

Phase contrast

INSTRUCTION MANUAL

	Model
	B-380
	B-500
	B-800
	B-1000

Version: 2
Issued: 18, 08, 2014



Table of Contents

Introduction to phase contrast

Setup on B-380 microscopes

Setup on B-500 B-800 B-1000 microscopes

Introduction to phase contrast

Unstained specimens that do not absorb light are called phase objects because they slightly alter the phase of the light diffracted by the specimen, usually by retarding such light approximately $1/4$ wavelength as compared to the undeviated direct light passing through or around the specimen unaffected. Unfortunately, our eyes as well as camera film, are unable to detect these phase differences. To reiterate, the human eye is sensitive only to the colors of the visible spectrum (variations in light frequency) or to differing levels of light intensity (variations in wave amplitude).

In phase specimens, the direct zeroth order light passes through or around the specimen undeviated. However, the light diffracted by the specimen is not reduced in amplitude as it is in a light-absorbing object, but is slowed by the specimen because of the specimen's refractive index or thickness (or both). This diffracted light, lagging behind by approximately $1/4$ wavelength, arrives at the image plane out of step (also termed out of phase) with the undeviated light but, in interference, essentially undiminished in intensity. The result is that the image at the eyepiece level is so lacking in contrast as to make the details almost invisible.

Zernike succeeded in devising a method—now known as Phase Contrast microscopy—for making unstained, phase objects yield contrast images as if they were amplitude objects.

A schematic illustration of the basic phase contrast microscope configuration is illustrated in Figure 1.

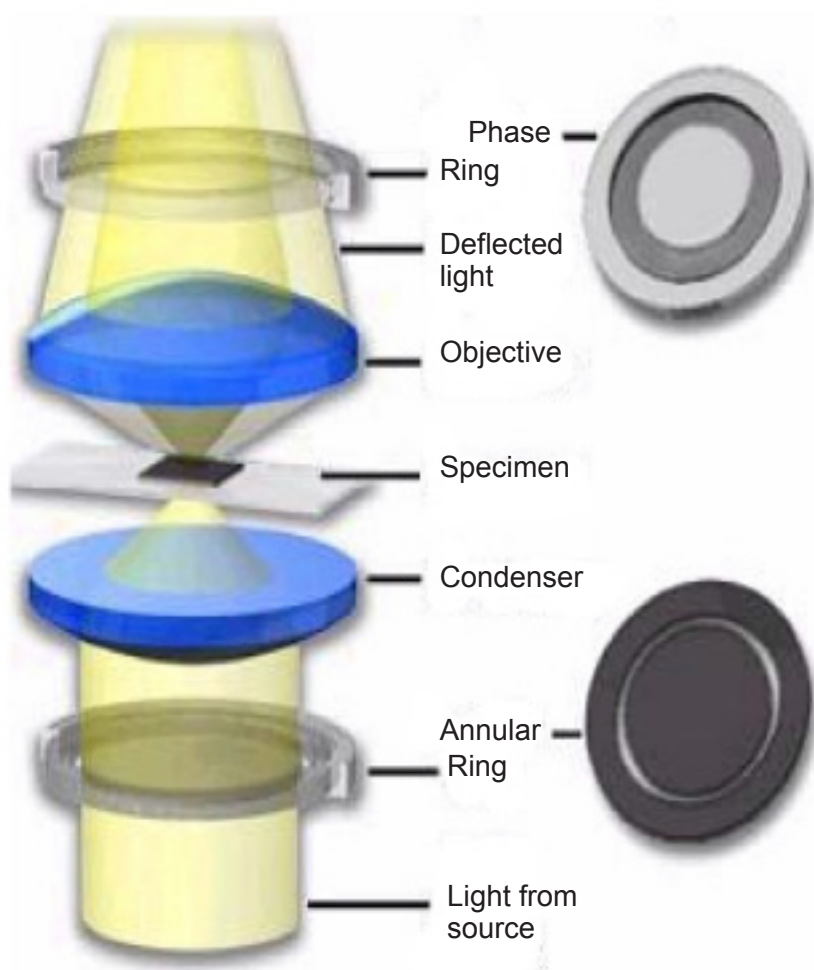


Figure 1

Amplitude objects show excellent contrast when the diffracted and direct light are out of step (display a phase difference) by $1/2$ of a wavelength. Zernike's method was to speed up the direct light by $1/4$ wavelength so that the difference in wavelength between the direct and deviated light for a phase specimen would now be $1/2$ wavelength. As a result, the direct and diffracted light arriving at the image level of the eyepiece would be able to produce destructive interference. Such a procedure results in the details of the image appearing darker against a lighter background. This is called positive phase contrast (see Figure 2).

Another possible course is to arrange to slow down the direct light by $1/4$ wavelength so that the diffracted light and the direct light arrive at the eyepiece in step and can interfere constructively. This arrangement results in a bright image of the details of the specimen on a darker background, and is called negative contrast (see Figure 3).

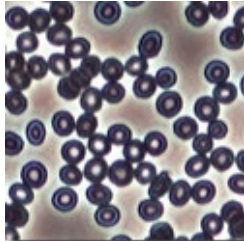


Figure 2

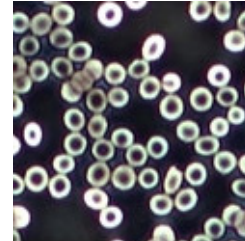


Figure 3

The accessories needed for phase contrast work are a substage phase contrast condenser equipped with annuli and a set of phase contrast objectives, each of which has a phase plate installed. The phase outfit, usually includes a green filter (to increase the resolution) and a phase telescope (to center the annuli).

Phase microscopy techniques are particularly useful with specimens that are thin and scattered in the field of view. There are some limitations of phase contrast microscopy:

- Phase images are usually surrounded by halos around the outlines of details. Such halos are optical artifacts, which sometimes obscure the boundaries of details.
- The phase annuli do limit the working numerical aperture of the optical system to a certain degree, thus reducing resolution.
- Phase contrast does not work well with thick specimens because of shifts in phase occur from areas slightly below or slightly above the plane that is in focus.
- Phase images appear gray if white light is used and green if a green filter is used.

Setup on B-380 microscopes

In order to use phase contrast on a B-380 series microscope, follow these steps:

- Make sure that a phase contrast objectives set is mounted on the nosepiece (phase contrast objectives are marked with "PH" writing).
- Lower the condenser using the knob:



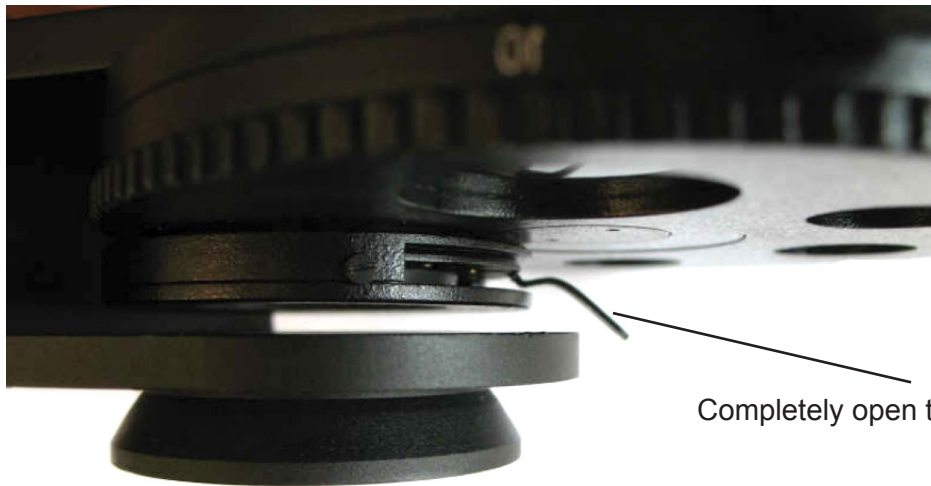
- Replace the standard brightfield condenser with the phase contrast condenser:



