Einstellring zu fest spannen	Lösen Sie den Einstellring für die Spannung.
Die Fokussierung ist instabil.	Einstellring zu locker gespannt	Ziehen Sie den Einstellring für die Spannung an.
III. Elektrischer System:		
Die LED leuchtet nicht.	Das Gerät wird nicht mit Strom versorgt.	Überprüfen Sie den Anschluss des Netzkabels.
Die Helligkeit ist unzureichend.	Die Helligkeit wird niedrig eingestellt.	Einstellen der Helligkeit
Licht blinkt	Das Netzkabel ist nicht gut angeschlossen.	Überprüfen Sie die Kabelverbindung

IV. Beobachtungstubus:		
Das Sichtfeld ist für jedes Auge unterschiedlich.	Der Augenabstand ist nicht korrekt.	Einstellen des Augenabstandes
	Die Dioptrienkorrektur ist nicht richtig.	Einstellen der Dioptrienkorrektur
	Die Sehtechnik ist nicht korrekt, und der Bediener belastet sein Augenlicht.	Wenn Sie sich die Probe ansehen, konzentrieren Sie Ihren Blick nicht auf einen einzelnen Punkt, sondern betrachten Sie das gesamte verfügbare Sichtfeld. Schauen Sie regelmäßig weg und schauen Sie auf einen entfernten Punkt, dann gehen Sie zurück zur Analyse der Probe.
V. Mikrofotografie und Videoerfassung:		
Der Rand des Bildes ist nicht scharf abgebildet.	Bis zu einem gewissen Grad ist dies in der Natur der achromatischen Objektive begründet.	Um das Problem zu minimieren, stellen Sie die Blende auf die beste Position ein.
Lichtpunkte erscheinen auf dem Bild	Diffuses Licht tritt durch die Okulare oder den Sucher der Kamera / Kamera in das Mikroskop ein.	Okulare und Sucher mit einem dunklen Tuch abdecken.

Wiederverwertung

Gemäß dem Artikel 13 vom Dekret Nr. 151 vom 25.07.2005 “Umsetzung der Richtlinien 2002/95/EG, 2002/96/EG und 2003/108/EG in Bezug auf die Verwendung gefährlicher Stoffe in elektrischen und elektronischen Geräten sowie die Abfallentsorgung”.





Das Symbol vom Müllcontainer erscheint auf dem Gerät oder der Verpackung und weist darauf hin, dass das Produkt Ende des Lebens separat von anderen Abfällen entsorgt werden muss. Die getrennte Sammlung von Geräten, die am Ende Ihrer Lebensdauer sind, wird vom Hersteller organisiert. Der Benutzer, der dieses Gerät entsorgen möchtet, muss dann Kontakt mit dem Hersteller aufnehmen und der Vorgehensweise folgen, die zur separaten Entsorgung eingeführt geworden ist. Die korrekte Sammlung von Geräten um die nachfolgende Behandlung, Entsorgung und umweltfreundliche Wiederverwendung zu ermöglichen ist ein Beitrag um negative Auswirkungen auf der Umwelt und der Gesundheit zu vermeiden und die Wiederverwendung der Gerätkomponenten zu begünstigen. Die Illegale Entsorgung des Produkts vom Benutzer wird gemäß den geltenden Bestimmungen bestraft.

OPTIKA® S.r.l.
Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALY Tel.: +39 035.571.392
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

OPTIKA® Spain
spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA
usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China
china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® India
india@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Central America
camerica@optikamicroscopes.com

OPTIKA®
ITALY

Série B-510

MANUAL DE INSTRUÇÕES

Modelo
B-510DK

Ver. 2.5 2023

Tabela de Conteúdos

1. Advertência 138
2. Informações sobre a segurança 138
3. Conteúdo da embalagem 139
4. Desembalando 140
5. Utilização prevista 140
6. Simbolos 140
7. Descrição do instrumento 141
8. Montagem 143
9. Procedimentos de observação em campo claro 145
10. Procedimentos de observação em campo escuro 146
11. Uso do microscópio 147
 11.1 Ajuste da intensidade da luz 147
 11.2 Regulação da tensão 147
 11.3 Alavanca de bloqueio do foco 147
 11.4 Platina 147
 11.5 Compensação dióptrica 148
 11.6 Ajustar a distância interpupilar 148
 11.7 Uso de ilhós de borracha 148
 11.8 Centragem de condensador de campo claro 149
 11.9 Efeitos do diafragma de campo 149
 11.10 Diafragma de abertura 149
12. Microscopia de campo escuro 150
 12.1 Princípios da microscopia imersa em óleo 150
 12.2 Princípios de Iluminação em campo escuro 152
 12.3 Microscopia de campo escuro de alta ampliação 153
 12.4 Centragem de condensador de campo escuro 154
13. Microfotografia 157
 13.1 Usando câmaras de paso “C” 157
 13.2 Uso de câmaras Reflex 157
14. Manutenção 158
15. Resolução de problemas 159

Eliminação 161

1. Advertência

Este microscópio é um instrumento científico de alta precisão, projectado para durar um longo tempo com manutenção mínima; a sua realização respeita os melhores padrões ópticos e mecânicos, para que possa ser utilizado diariamente. Recordamos que este manual contém informações importantes para a segurança e a manutenção do instrumento, portanto deve ser colocado à disposição daqueles que o irão utilizar. O fabricante exime-se de qualquer responsabilidade em caso de utilização do instrumento não indicada neste manual.

2. Informações sobre a segurança



Para evitar choques eléctricos

Antes de ligar o cabo de alimentação com a tomada eléctrica, certificar-se de que a tensão da rede local coincida com a tensão do instrumento e que o interruptor da iluminação esteja na posição “OFF”.
Os utilizadores deverão seguir todas as normas de segurança locais. O instrumento tem certificação CE. Em todo o caso, os utilizadores são os únicos responsáveis pela utilização segura do instrumento. Para a utilização com segurança do instrumento, é importante respeitar as seguintes instruções e ler completamente o manual.

3. Conteúdo da embalagem



① Estrutura
② Oculares
③ Objetivas
④ Cabeça de observação
⑤ Óleo de imersão
⑥ Chave Allen
⑦ Ferramenta de ajuste da tensão
⑧ Cobertura contra pó
⑨ Fonte de alimentação
⑩ Condensador de campo claro
⑪ Condensador de campo escuro
⑫ Telescópio de centragem

4. Desembalando

O microscópio é alojado em um recipiente de isopor moldado. Remova a fita da borda do recipiente e levante a metade superior do recipiente. Tome algum cuidado para evitar que os itens ópticos (objectivos e oculares) cair e ficar danificado. Usando ambas as mãos (uma ao redor do braço e outra ao redor da base), levante o microscópio do recipiente e coloque-o em uma mesa estável.



Não toque com as mãos nuas superfícies ópticas como lentes, filtros ou óculos. Vestígios de graxa ou outros resíduos podem deteriorar a qualidade final da imagem e corroer a superfície óptica em pouco tempo.

5. Utilização prevista

Modelos padrão

Apenas para uso em pesquisa e ensino. Não se destina a qualquer uso terapêutico ou diagnóstico animal ou humano.

Modelos IVD

Também para uso diagnóstico, visando a obtenção de informações sobre a situação fisiológica ou patológica do indivíduo.

6. Simbolos

A tabela seguinte apresenta os símbolos utilizados neste manual.