- Fully insert the phase contrast condenser into the holder, pushing it until it is well inserted:

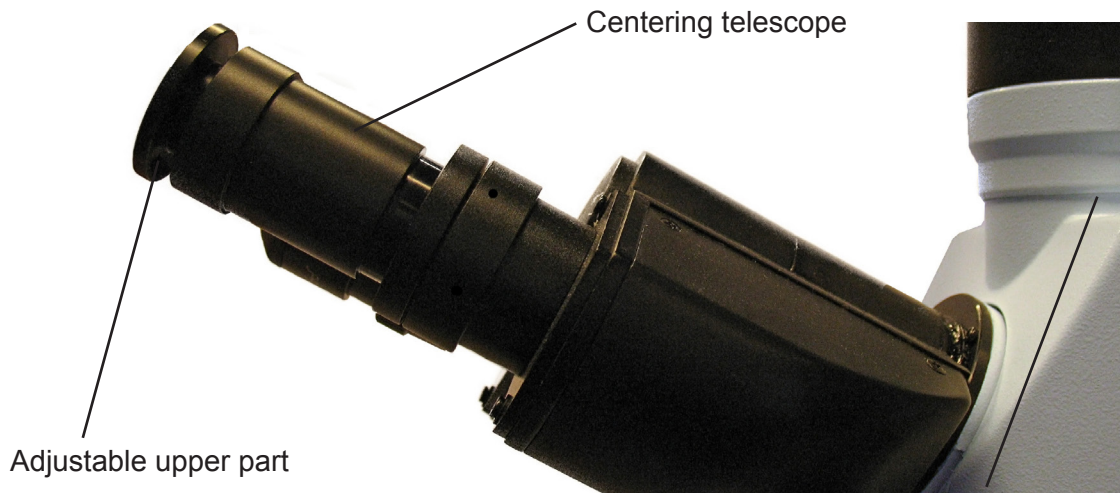


- Rotate the condenser annuli disc to the “0” position (brightfield).
- Completely open the aperture diaphragm:



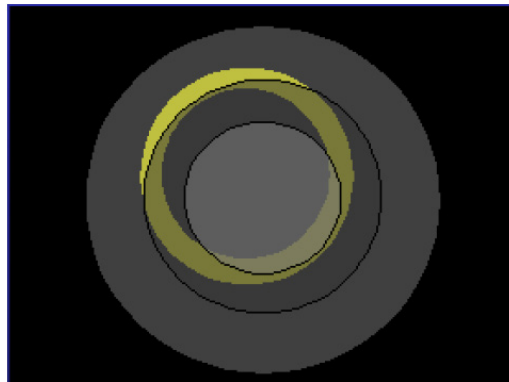
- Turn on the light and put a sample slide on the stage (an opaque specimen will make alignment easier).
- Using the 10x objective, center your sample (moving the stage) and focus using the coarse and fine focus knobs.
- Rotate the condenser height adjustment knob until you obtain a uniform white illumination on the sample. Important: the optimal position corresponds to the top lens of the condenser 1-2mm below the bottom side of the slide.
- Rotate the condenser annuli disc to the “10” position.

- Take one of the eyepieces out of the tube, and insert the centering telescope. Rotate its upper part in order to view a sharp image of the phase ring:

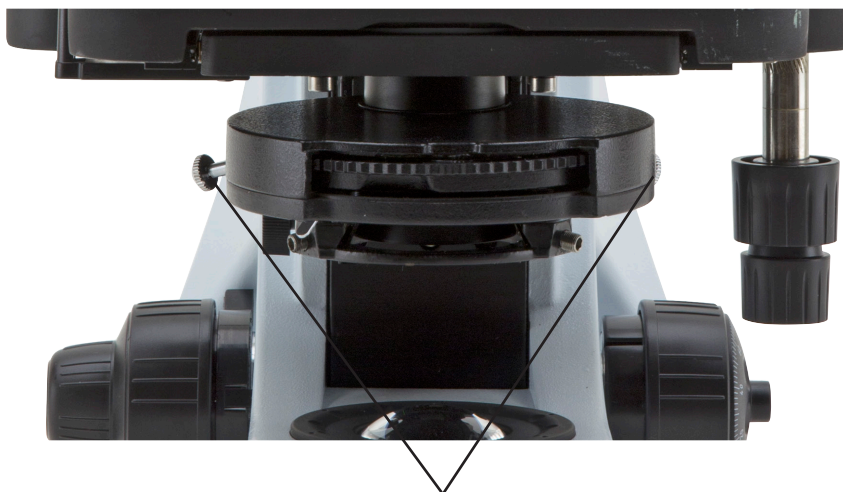


- Typically, you have to see a pair of rings: one brighter and one darker. The bright one is the image of the annulus on the condenser, while the dark one is the phase ring inside the objective:

Image as seen in the telescope



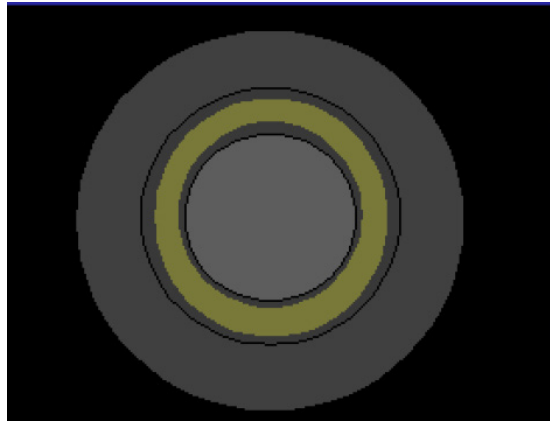
- Rotate the levers on both sides of the condenser. You will notice that the bright ring will change its position:



Levers for phase ring alignment

-
- The goal is to superimpose this bright ring to the dark one, so that they are in the same position:

Image as seen in the telescope,
with centred rings.



- Reinsert the eyepiece.

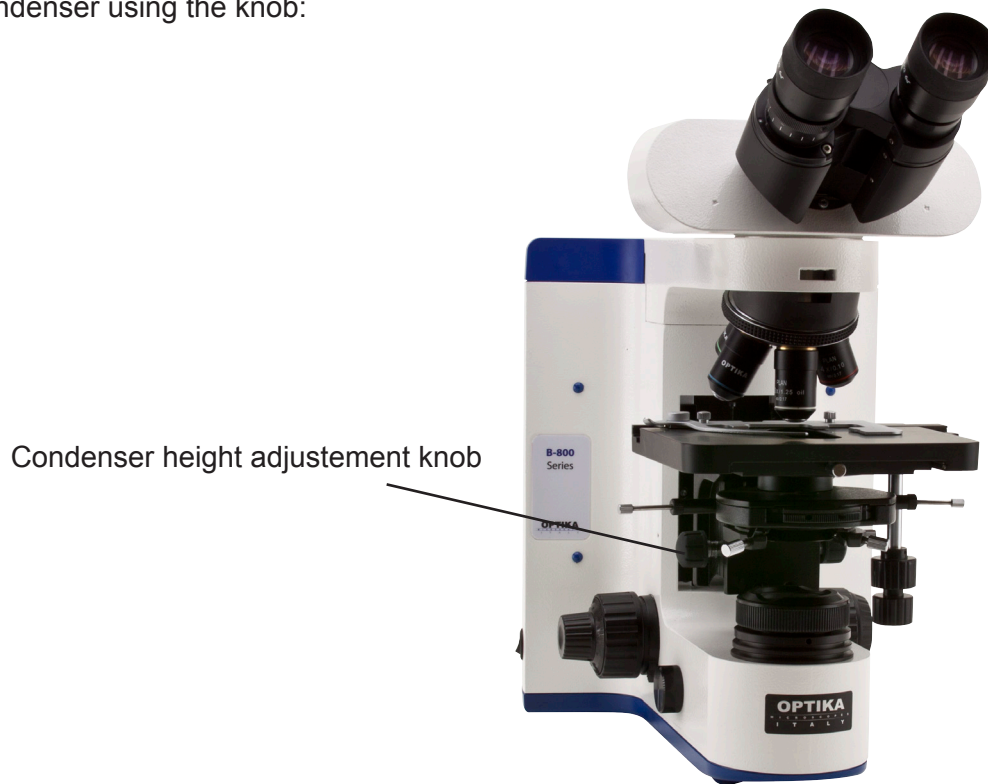
Now you can look at the phase contrast image of your sample.

The same procedure must be followed to align the other objectives (20x, 40x or 100x). Note that in order to obtain a correct image with 100x, you have to use the oil immersion technique (oil between the objective and the specimen coverslip).

Setup on B-500 B-800 B-1000 microscopes

In order to use phase contrast on a B-500, B-800 or B-1000 series microscope, follow these steps:

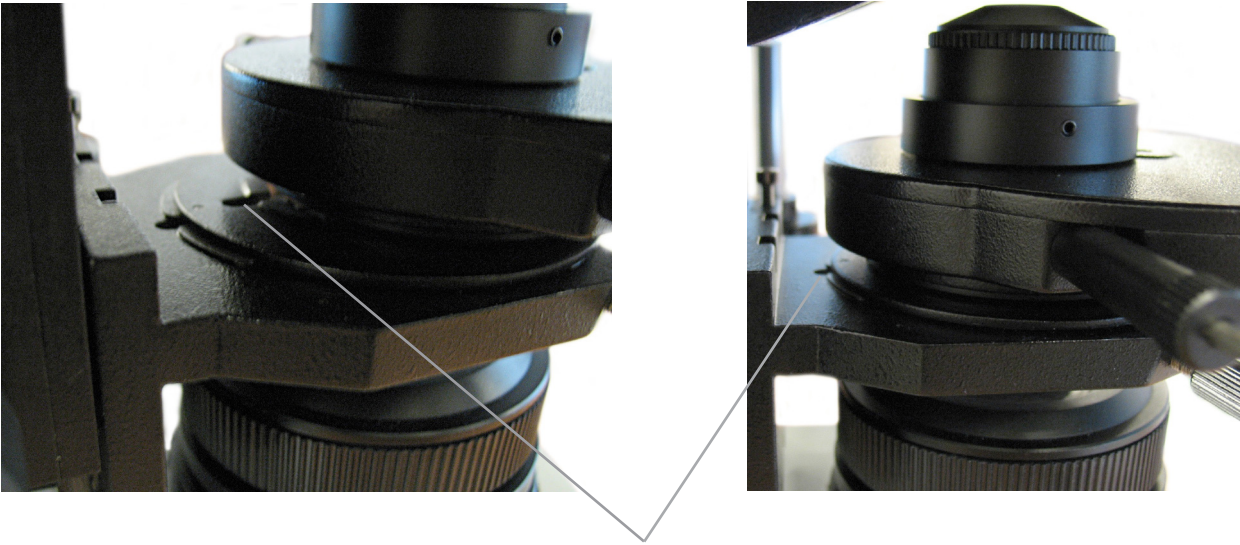
- Make sure that a phase contrast objectives set is mounted on the nosepiece (phase contrast objectives are marked with “PH” writing).
- Lower the condenser using the knob:



- Replace the standard brightfield condenser with the phase contrast condenser:

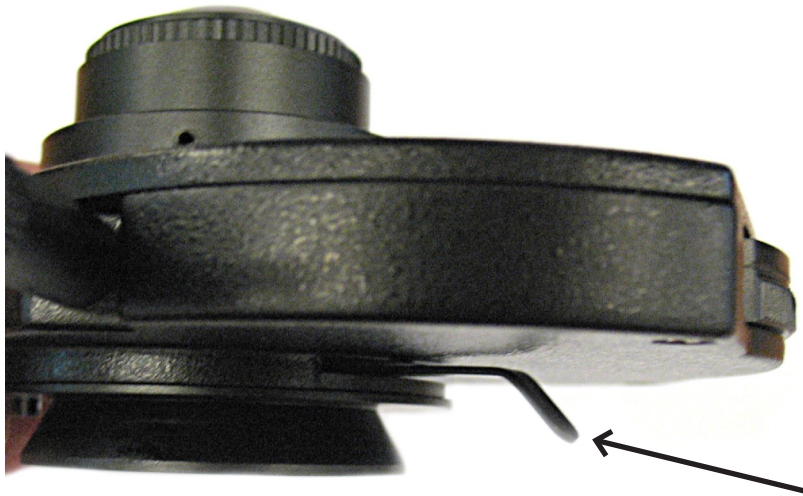


- Fully insert the phase contrast condenser into the holder, pushing it until it is well inserted:



Condenser must fully enter into its guide

- Rotate the condenser annuli disc to the “BF” position (brightfield).
- Completely open the aperture diaphragm:



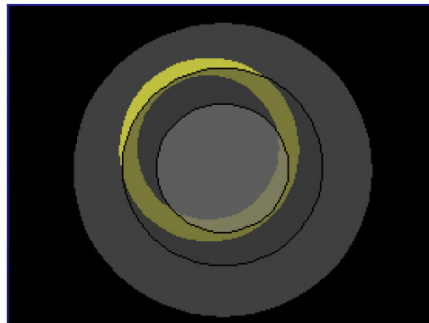
- Turn on the light and put a sample slide on the stage (an opaque specimen will make alignment easier).
- Using the 10x objective, center your sample (moving the stage) and focus using the coarse and fine focus knobs.
- Rotate the condenser height adjustment knobs until you obtain a uniform white illumination on the sample. Important: the optimal position corresponds to the top lens of the condenser 1-2mm below the bottom side of the slide.
- Rotate the condenser annuli disc to the “10” position.

- Take one of the eyepieces out of the tube, and insert the centering telescope. Loosen the screw of the telescope and move its upper part in order to view a sharp image of the phase ring, then lock the screw:



- Typically, you have to see a pair of rings: one brighter and one darker. The bright one is the image of the annulus on the condenser, while the dark one is the phase ring inside the objective:

Image as seen in the telescope

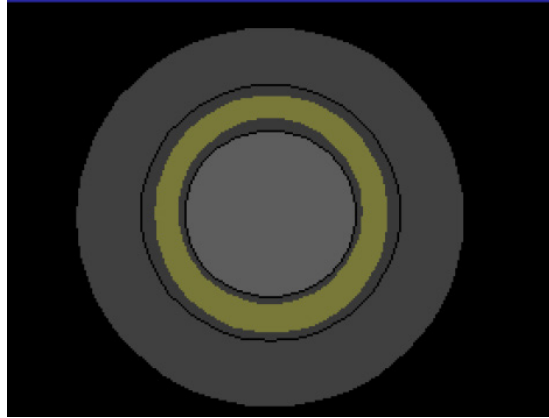


- Press both the long screws on the sides of the condenser and then slowly turn them until you notice that the bright ring changes its position:



-
- The goal is to superimpose this bright ring to the dark one, so that they are in the same position:

Image as seen in the telescope,
with centred rings.