PERIGO

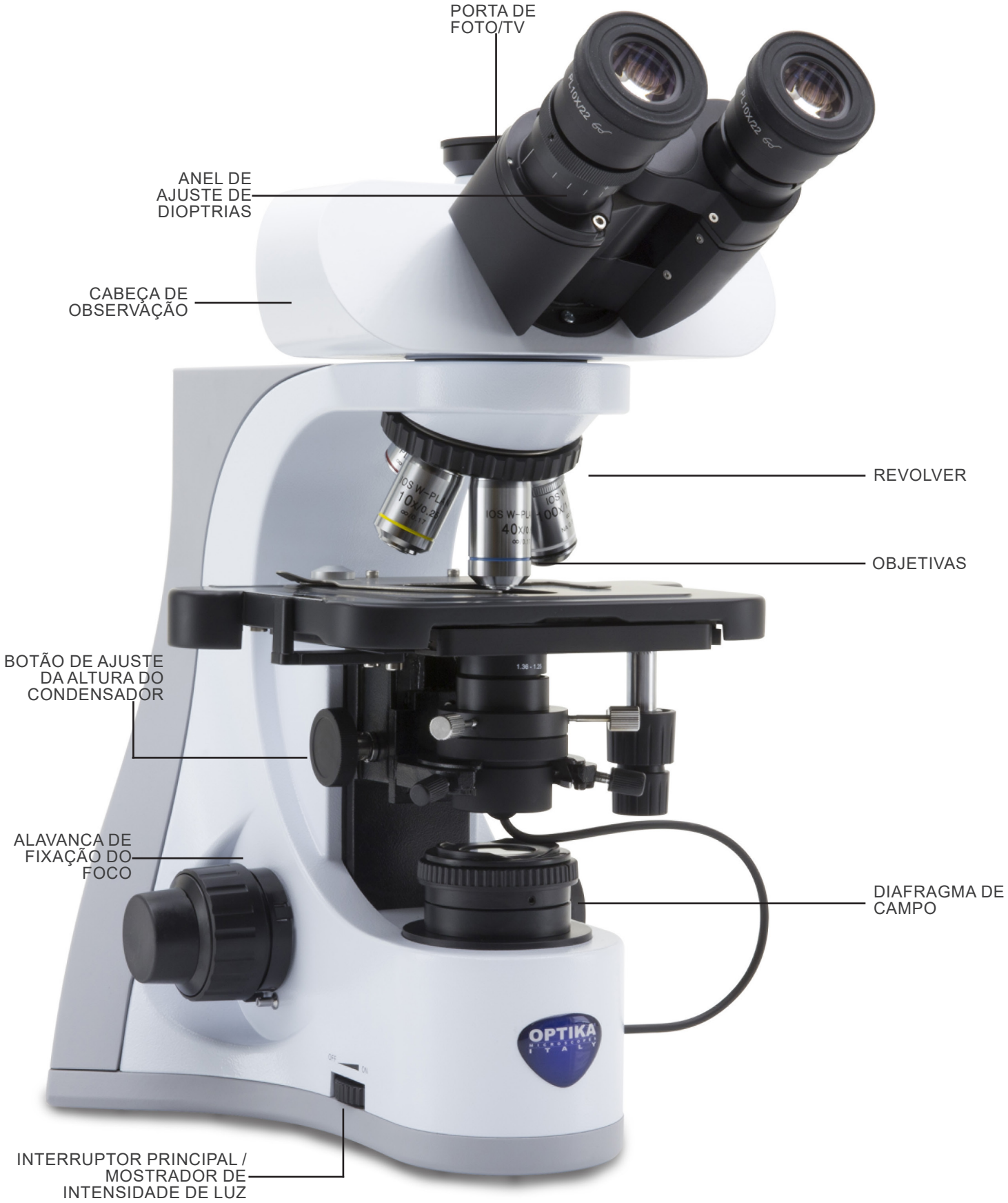
Este símbolo indica um risco potencial e adverte que é preciso proceder com cuidado.



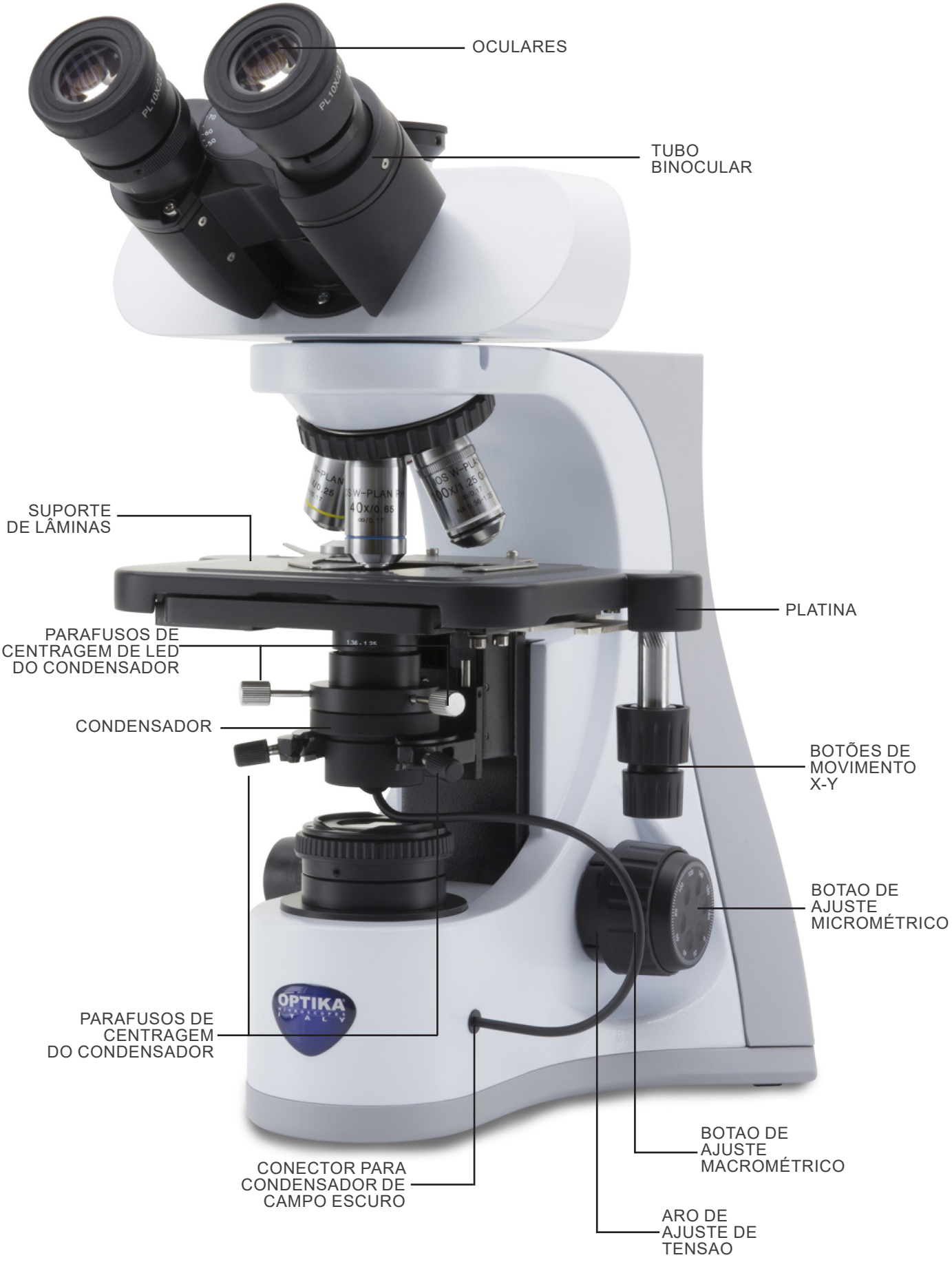
CHOQUE ELÉCTRICO

Este símbolo indica um risco de choque eléctrico.

7. Descrição do instrumento



Lado oposto


OCULARES
TUBO BINOCULAR
SUPORTE DE LÂMINAS
PLATINA
PARAFUSOS DE CENTRAGEM DE LED DO CONDENSADOR
CONDENSADOR
BOTÕES DE MOVIMENTO X-Y
BOTAO DE AJUSTE MICROMÉTRICO
PARAFUSOS DE CENTRAGEM DO CONDENSADOR
CONECTOR PARA CONDENSADOR DE CAMPO ESCURO
BOTAO DE AJUSTE MACROMÉTRICO
ARO DE AJUSTE DE TENSAO

8. Montagem

1. Insira a cabeça óptica acima do suporte e aperte o parafuso com a chave Allen fornecida. (Fig. 1)

- **Sempre segure a cabeça com uma mão ao apertar o parafuso para evitar que o parafuso caia para fora**.


Fig. 1

2. Insira as oculares nos tubos vazios da cabeça óptica. (Fig. 2)


Fig. 2

3. Aparafuse cada objetiva no revolver, no sentido horário com aumento da ampliação. (Fig. 3)


Fig. 3

4. Insira o conector da fonte de alimentação na tomada situada na parte traseira da estrutura. (Fig. 4)


Fig. 4

- **O microscópio vem com dois condensadores: um para campo claro e outro para campo escuro. Seleccione o condensador adequado para o método de observação desejado.**

5. Abaixe o suporte do suporte do condensador actuando sobre o parafuso de ajuste da altura ①. (Fig. 5)



6. Insira a cauda de andorinha do condensador no suporte do condensador. (Fig. 6)



7. Aperte o parafuso da tampa do condensador ②. (Fig. 7)

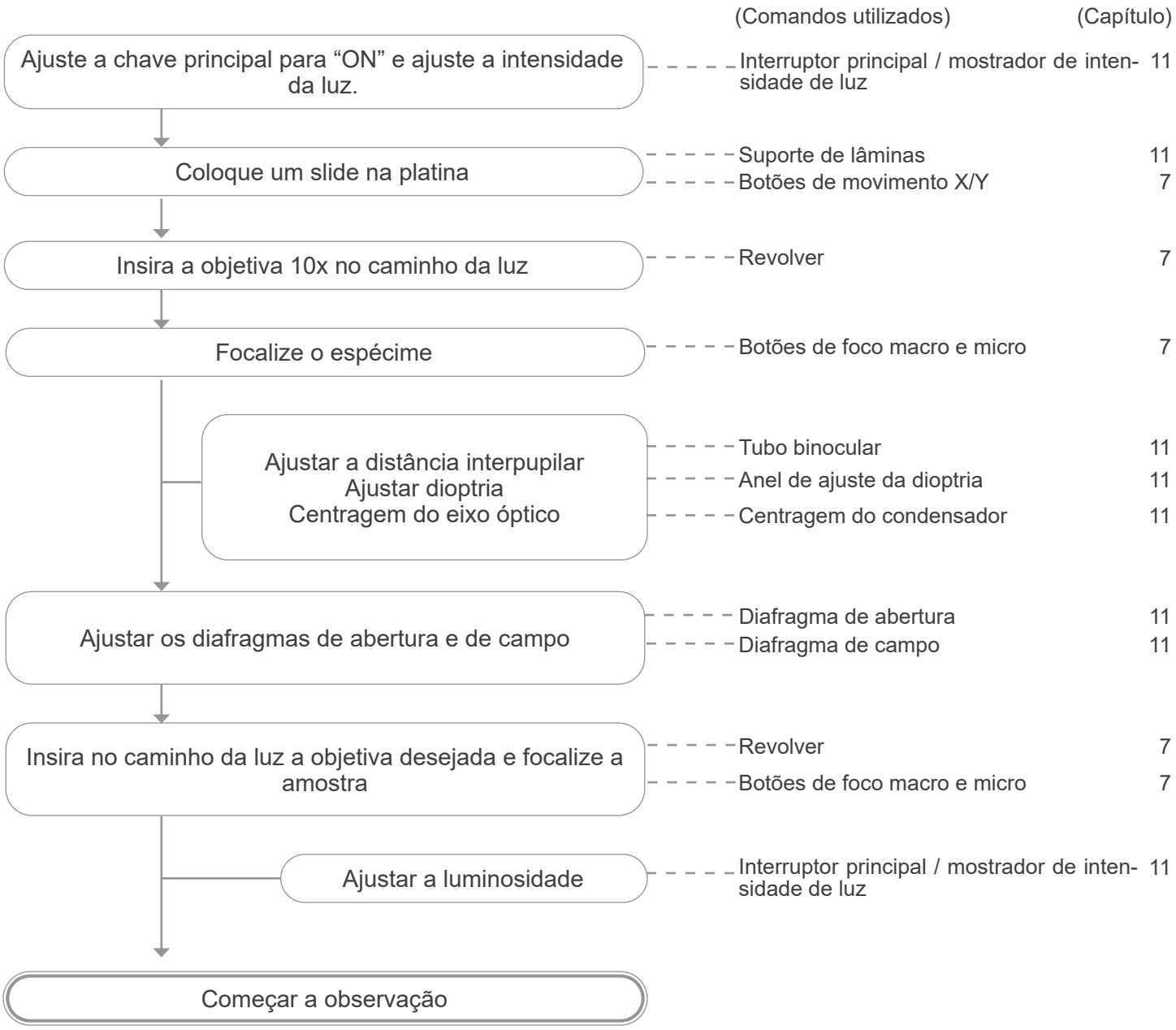


8. (Apenas para condensadores de campo escuro)
   Conecte o plugue do condensador ao conector do microscópio localizado na lateral da base. (Fig. 8)

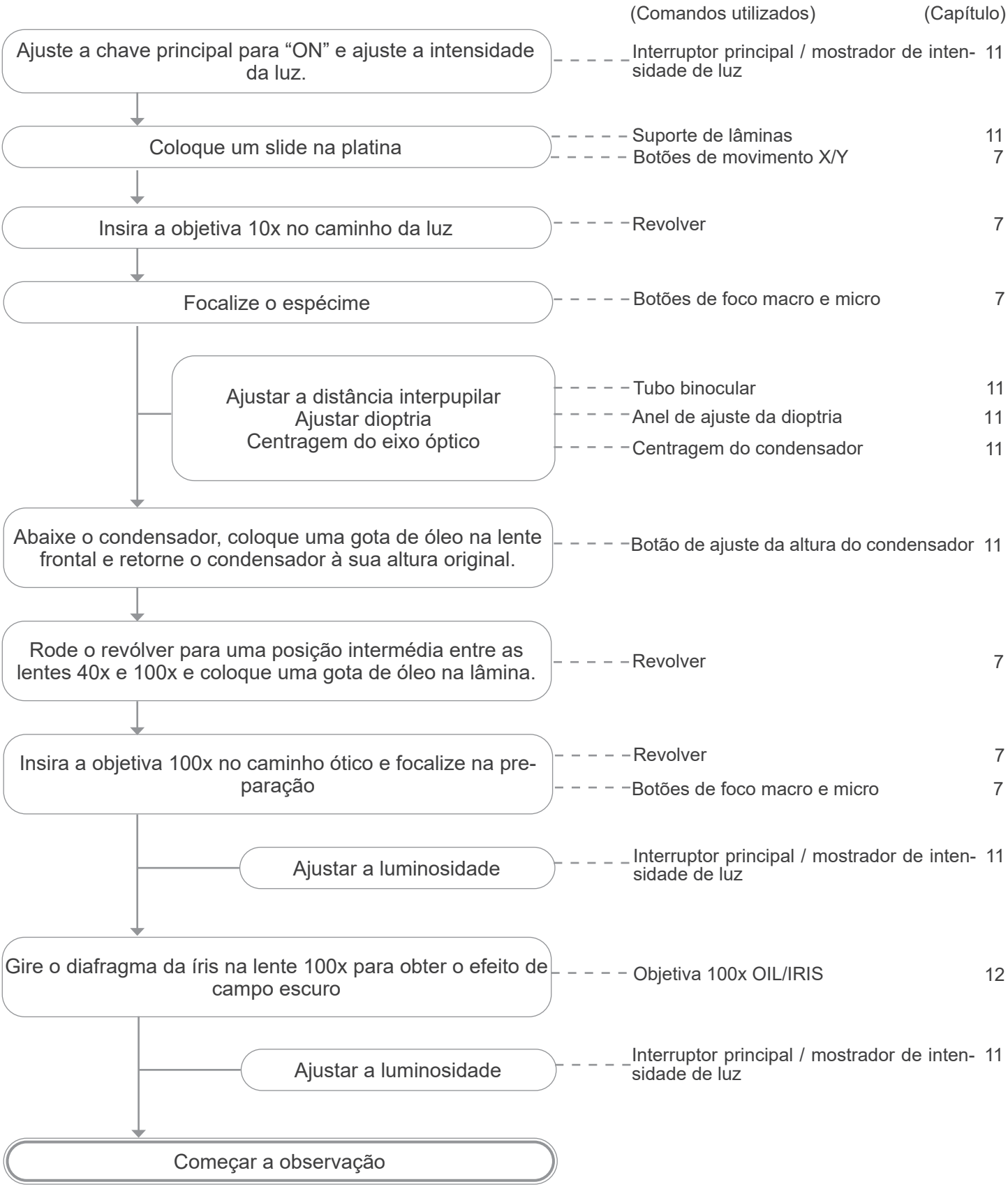
- **Quando você conecta o condensador, a luz do LED do microscópio se apaga e o LED dentro do condensador se acende.**



9. Procedimentos de observação em campo claro



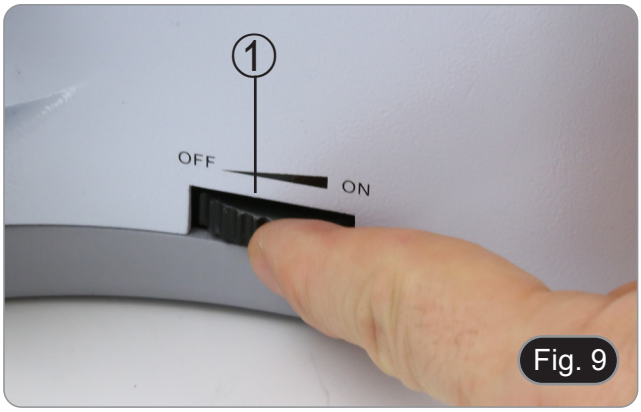
10. Procedimentos de observação em campo escuro



11. Uso do microscópio

11.1 Ajuste da intensidade da luz

Opere no botão de intensidade da luz ① para ligar/desligar o microscópio e para aumentar ou diminuir a intensidade da iluminação. (Fig. 9)



11.2 Regulação da tensão

- **Ajuste a embraiagem do manípulo com o anel de embraiagem.**

A embraiagem do botão de focagem macrométrica está predefinida de fábrica.
Para alterar a tensão de acordo com a sua preferência pessoal, rode a porca de anel ② utilizando a chave fornecida. (Fig. 10)
A rotação no sentido dos ponteiros do relógio aumenta a embraiagem. A tensão é demasiado baixa se a mesa descer sozinha por gravidade ou se o fogo se perder facilmente após um ajuste com o botão micrométrico. Neste caso, aumente a tensão rodando a porca de anel.