- Release the centering screws slowly, guiding them to the rest position.
- Reinsert the eyepiece.

Now you can look at the phase contrast image of your sample.

The same procedure must be followed to align the other objectives (20x, 40x or 100x). Note that in order to obtain a correct image with 100x, you have to use the oil immersion technique (oil between the objective and the specimen coverslip).

Contrasto di fase

MANUALE D'ISTRUZIONI

	Modello
	B-380
	B-500
	B-800
	B-1000

Versione: 2
Emesso il: 18, 08, 2014



Indice Contenuti

Introduzione al contrasto di fase

Set-up su microscopi B-380

Set-up sui microscopi B-500 B-800 B-1000

Introduzione al contrasto di fase

I preparati senza alcuna colorazione che non assorbono luce sono chiamati “oggetti di fase”, poiché alterano leggermente la fase della luce che li attraversa, ritardandola tipicamente di $1/4$ di lunghezza d'onda rispetto alla luce diretta che passa non deviata intorno al campione. Sfortunatamente i nostri occhi, come i sensori delle telecamere, non sono in grado di apprezzare queste differenze di fase. L'occhio umano è sensibile solo ai colori dello spettro visibile (variazioni nella frequenza della luce) o a differenti livelli di intensità luminosa (variazioni nell'ampiezza dell'onda luminosa).

Negli oggetti di fase, l' “ordine zero” della luce passa attraverso o intorno al campione non essendo deviata. La luce diffratta dall'oggetto non è ridotta in ampiezza (come nei campioni opachi), ma è rallentata (ritardo di fase) in funzione dell'indice di rifrazione e dello spessore del campione. Questa luce diffratta, rallentata di circa $1/4$ di lunghezza d'onda, arriva sul piano dell'immagine fuori fase rispetto alla luce diretta non deviata, ma essenzialmente non ridotta in intensità. Il risultato è che l'immagine a livello dell'oculare manca di contrasto e i dettagli del campione sono quasi invisibili.

Zernike ebbe successo nel mettere a punto un metodo, ora noto come Microscopia a Contrasto di Fase, che consente di ottenere immagini contrastate di oggetti di fase trasparenti, come se fossero campioni opachi.

Un'illustrazione schematica della configurazione di un microscopio a contrasto di fase è mostrata in figura 1.

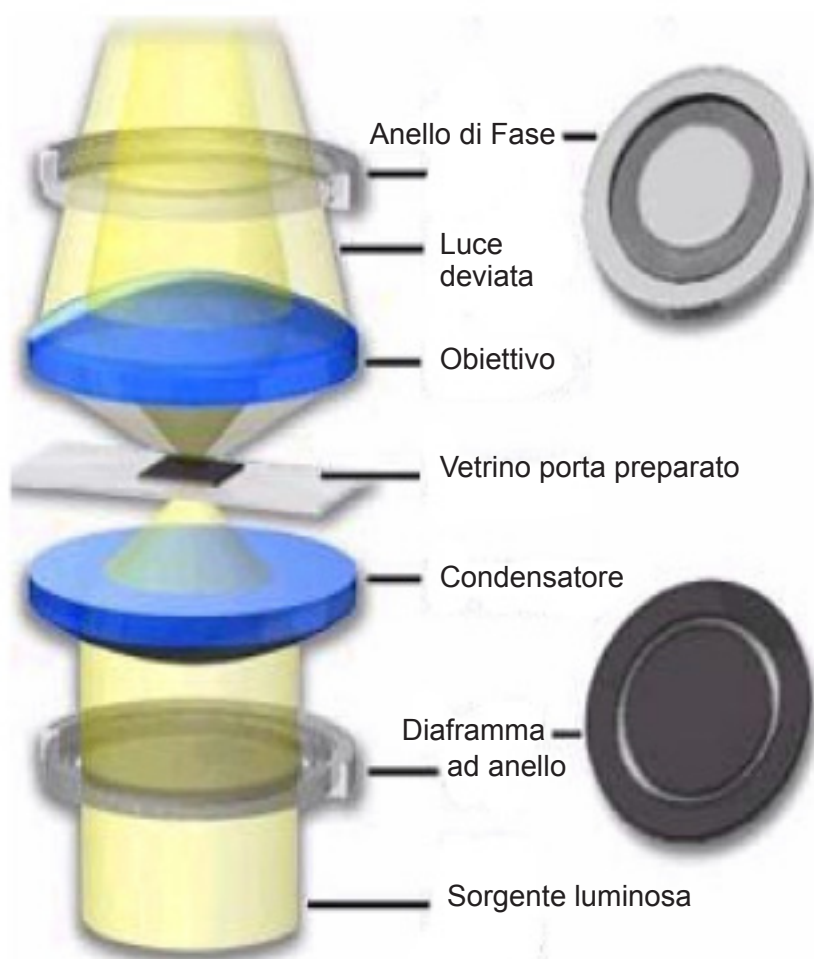


Figura 1

Il campione mostra un eccellente contrasto quando la luce diffratta e la luce diretta (non deviata) sono sfasate di $1/2$ di lunghezza d'onda. Il metodo di Zernike consiste nello sfasare ulteriormente anche la luce diretta di $1/4$ di lunghezza d'onda, in modo che la differenza tra luce diffratta e diretta sia proprio $1/2$ di lunghezza d'onda. Come risultato, le due componenti di luce producono un'interferenza distruttiva sul piano immagine dell'oculare. Questa procedura produce un'immagine con dettagli più scuri su un fondo più chiaro. Questa tipologia è detta contrasto di fase positivo (figura 2).

Una seconda variante consiste nello sfasare la luce diretta sempre di $1/4$ di lunghezza d'onda ma in modo che arrivi in fase sul piano immagine con la luce diffratta, causando quindi interferenza costruttiva. Questa procedura produce un'immagine con dettagli più chiari su un fondo più scuro. Questa tipologia è detta contrasto di fase negativo (figura 3).

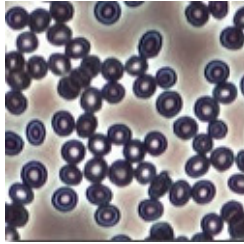


Figura 2

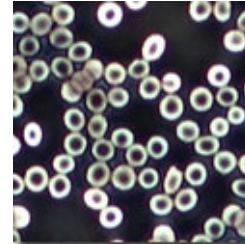


Figura 3

Gli accessori richiesti per il funzionamento in contrasto di fase sono un condensatore da porre sotto il tavolino, equipaggiato con diaframmi ad anello, e un set di obiettivi per contrasto di fase, ciascuno dotato di una lamina di fase ad anello. La dotazione include inoltre un filtro verde (per incrementare la risoluzione) e un telescopio di centratura (per centrare gli anelli).

Le tecniche di microscopia di fase sono particolarmente utili con campioni sottili e distribuiti sul campo visivo. Vi sono alcune limitazioni in tale tecnica:

- Le immagini di fase sono solitamente affette da aloni intorno ai bordi dei dettagli. Questi aloni sono artefatti ottici, che possono oscurare talvolta le frontiere tra dettagli adiacenti.
- Gli anelli di fase limitano l'apertura numerica del sistema ottico, riducendo (comunque in minimo grado) la risoluzione.
- Il contrasto di fase non funziona al meglio con campioni spessi, in quanto le variazioni di fase avvengono in zone poco al di sopra o al di sotto del piano di messa a fuoco.
- Le immagini di fase appaiono grigie quando viene usata una luce bianca, e verdi quando viene inserito il filtro verde.