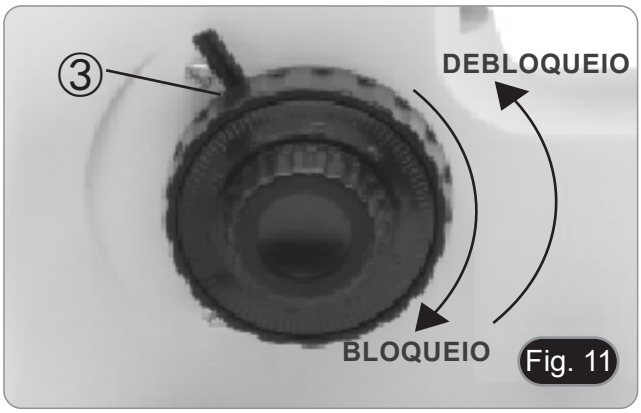


11.3 Alavanca de bloqueio do foco

O botão de limite superior tem duas funções: evitar o contacto entre o slide e a objetiva e actuar como memória de foco.

1. Depois de focar a amostra, rode o botão ③ e fixe-o. (Fig. 11)
   - Desta forma, o limite superior de focagem é definido.
2. Neste ponto, você pode baixar a tabela com o botão macrométrico, substituir a amostra e depois elevar a tabela para o ponto superior: a amostra estará aproximadamente no foco e você só terá que fazer um ajuste fino para obter o foco ideal.

- **O movimento micrométrico não é afectado pelo bloco de foco.**
- **Para desbloquear, mova o botão no sentido oposto ao utilizado para o bloqueio.**



11.4 Platina

A platina aceita slides padrão 26 x 76 mm, espessura 1,2 mm com coverlside 0,17 mm.
É possível colocar dois slides lado a lado na platina.

- **Abra o braço de mola do suporte de slides ④ e coloque os slides frontalmente na platina. (Fig. 12)**
- **Solte suavemente o braço da mola do suporte deslizante.**
- **Uma libertação súbita do braço da mola pode causar a queda da corrediça.**



11.5 Compensação dióptrica

1. Observar e focalizar o preparado olhando com o olho direito através da ocular direita.
2. Então, olhar através da ocular esquerda com o olho esquerdo. Se a imagem não for nítida, regular a compensação dióptrica utilizando o anel específico ①. (Fig. 13)

- **O intervalo de compensação é de ±5 dioptrias. O número indicado na escala no anel de compensação deve corresponder à correcção dióptrica do operador.**

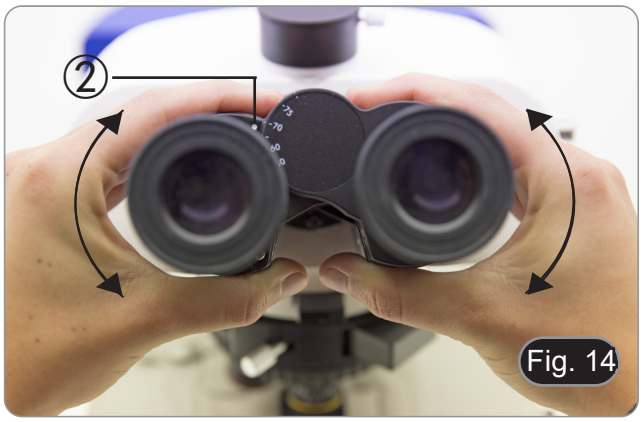


11.6 Ajustar a distância interpupilar

Observando com ambos os olhos, segurar o grupo de oculares. Rodá-lo ao longo do eixo comum até obter um único campo visual.

- **A escala graduada no indicador de distância interpupilar, indicada pelo ponto "." ② no suporte da ocular, mostra a distância interpupilar do operador. (Fig. 14)**

O alcance da distância interpupilar é de 48-75 mm.



11.7 Uso de ilhós de borracha

- **Usar com óculos de receituário**

Baixe as oculares de borracha com ambas as mãos. A presença dos piscas rebaixados evita arranhar as lentes dos óculos. (Fig. 15)



- **Usar sem óculos de receituário**

Levante os piscas e observe sob o microscópio, colocando os olhos sobre os piscas, de modo a evitar que a luz externa perturbe os olhos. (Fig. 16)



11.8 Centragem de condensador de campo claro

1. Coloque a amostra na platina, insira a objetiva 10X e focalize a amostra.
2. Insira a lente frontal do condensador oscilante no caminho óptico ①. (Fig. 17)
3. Gire o anel do diafragma de campo ② no sentido anti-horário para fechar completamente o diafragma.
4. Gire o botão de ajuste de altura ③ para focalizar as bordas do diafragma.
5. Gire os parafusos de centragem ④ para trazer a imagem do diafragma para o centro do campo de visão ④ .
6. Abre gradualmente o diafragma. O condensador é centralizado quando a imagem do diafragma é simétrica às bordas do campo de visão.
7. No uso normal, abra o diafragma até que ele circunscreva o campo de visão.

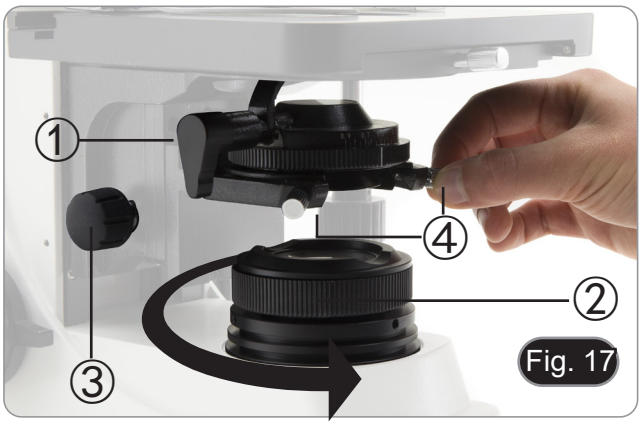
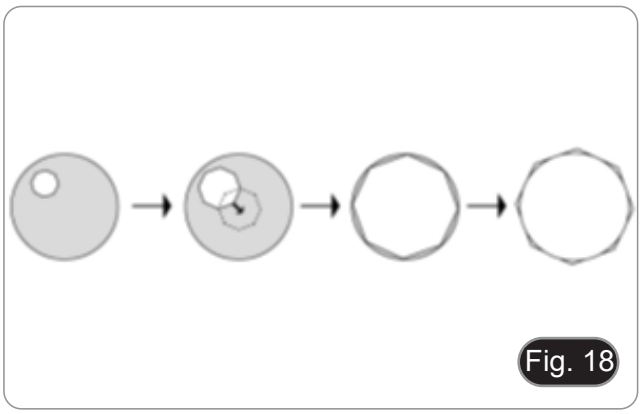


Fig. 17

11.9 Efeitos do diafragma de campo

O diafragma de campo ajusta a área iluminada para obter uma imagem de alto contraste.
Ajuste o diafragma de acordo com a objetiva em uso até que ele circoscribe o campo de visão, a fim de eliminar luz desnecessária às oculares. (Fig. 18)


Fig. 18

11.10 Diafragma de abertura

- O valor de abertura numérica (N.A.) do diafragma de abertura afecta o contraste da imagem. Aumentar ou reduzir este valor pode variar a resolução, o contraste e a profundidade de focagem da imagem.
- Para amostras com baixo contraste, defina o valor da abertura numérica ⑤ (mostrado no anel do condensador) para cerca de 70%-80% do A.N. da objectiva (Fig. 19). Se necessário, remova uma ocular e, olhando para o suporte da ocular vazio, ajuste a porca de anel do condensador até obter uma imagem como mostrado na fig. 20.

Por exemplo: com lente PLAN 40x / 0,65 ajuste a escala para 0,65 x 0,8 = 0,52



Fig. 19

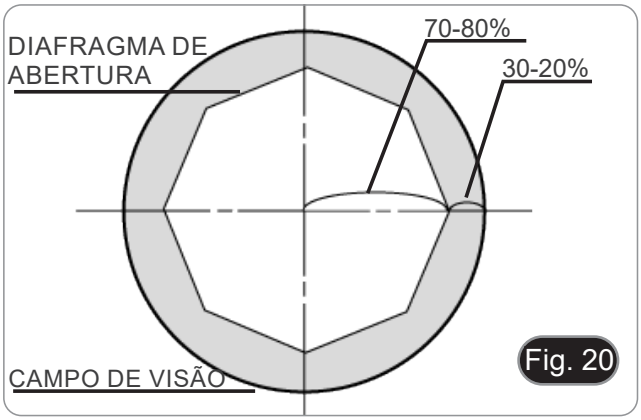


Fig. 20

12. Microscopia de campo escuro

O B-510DK é um microscópio de observação de campo escuro específico para análise de sangue com um condensador de campo escuro especial extra eficiente, com A.N. de 1.36 a 1.25 e uma objetiva acromática plana de 100x com diafragma ajustável.
A iluminação LED X fornece o alto nível de intensidade de luz normalmente exigido em técnicas de campo escuro de alta ampliação.

Para usar este microscópio corretamente, você precisa estar familiarizado com o seguinte:
a. técnica de imersão em óleo
b. técnica de campo escuro.

O seguinte manual introduz os princípios básicos destes métodos (parágrafos 12.1 e 12.2) e também um guia passo a passo para configurar o B-510DK (parágrafo 12.4).

Recomendações gerais para microscopia de imersão também são fornecidas.

12.1 Princípios da microscopia imersa em óleo

A capacidade do objetiva do microscópio de capturar os raios de luz desviados por uma amostra depende tanto da abertura numérica quanto do meio pelo qual a luz passa.

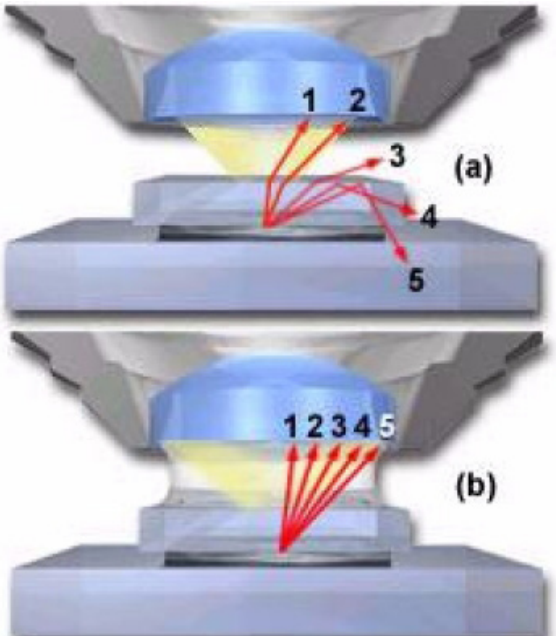
A abertura numérica de uma objectiva é directamente proporcional ao índice de refracção do meio entre a tampa da objectiva e a lente frontal, e também ao seno de metade da abertura angular da objetiva.

Uma vez que o seno não pode ser superior a 90 graus, a abertura numérica máxima possível é determinada pelo índice de refracção do meio de imersão.

A maioria das objectivas de microscópio usa o ar como meio através do qual os raios de luz devem passar entre a tampa protectora da amostra e a lente frontal da objetiva. Essas objectivas são chamadas de objectivas secas porque são usadas sem meios líquidos intermediários.

O ar tem um índice de refracção de 1.0003, muito próximo do vácuo e consideravelmente inferior ao da maioria dos líquidos, incluindo água (n = 1.33), glicerina (n = 1.470) e óleos comuns de imersão ao microscópio (média n = 1.515).

Na prática, a abertura numérica máxima de um sistema de objectivas secas é limitada a 0.95 e valores mais elevados só podem ser alcançados utilizando a óptica concebida para o meio de imersão.



Imersão em óleo e Abertura Numérica

Fig. 21

O princípio da imersão em óleo é demonstrado na Fig. 21, onde os raios de luz individuais são traçados através da amostra e passam pela objectiva ou são refractados em outras direcções. A Fig. 21(a) ilustra o caso de uma objectiva seca com cinco feixes (marcados de 1 a 5) que passam através de uma amostra coberta por um vidro de cobertura. Estes raios são refractados na interface ar/vidro e apenas os dois raios mais próximos do eixo óptico do microscópio (raios 1 e 2) têm o ângulo adequado para entrar na lente frontal da objectiva. O terceiro raio é refractado a um ângulo de aproximadamente 30 graus em relação à tampa da objectiva e não entra na objectiva. Os dois últimos feixes (4 e 5) são reflectidos internamente através da tampa da objectiva e, juntamente com o terceiro feixe, contribuem para reflexões internas de luz em superfícies de vidro que tendem a degradar a resolução da imagem.

Quando o ar é substituído por óleo com o mesmo índice de refracção que o vidro, mostrado na Fig. 21(b), os raios de luz passam directamente pela interface vidro-óleo sem desvio devido à refracção. A abertura numérica é então aumentada pelo factor n, o índice de refracção do óleo.

As objectivas de microscópio projectadas para uso com óleo de imersão têm uma série de vantagens sobre as objectivas secas. As objectivas de imersão são tipicamente de correcção superior (fluorita ou apocromato) e podem ter aberturas numéricas operando até 1.40 quando usadas com óleo de imersão de dispersão e viscosidade adequadas. Essas objectivas permitem que o diafragma do condensador seja aberto em maior extensão, estendendo assim a iluminação da amostra e aproveitando o aumento da abertura numérica.

Um factor que normalmente é negligenciado ao usar objectivas de imersão em óleo com abertura numérica aumentada são as limitações colocadas no sistema pelo condensador.
Em uma situação em que uma objectiva de óleo com NA = 1.40 é usada para observar uma amostra com um condensador de abertura numérica menor (1.0 por exemplo), a abertura numérica menor do condensador sobrescreve a da objectiva e a NA total do sistema é limitada a 1.0 (a abertura numérica do condensador).

Os condensadores modernos têm frequentemente um elevado grau de correcção com valores de abertura numéricos entre 1.0 e 1.40. Para utilizar eficazmente todos os benefícios da imersão em óleo, a interface entre a lente frontal do condensador sob a mesa e a parte inferior da lâmina de microscópio que contém a amostra deve ser imersa em óleo.
Um sistema ideal é apresentado esquematicamente na Fig. 22, onde o óleo de imersão foi colocado nas interfaces entre a lente frontal da objectiva e a lâmina de amostra e também entre a lente frontal do condensador e a parte inferior da lâmina de amostra.

Este sistema foi definido como um sistema de imersão homogéneo e é a situação ideal para alcançar a máxima abertura e resolução numérica em um microscópio óptico.

Neste caso, o índice de refracção e dispersão da lente frontal da objectiva, o óleo de imersão, a lente frontal do condensador e o meio de montagem são iguais ou muito próximos.

Neste sistema ideal, um feixe de luz oblíquo pode passar através da lente do condensador e completamente através da lâmina do microscópio, óleo de imersão e meio de montagem não sujeito a refracção em interfaces óleo-vidro ou montagem de vidro médio.

Ao usar objectivas de imersão em óleo acromática de alta ampliação, às vezes é possível omitir a fase de lubrificação da lente superior do condensador. Isso ocorre porque o diafragma de abertura do condensador geralmente precisa ser reduzido com objectivas menos corretas para eliminar artefactos e fornecer imagens ideais.



Sistema de imersão homogénea

Fig. 22

A redução do tamanho do diafragma reduz o potencial de aumento da abertura numérica (fornecido pela lubrificação da lente do condensador), pelo que a perda de qualidade de imagem nestas condições é geralmente insignificante. A microscopia de campo escuro é uma técnica de iluminação especializada que usa iluminação oblíqua para melhorar o contraste em amostras que não podem ser bem observadas sob condições normais de iluminação de campo de luz.

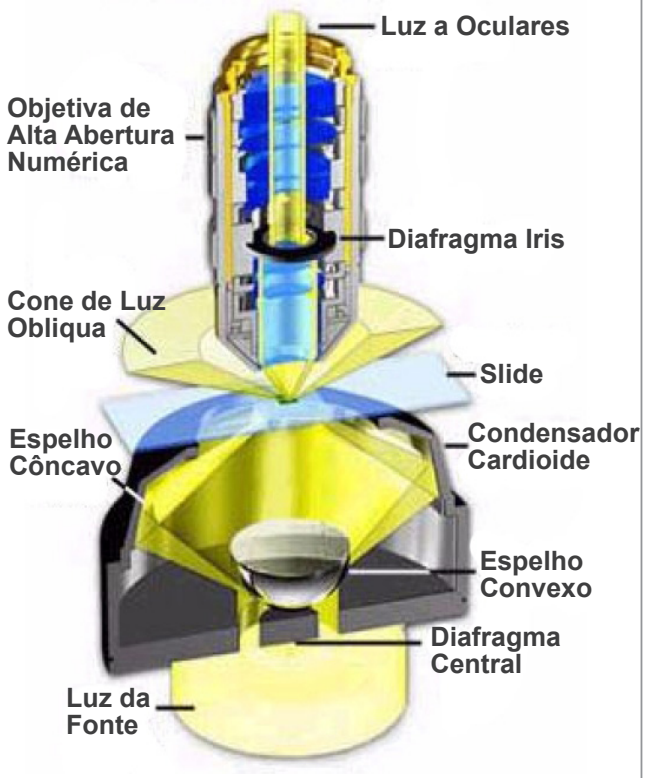
Todos nós estamos bastante familiarizados com a aparência e visibilidade das estrelas numa noite escura, apesar de suas enormes distâncias da terra. As estrelas podem ser vistas por causa do forte contraste entre a sua fraca luz e o céu negro.

12.2 Princípios de Iluminação em campo escuro

Este princípio é aplicado na microscopia de campo escuro, um método simples e popular para tornar os objectos incolores claramente visíveis.
Estes objectos têm frequentemente índices de refracção muito próximos dos do meio envolvente e são difíceis de imaginar na microscopia de campo de luz convencional.
Por exemplo, muitos pequenos organismos aquáticos têm um índice de refracção entre 1.2 e 1.4, o que resulta numa diferença óptica negligenciável em relação ao meio aquoso circundante. Estes são os candidatos ideais para a iluminação de campo escuro.