Set-up su microscopi B-380

Per utilizzare il contrasto di fase sulla serie B-380, seguire questi passi:

- Assicurarsi di aver montato sul revolver un set di obiettivi a contrasto di fase (sono marcati con "PH" sul corpo).
- Abbassare il condensatore usando l'apposita manopola:



- Sostituire il condensatore standard per campo chiaro con quello per contrasto di fase:



- Inserire completamente il condensatore per contrasto di fase nel proprio supporto, spingendolo a fine corsa:

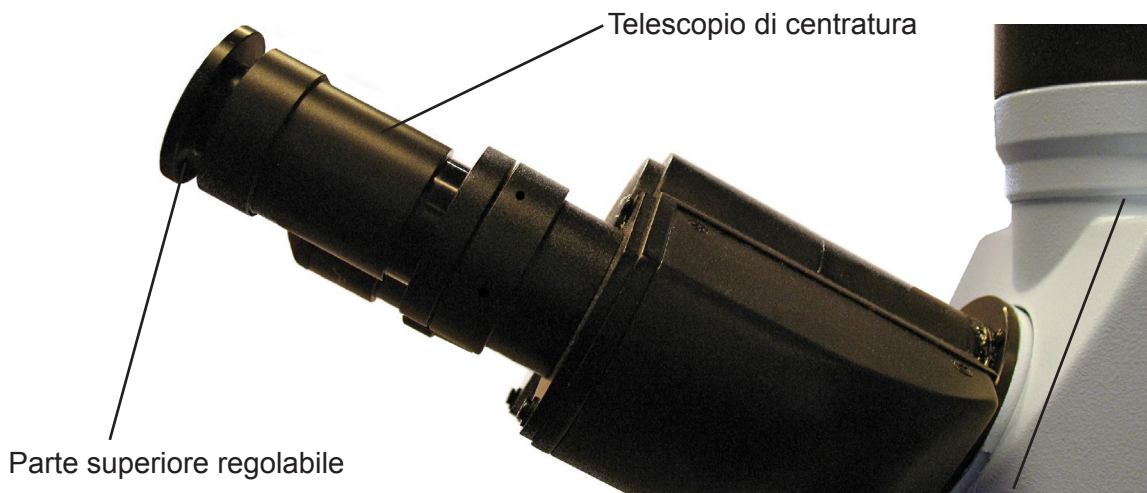


- Ruotare la ghiera del condensatore fino alla posizione "0" (campo chiaro).
- Aprire completamente il diaframma di apertura:



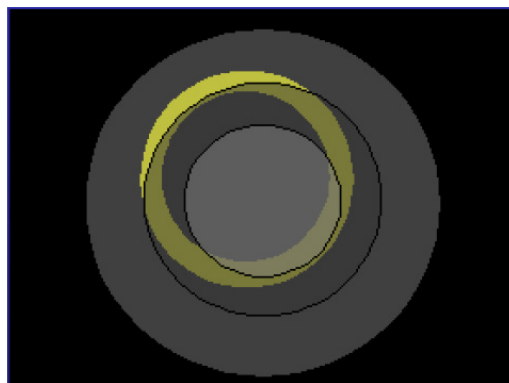
- Accendere l'illuminazione e porre un campione sul tavolino (un campione opaco faciliterà l'allineamento).
- Usando l'obiettivo 10x, centrare il campione (muovendo il tavolino traslatore) e mettere a fuoco usando le manopole macro- e micrometrica.
- Ruotare la manopola di regolazione dell'altezza condensatore fino ad ottenere un'illuminazione uniforme sul campione. Importante: la posizione ottimale corrisponde alla lente superiore del condensatore 1-2 mm sotto la faccia inferiore del vetrino.
- Ruotare la ghiera del condensatore fino alla posizione "10".

- Estrarre uno dei due oculari dalla testa, e inserire il telescopio di centratura. Ruotare la parte superiore fino a mettere a fuoco l'immagine degli anelli di fase:

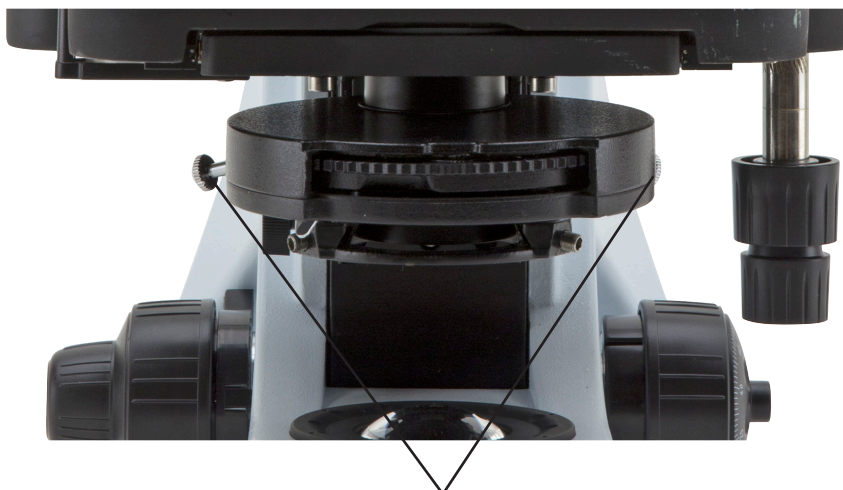


- Tipicamente saranno visibili due anelli: uno più chiaro ed uno più scuro. Quello chiaro è l'immagine del diaframma ad anello del condensatore, mentre l'anello scuro rappresenta l'anello di fase dentro l'obiettivo:

Immagine vista nel telescopio

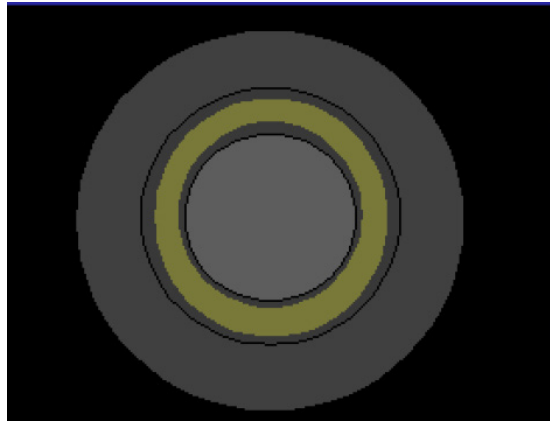


- Ruotare le levette su entrambi i lati del condensatore. Si noterà che l'anello chiaro cambia posizione:



- Lo scopo è sovrapporre l'anello chiaro a quello scuro, in modo che siano nella medesima posizione:

Immagine vista nel telescopio,
con gli anelli centrati



- Reinserire l'oculare

Ora è possibile visualizzare l'immagine a contrasto di fase del campione.

La stessa procedura va seguita per allineare gli altri obiettivi (20x, 40x, 100x). Notare che per ottenere una corretta immagine con l'obiettivo 100x, deve essere usato dell'olio da immersione (posto tra obiettivo e vetrino copri-oggetto).