A iluminação do campo escuro requer o bloqueio da luz central que normalmente atravessa e envolve a amostra, permitindo apenas que os raios oblíquos de cada azimute “atinjam” a amostra montada na lâmina de microscópio. A lente superior de um condensador de campo escuro Abbe simples é esférica côncava, permitindo que os raios de luz que emergem da superfície em todo o azimute formem um cone de luz invertido com um ápice centrado no plano da amostra.
Se nenhuma amostra estiver presente e a abertura numérica do condensador for maior que a do alvo, os raios oblíquos se cruzam e todos esses raios não entram no alvo por causa de sua obliquidade. O campo de visão aparecerá escuro.

O condensador/objetiva para montagem em campo escuro mostrado na Fig. 23 é um sistema de alta abertura numérica que representa a microscopia de campo escuro em sua configuração mais sofisticada e que será discutido em detalhes abaixo.
A objetiva contém um diafragma de íris interno que serve para reduzir a abertura numérica da objectiva a um valor inferior ao do cone de luz vazio invertido emitido pelo condensador.
O condensador cardióide é um projecto reflexivo de campo escuro que se baseia em espelhos internos para projectar um cone de luz livre de aberrações no plano da amostra.



Condensador Cardioide para Campo Escuro

Fig. 23

Quando uma amostra é colocada sobre a lâmina, particularmente uma amostra incolor que não absorve luz, os raios oblíquos passam através da amostra e são difractados, reflectidos e/ou refractados por descontinuidades ópticas (como a membrana celular, o núcleo e as organelas internas), permitindo que estes raios fracos entrem na objectiva.

A amostra pode então ser vista brilhante contra um fundo que, de outro modo, seria preto.

Em termos de óptica de Fourier, a iluminação de campo escuro remove a ordem zero (luz não ampliada) do padrão de difracção formado no plano focal traseiro da objetiva.

Isso resulta em uma imagem que consiste exclusivamente em intensidades de difracção de ordem superior espalhadas pela amostra.

Os candidatos ideais para iluminação de campo escuro incluem pequenos organismos aquáticos vivos, diatomáceas, pequenos insecto, ossos, fibras, cabelo, bactérias incolores, leveduras e protozoários.

As amostras não-biológicas incluem cristais minerais e químicos, partículas coloidais, amostras de partículas de poeira e secções finas de polímeros e cerâmicas contendo pequenas inclusões, diferenças de porosidade ou gradientes de índice de refracção.

Deve-se ter cuidado ao preparar amostras para microscopia de campo escuro, pois as características acima e abaixo do plano de foco também podem dispersar a luz e contribuir para a degradação da imagem.

A espessura da amostra e a espessura da lâmina de microscópio também são muito importantes e, em geral, uma amostra fina é desejável para eliminar a possibilidade de artefactos diffrativos que possam interferir na formação da imagem.

12.3 Microscopia de campo escuro de alta ampliação

Para um trabalho mais preciso e fundos mais escuros, você pode escolher um condensador projectado especificamente para o campo escuro, ou seja, para transmitir apenas raios oblíquos.

Existem várias variedades: condensadores de campo escuro “secos” com ar entre a parte superior do condensador e a parte inferior da lâmina, e condensadores de campo escuro de imersão que requerem o uso de uma gota de óleo por imersão (alguns são projectados para usar água) que faz contacto entre a parte superior do condensador e a parte inferior da lâmina de amostragem.

O condensador de imersão campo escuro tem superfícies internas espelhadas e passa raios de grande obliquidade e sem aberração cromática, produzindo os melhores resultados e o fundo mais preto.

Talvez o condensador de campo escuro mais amplamente usado é o parabolóide, consistindo em uma parte de vidro sólido que foi dada uma forma muito precisa de um parabolóide. Como discutido acima, o condensador de campo escuro seco é útil para objetivas com aberturas numéricas abaixo de 0.75, enquanto os condensadores de imersão cardióides e parabolóides (Fig. 22) podem ser usados com objetivas de abertura numérica muito alta (até 1.4).
As objectivas com uma abertura numérica superior a 1.2 requerem uma redução da sua abertura de trabalho, uma vez que a sua abertura numérica máxima pode exceder a abertura numérica do condensador, permitindo assim que a luz directa entre na objectiva.
Por esta razão, muitas objetivas com grandes aberturas numéricas projectadas para uso com iluminação de campo escuro e campo claro são feitas com um diafragma de íris ajustável incorporado que actua como um batente do diafragma.

Esta redução na abertura numérica também limita o poder de resolução da objectiva e a intensidade da luz na imagem. As objectivas especializadas concebidas exclusivamente para trabalho em campo escuro são produzidas com uma abertura numérica máxima próxima do limite inferior da abertura numérica do condensador de campo escuro.
Eles não têm diafragmas de íris internos, porém os diâmetros de montagem da objetiva são ajustados de modo que pelo menos uma lente interna tenha o diâmetro ideal para funcionar como um limitador de abertura.

O condensador cardióide é muito sensível ao alinhamento e deve ser posicionado com cuidado para aproveitar o cone de iluminação muito nítido, tornando o condensador de campo escuro mais difícil de usar.
Além disso, o condensador produz uma quantidade significativa de brilho, mesmo a partir das partículas de pó mais pequenas, e a distância focal curta pode causar uma iluminação deficiente em objectos que excedam alguns mícrons em tamanho ou espessura.
Ao escolher as lâminas de microscópio de campo escuro de alta ampliação, certifique-se de seleccionar as lâminas feitas de uma mistura de vidro livre de impurezas fluorescentes.

Particular atenção deve ser dada aos detalhes da lubrificação de um condensador de alta abertura na parte inferior da lâmina de amostra. É muito difícil evitar a introdução de pequenas bolhas de ar na área entre a lente superior do condensador e a parte inferior da lâmina de microscópio e esta técnica deve ser perfeitamente praticada.
Bolhas de ar causarão brilho e distorção da imagem, resultando em perda de contraste e degradação geral da imagem.

Problemas também ocorrem ao usar lâminas de microscópio que são muito grossas ou muito finas.
Muitos condensadores de campo escuro contêm a faixa de espessura da guia utilizável gravada directamente no suporte do condensador.
Se a lâmina for muito grossa, muitas vezes é difícil focar no condensador sem usar um óleo de imersão de maior viscosidade. Por outro lado, lâminas muito finas tendem a quebrar a ligação de óleo entre o condensador e a lâmina. É uma boa ideia comprar lâminas de microscópio com a espessura correta para evitar um dos problemas mencionados acima.

Os condensadores de alta abertura, destinados a utilização a seco ou oleada, devem ser cuidadosamente centrados no percurso óptico do microscópio para um desempenho óptimo.
Para conseguir isso, muitos condensadores de campo escuro são construídos com um pequeno círculo gravado na superfície superior para facilitar a centragem do condensador. A centragem é realizada com uma objetiva de baixa ampliação (10x-20x), observando o círculo gravado e utilizando os parafusos de centragem do condensador para garantir que o círculo (e o condensador) estão centrados corretamente no percurso óptico.

12.4 Centragem de condensador de campo escuro

1. Seleccione uma amostra para campo escuro e coloque-a na platina do microscópio
2. Insira a objetiva de 10x no caminho óptico e focalize.

- **O condensador irá projectar um ponto brilhante na amostra que pode ser usado para centrar o caminho óptico.**

3. Use os parafusos de centragem do condensador ① para mover o anel de luz para o centro do campo de visão. (Fig. 24)

- **Pode ser útil variar a altura do condensador para ver o ponto.**
- **Muitas vezes é vantajoso usar uma objetiva de 10x de baixa potência ao centralizar condensadores de campo escuro de alta abertura numérica.**
- **Observando uma amostra com a objetiva 10x enquanto levanta e abaixa lentamente o condensador, você alcançará um ponto onde um ponto brilhante aparecerá no campo de visão como mostrado na Fig. 25 (a). Quando o condensador estiver ligeiramente levantado ou baixado, aparecerá um ponto escuro semelhante ao mostrado na Fig. 25 (b), se o condensador estiver centralizado correctamente. Nos casos em que o condensador não está correctamente alinhado e centrado, pode aparecer um campo de visão típico, como mostrado nas Fig. 25(c) e (d). O posicionamento ideal e correto do condensador é mostrado na Fig. 25 (a), e o condensador deve ser ajustado até que o campo de visão apareça desta forma, com os parafusos de centragem do condensador.**