Set-up sui microscopi B-500 B-800 B-1000

Per utilizzare il contrasto di fase sulla serie B-500, B-800 e B-1000, seguire questi passi:

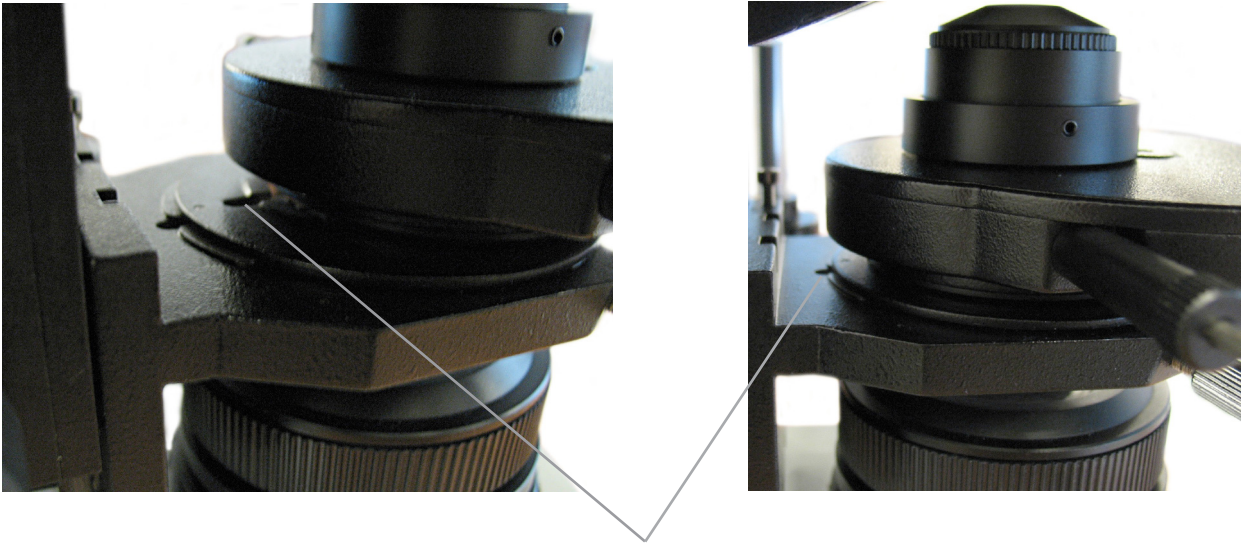
- Assicurarsi di aver montato sul revolver un set di obiettivi a contrasto di fase (sono marcati con "PH" sul corpo).
- Abbassare il condensatore usando l'apposita manopola:



- Sostituire il condensatore standard per campo chiaro con quello per contrasto di fase:

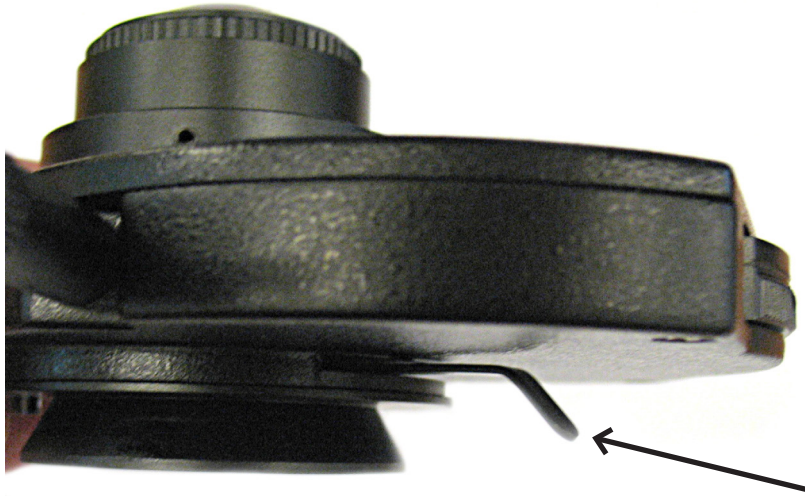


- Inserire completamente il condensatore per contrasto di fase nel proprio supporto, spingendolo a fine corsa:



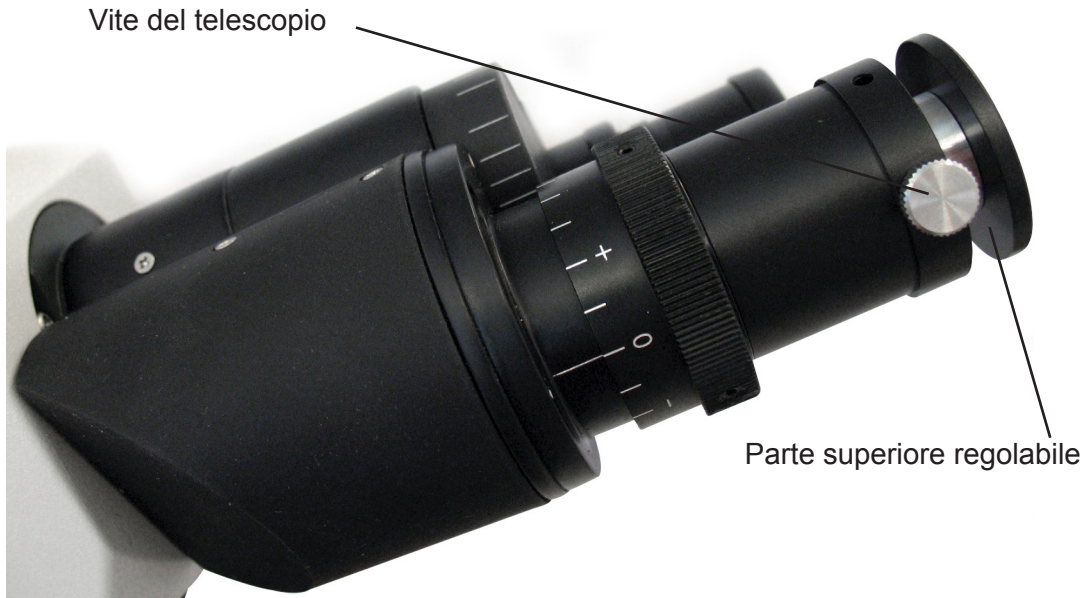
Il condensatore deve entrare completamente nella guida

- Ruotare la ghiera del condensatore fino alla posizione “BF”.
- Aprire completamente il diaframma di apertura:



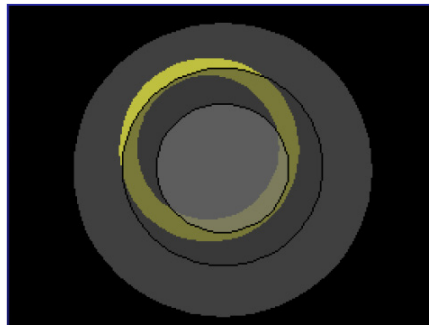
- Accendere l’illuminazione e porre un campione sul tavolino (un campione opaco faciliterà l’allineamento).
- Usando l’obiettivo 10x, centrare il campione (muovendo il tavolino traslatore) e mettere a fuoco usando le manopole macro- e micrometrica.
- Ruotare la manopola di regolazione dell’altezza condensatore fino ad ottenere un’illuminazione uniforme sul campione. Importante: la posizione ottimale corrisponde alla lente superiore del condensatore 1-2 mm sotto la faccia inferiore del vetrino.
- Ruotare la ghiera del condensatore fino alla posizione “10”.