Fig. 24

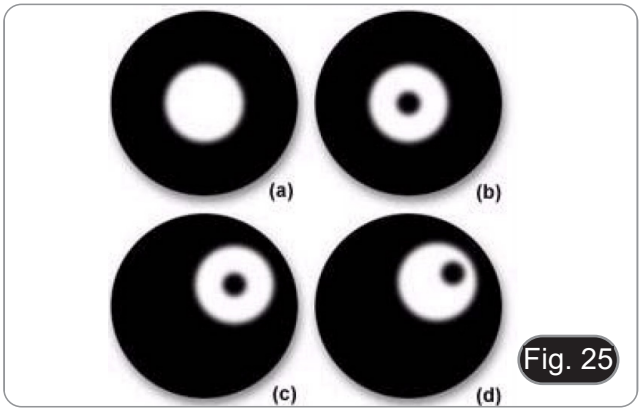
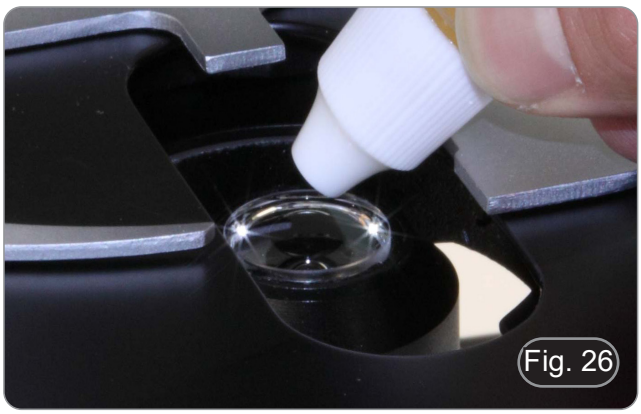


Fig. 25

4. Remova a lâmina e coloque uma gota de óleo (fornecido) na lente frontal do condensador. (Fig. 26)

- **Certifique-se de que não há bolhas de ar. Bolhas de ar no óleo irão danificar a qualidade da imagem.**

5. Reposicione a lâmina e levante o condensador até que o óleo na lente frontal do condensador esteja em contacto com a lâmina.
6. Coloque a área a ser observada no centro do percurso óptico utilizando uma objetiva de baixa ampliação (10x ou 40x).
7. Focalizar a amostra.


Fig. 26

8. Insira a objetiva 100x Oil/Iris no caminho óptico. Este pré-posiciona todos os componentes do sistema em preparação para a adição de óleo. Mova a objetiva de imersão para uma posição de revólver adjacente e aplique óleo na amostra. (Fig. 27)



Fig. 27

9. Na prática, você terá que ter a situação onde a lâmina é completamente imersa em óleo tanto na parte inferior (interface condensador-vidro) ①, quanto na parte superior (interface objetiva-vidro) ②. (Fig. 28)

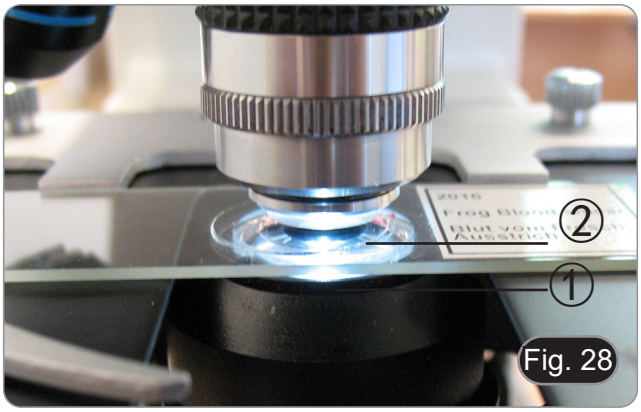
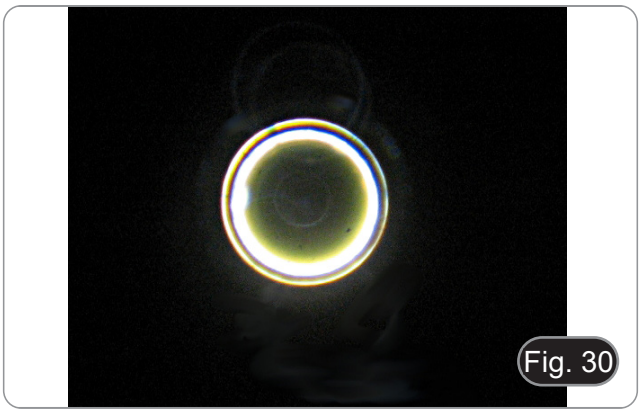


Fig. 28

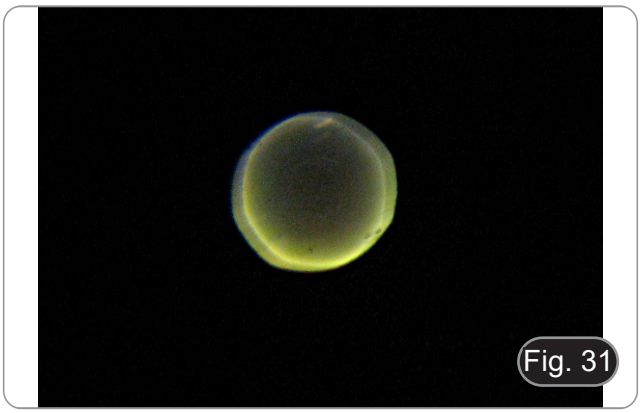
10. Remova uma ocular e insira o telescópio de centragem no suporte da ocular vazio. (Fig. 29)


Fig. 29

11. Gire a parte superior do telescópio de centragem para focar a imagem do anel de luz visível na periferia do campo de visão. (Fig. 30)


Fig. 30

- **Se o condensador não estiver perfeitamente centrado ou se o condensador não estiver na altura exacta (demasiado alto ou demasiado baixo), a imagem projectada será como na Fig. 31.**


Fig. 31

12. Optimize a centragem do condensador girando o botão de ajuste de altura do condensador e os parafusos de centragem do condensador ① e o LED ②. (Fig. 32)

13. Após a centragem ideal do condensador, remova o telescópio de centragem e reposicione a ocular. Agora pode prosseguir com a observação.



Fig. 32

14. A objetiva 100x tem um diafragma de íris interno projectado para permitir o ajuste da abertura numérica. Gire a abertura para fechar a íris. (Fig. 31)

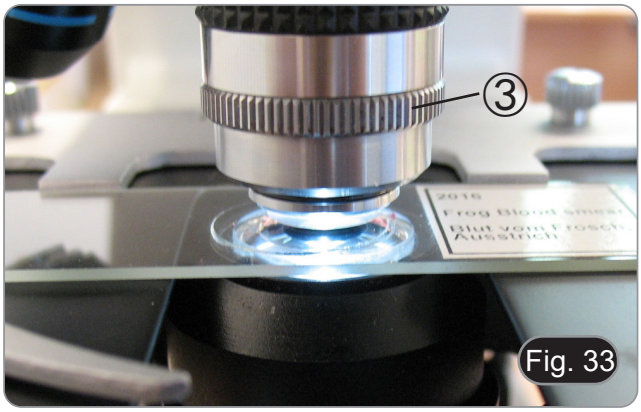
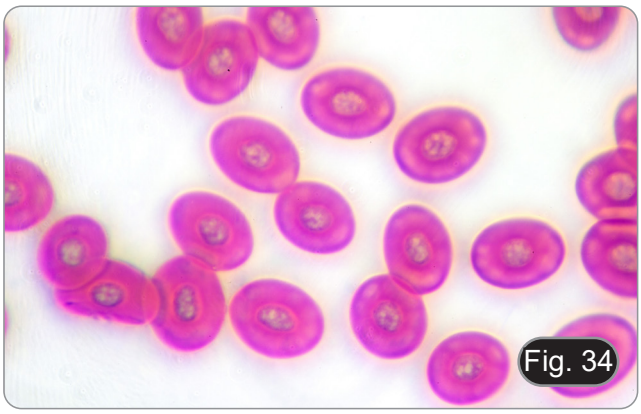
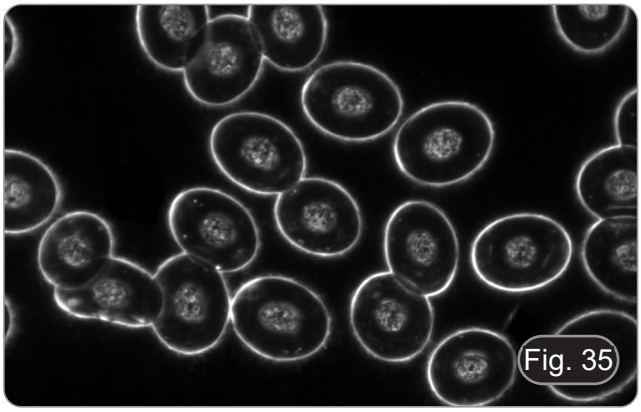


Fig. 33

15. O efeito que será obtido ao passar de uma íris completamente aberta (observação semelhante a um campo claro) para uma íris completamente fechada (observação num campo escuro) é ilustrado nas Fig. 34 e 35.