- Estrarre uno dei due oculari dalla testa, e inserire il telescopio di centratura. Allentare la vite del telescopio e muovere la parte superiore fino a mettere a fuoco l'immagine degli anelli di fase, quindi riserrare la vite:



- Tipicamente saranno visibili due anelli: uno più chiaro ed uno più scuro. Quello chiaro è l'immagine del diaframma ad anello del condensatore, mentre l'anello scuro rappresenta l'anello di fase dentro l'obiettivo:

Immagine vista nel telescopio

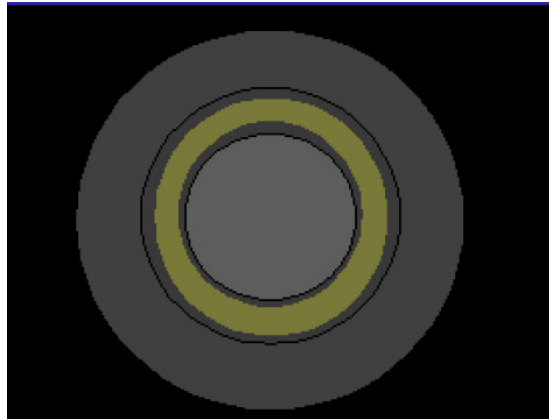


- Premere entrambe le viti lunghe ai lati del condensatore e quindi ruotarle lentamente fino a verificare uno spostamento dell'anello più chiaro:



-
- Lo scopo è sovrapporre l'anello chiaro a quello scuro, in modo che siano nella medesima posizione:

Immagine vista nel telescopio,
con gli anelli centrati



- Rilasciare lentamente le viti di centraggio, accompagnandole alla posizione di riposo.
- Reinserire l'oculare.

Ora è possibile visualizzare l'immagine a contrasto di fase del campione.

La stessa procedura va seguita per allineare gli altri obiettivi (20x, 40x, 100x). Notare che per ottenere una corretta immagine con l'obiettivo 100x, deve essere usato dell'olio da immersione (posto tra obiettivo e vetrino copri-oggetto).

Contraste de fases

MANUAL DE INSTRUCCIONES

	Modelo
	B-380
	B-500
	B-800
	B-1000

Versión: 2
Publicado: 18, 08, 2014



Indice

Introducción al contraste de fases

Instalación sobre microscopio B-380

Instalación sobre microscopios B-500 B-800 B-1000

Introducción al contraste de fases

Las preparaciones sin tefir y por lo tanto transparentes que no absorben la luz se llama "muestras de fases", ya que alteran ligeramente la luz que pasa a través de ellos, por lo general el contraste de fases retarda $1/4$ de longitud de onda con respecto a la luz directa y sin desvío, que pasa a través de una muestra teñida. Desgraciadamente los ojos, como los sensores de las cámaras, no son capaces de apreciar estas diferencias de fase. El ojo humano sólo es sensible a los colores del espectro visible (variaciones en la frecuencia de la luz) o de diferentes niveles de intensidad de luz (variaciones en la amplitud de la onda de luz).

En los objetos de fase, el "punto cero" de la luz pasa a través o alrededor de la muestra sin ninguna desviación. La luz difractada por el objeto no se reduce en amplitud (como en muestras opacas), pero es "retardada", lenta (retardo de fase) debido a la función del índice de refracción y el espesor de la muestra. Esta luz difractada, disminuida alrededor de $1/4$ de longitud de onda, llega al plano de la imagen con la luz desviada, pero en interferencia, esencialmente disminuida en intensidad. El resultado es que la imagen a nivel del ocular carece de contraste para hacer visible los detalles casi invisibles.

Zernike tuvo éxito en el desarrollo de un método, ahora conocida como microscopía de contraste de fase, que permite obtener imágenes nítidas de objetos transparentes como si fueran muestras opacas.

Una ilustración esquemática de la configuración de un microscopio de contraste de fase se muestra en la figura 1.

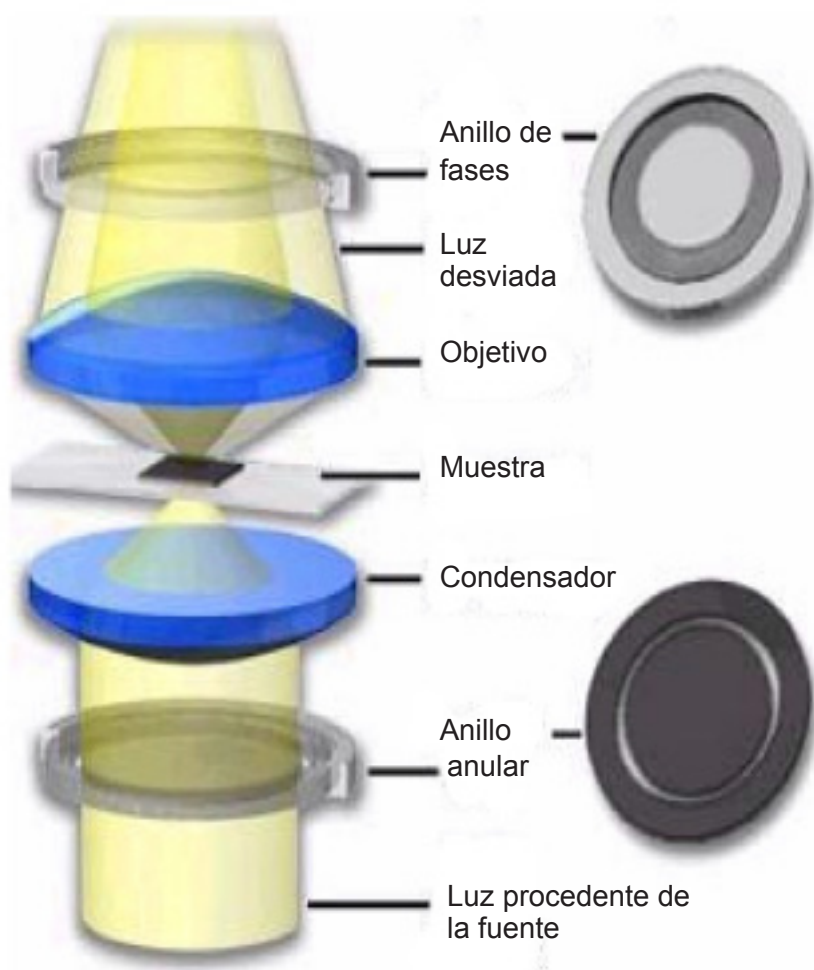


Figure 1

El ejemplo muestra un excelente contraste cuando la luz difractada y la luz directa (no desviada) están retardadas $1/2$ longitud de onda. El método de fases Zernike consiste en acelerar la luz directa $1/4$ de longitud de onda, por lo que la diferencia de onda entre la luz directa y la luz difractada de una muestra transparente es precisamente $1/2$ longitud de onda. Como resultado, los dos componentes de la luz (directa y difractada) producen interferencia “destruktiva” en el ocular. Este método produce una imagen con detalles más oscuros sobre un fondo más claro. Este tipo se conoce como contraste de fase positiva (Figura 2).

Una segunda opción consiste en la retardación de la luz directa $1/4$ de longitud de onda, de éste modo ambas luces (directa y difractada) producen una interferencia “constructiva” en el ocular. Este método produce una imagen con detalles de la muestra más claros sobre un fondo oscuro. Este tipo se conoce como contraste de fases negativo. (Figura 3)

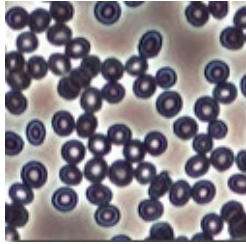


Figura 2

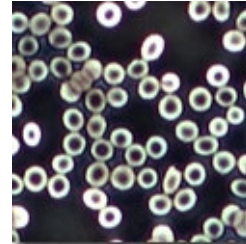


Figura 3

Los accesorios necesarios para la operación en contraste de fase son un condensador para colocado debajo de la platina, equipado con anillos de fases, y un conjunto de objetivos para contraste de fase, cada uno con anillo de fases interno. Incluye también un filtro verde (para aumentar la resolución) y un ocular telescópico de fases (para centrar los anillos).