Fig. 34


Fig. 35

13. Microfotografia

13.1 Usando câmaras de paso “C”

1. Desaperte o parafuso de aperto ① na porta trinocular e retire a tampa do pó ②. (Fig. 36)

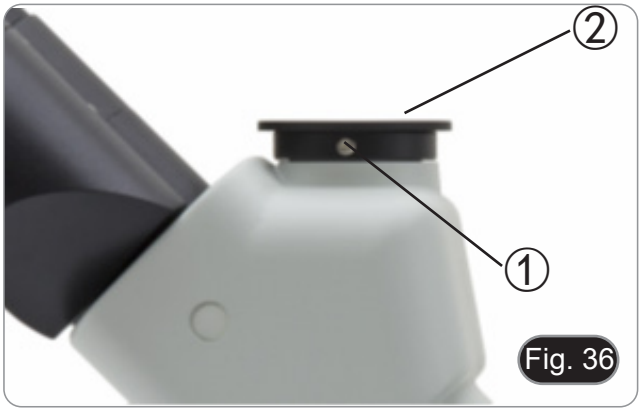


Fig. 36

2. Aparafuse o adaptador C-mount ③ à câmara ④ e insira o encaixe redondo do C-mount no orifício vazio da porta trinocular, depois aperte o parafuso de aperto ①. (Fig. 37)



Fig. 37

13.2 Uso de câmaras Reflex

1. Insira o adaptador Reflex ① no tubo do relé no microscópio ②.
2. Aparafusar o anel “T2” ③ (não fornecido) ao adaptador de reflex.
3. Conecte a câmara Reflex ④ ao anel “T2” recém-instalado. (Fig. 38)
4. Monte a extremidade do tubo de ligação ② no orifício vazio do tubo trinocular e, em seguida, aperte o parafuso de aperto. (Fig. 36)

- O anel “T2” não é fornecido junto com o microscópio, mas está disponível comercialmente.
- Ao fotografar amostras escuras, escureça as oculares e o visor com um pano escuro para minimizar a luz difusa.
- Para calcular a ampliação da câmara: ampliação da objectiva * ampliação da câmara * ampliação da câmara * ampliação da objectiva.
- **Ao usar uma câmara SLR, o movimento espelhado pode fazer com que a câmara vibre.**
- **Sugerimos que levante o espelho, utilizando tempos de exposição longos e um cabo remoto.**



Fig. 38

14. Manutenção

Ambiente de trabalho

Recomenda-se de utilizar o microscópio em um ambiente limpo e seco, sem o risco de colisões, a uma temperatura entre 0°C e 40°C e com uma humidade relativa máxima de 85% (em ausência de condensação). Recomenda-se o uso de um desumidificador, se necessário.

Antes e depois da utilização do microscópio



- Manter o microscópio sempre em posição vertical quando se o desloca.
- Certificar-se além disso que as partes móveis, por exemplo os oculares, não caiam.
- Não manusear sem precauções e não usar força inútil no microscópio.
- Não tentar fazer qualquer reparação por si próprio.
- Depois do uso desligar imediatamente a lâmpada, cobrir o microscópio com a sua protecção anti-pó fornecida e mantê-lo em um lugar seco e limpo.

Precauções para um uso seguro



- Antes de ligar a fonte de alimentação à rede eléctrica certificar-se que a tensão local seja adequada à do aparelho e que o interruptor da lâmpada esteja posicionado no off.
- Seguir todas as precauções de segurança da zona na qual se trabalha.
- O aparelho é aprovado segundo as normas de segurança CE. Os utilizadores têm, de qualquer modo plena responsabilidade sobre a utilização em segurança do microscópio.

Limpeza das lentes

- Caso as lentes necessitem de ser limpas, utilizar em primeiro lugar ar comprimido.
- Se não for suficiente usar um pano que não deixe fiapos, húmido com água e um detergente delicado.
- Em último caso é possível usar um pano humedecido com uma solução 3:7 de álcool etílico e éter.
- **Atenção: o álcool etílico e o etanol são substâncias altamente inflamáveis. Não usar junto a uma fonte de calor, faíscas ou junto a aparelhos eléctricos. As substâncias devem ser manuseadas em um lugar bem ventilado.**
- Não esfregar as superfícies de nenhuma lente com as mãos. As impressões digitais poderão danificar as lentes.
- Não desmontar as objetivas ou os oculares para tentar limpá-los.

Para um melhor resultado utilizar o kit de limpeza OPTIKA (ver catálogo).

Se for necessário enviar o microscópio ao fabricante para a sua manutenção, pede-se que seja utilizada a embalagem original.

15. Resolução de problemas

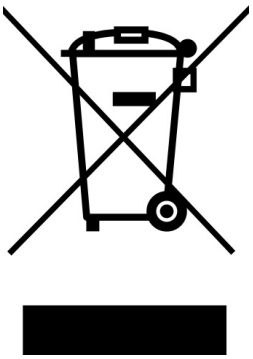
Reveja a informação na tabela abaixo para tentar solucionar problemas de operação.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUÇÃO
I. Secção Óptica:		
O LED funciona, mas o campo de visão permanece escuro	O plugue do suporte da lâmpada não está conectado ao grupo de iluminação	Conecte-os
	O brilho é muito baixo	Defina um ajuste apropriado
O campo de visão está obscurecido ou não está uniformemente iluminado	O revolver não está correctamente engatado	Certifique-se de que o revolver encaixa corretamente no lugar.
	O óleo não está presente ou não está em quantidade suficiente na lente frontal do condensador e na lâmina	Verificar a presença correcta de óleo
Pó e manchas podem ser vistas no campo de visualização	Há manchas e pó na amostra	Limpe a amostra
	Há manchas e pó na ocular	Limpe a ocular
A imagem (usando o microscópio no campo claro) aparece duplicada.	O tamanho do diafragma de abertura é muito pequeno	Abra o diafragma de abertura
	O condensador não está bem centrado ou está em uma altura errada	Ajuste o condensador de acordo com os ajustes de Koehler.
Qualidade da imagem insatisfatória: • A imagem não é nítida; • O contraste não é alto; • Os detalhes não são claros	O revolver não está no centro do percurso da luz	Rode o revolver para o bloqueio com clique
	O diafragma de abertura na visualização do campo claro está aberto demais ou muito pouco	Ajuste o diafragma de abertura
	As lentes (condensador, objectiva, oculares, muestra) estão sujas	Limpe totalmente todo o sistema óptico
	Para a observação da luz transmitida, a espessura do vidro de cobertura não deve exceder 0,17 mm.	Use um vidro de cobertura com espessura de 0,17mm
	O foco não é sequer	O suporte da muestra não é plano. Mova a amostra para uma posição plana.
	Está a ser utilizada uma amostra não adequada para observação em campo escuro	Utilizar uma amostra adequada
Um lado da imagem está for a de foco	O revolver não está no centro do percurso da luz	Rode o revolver para um bloqueio com clique
	A amostra está fora do lugar (saltou)	Coloque a amostra plana sobre a platina.
	O desempenho óptico do vidro de cobertura da amostra é fraco	Use um vidro de cobertura de melhor qualidade
II. Secção Mecânica:		
O botão do foco macro está difícil de rodar	O anel de ajuste da tensão está muito apertado	Solte o anel de ajuste da tensão
O foco é instável	O anel do ajuste da tensão está muito solto	Aperte o anel de ajuste da tensão
III. Secção eléctrica:		
O LED não liga.	Sem fonte de alimentação	Verifique a conexão do cabo de alimentação
O brilho não é suficiente	O ajuste de brilho é baixo	Ajuste o brilho
A luz pisca	O cabo de alimentação está mal conectado	Verifique o cabo de alimentação

IV. Tubo de visão:		
O campo de visualização dos dois olhos é diferente	A distância interpupilar não é correcta	Ajuste a distância interpupilar
	A correcção dióptrica não é correcta	Ajuste a correcção dióptrico
	A técnica de visualização não é correcta e o operador está a deformar o alcance da vista	Ao olhar numa objectiva, não fixe o olhar na amostra mas olhe todo o campo de visualização. Periodicamente, retire o olhar para olhar para um objecto distante, depois volte para a objectiva
V. Microfotografia e vídeo:		
O canto da imagem não pode ser focado	Para alguns graus, é inerente à natureza das objectivas acromáticas	O problema pode ser diminuído com um ajuste correcto do diafragma de abertura
Manchas brilhantes aparecem na imagem	Luz difusa está a entrar no microscópio através das oculares e através do visor da câmara	Cubra as oculares e o visor com um pano escuro

Eliminação

Art.13 Dlsg 25 de Julho de 2005 N°151. “De acordo com as Directivas 2002/95/CE, 2002/96/CE e 2003/108/CE relativas à redução do uso de substâncias perigosas em equipamentos eléctricos e electrónicos e à eliminação de resíduos.





O símbolo do cesto no equipamento ou na sua caixa indica que o produto no final da sua vida útil deve ser recolhido separadamente dos outros resíduos. A recolha separada deste equipamento no final da sua vida útil é organizada e gerida pelo produtor. O utilizador terá de contactar o fabricante e seguir as regras que adoptou para a recolha de equipamentos fora de uso. A recolha dos equipamentos para reciclagem, tratamento e eliminação compatível com o ambiente ajuda a prevenir possíveis efeitos adversos no ambiente e na saúde e promove a reutilização e/ou reciclagem dos materiais dos equipamentos. O descarte inadequado do produto envolve a aplicação de sanções administrativas previstas na legislação em vigor.

OPTIKA® S.r.l.
Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALY Tel.: +39 035.571.392
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

OPTIKA® Spain
spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA
usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China
china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® India
india@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Central America
camerica@optikamicroscopes.com