Las técnicas de microscopía de fase son particularmente útiles con muestras delgadas y repartidas en el campo visual. Existen ciertas limitaciones en esta técnica:

- Las imágenes de fase están generalmente afectados por aureolas alrededor de la células. Estas aureolas son “artefactos” ópticos, que a veces pueden oscurecer los límites entre muestras adyacentes.
- Los anillos de fase limitan la apertura numérica del sistema óptico, reduciendo de ese modo la resolución.
- El contraste de fase no funciona con muestras gruesas, porque las variaciones de fase se producen en las zonas justo por encima o por debajo del plano de enfoque.
- Las imágenes en contraste de fases pueden aparecen en gris si se utiliza luz blanca o verde si se utiliza un filtro verde.

Instalación sobre microscopio B-380

Para instalar el kit de contraste de fases, por favor siga éstas instrucciones:

- Asegúrese de que ha montado en el revólver los objetivos de contraste de fase (marcados con una "PH" en la parte externa).
- Baje el condensador con el botón de ajuste:



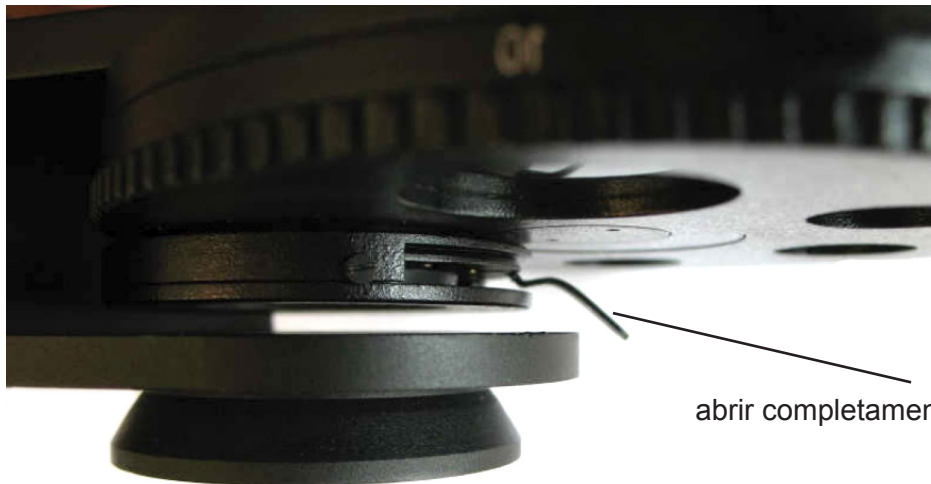
- Reemplazar el condensador de campo claro por el de contraste defases.



- Insertar el condensador de contraste de fases en el soporte empujándolo hasta su tope para asegurarse que está bien sujeto.

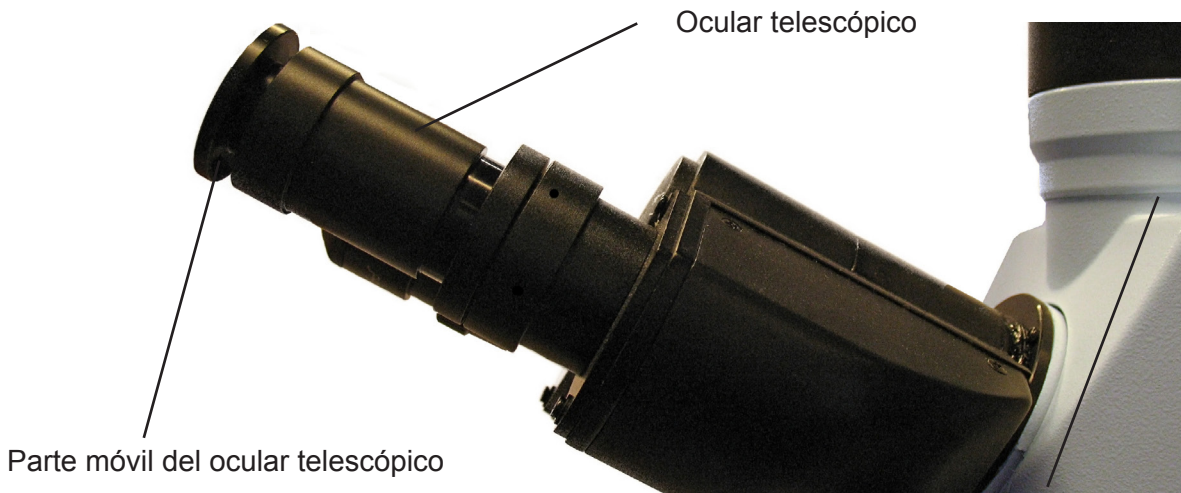


- Girar los anillos del condensador hasta la posición "0" (campo claro).
- Abrir completamente la apertura del diafragma.



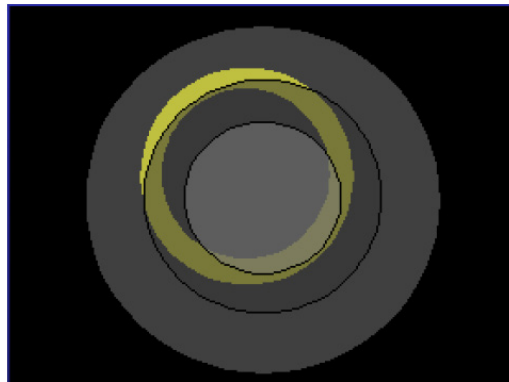
- Encienda la iluminación y ponga una muestra sobre la platina (una muestra opaca hará que el centrado sea más fácil).
- Con el objetivo de 10x, centre la muestra (moviéndola X,Y) hasta que quede en el punto focal. Con los mandos de enfoque macro y micrométricos ajuste el enfoque hasta poder ver una imagen clara a través de los oculares.
- Gire el botón de ajuste de la altura del condensador hasta obtener una iluminación uniforme en la muestra. Importante: la posición óptima corresponde a la parte superior de la lente condensadora 1-2 mm por debajo de la cara inferior de la corredera.
- Gire el dial del condensador hasta la posición "10".

- Quitar uno de los oculares e insertar el ocular telescópico de fases en su lugar. Girar hacia arriba o abajo con el fin de ver una imagen nítida del anillo de fase.

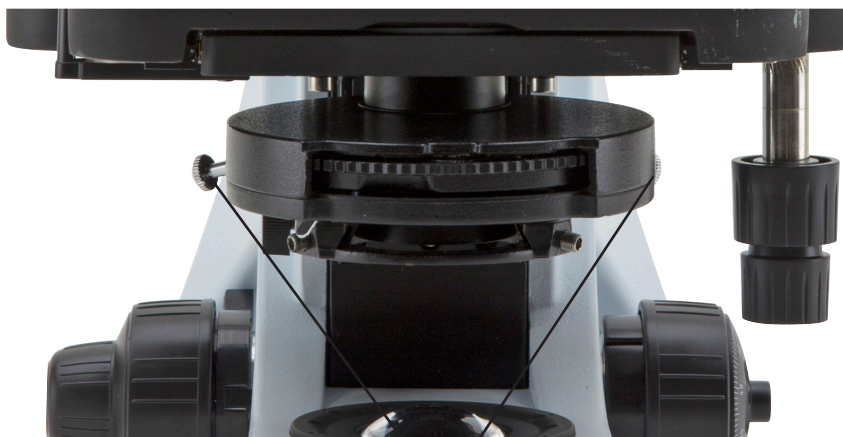


- Lo más normal es que Ud. Vea a través del ocular telescópico de fases, dos anillos uno más brillante y otro más oscuro. El anillo brillante corresponde al aro del condensador, mientras que el oscuro corresponde al aro que hay dentro del objetivo.

Imagen tal y como aparece en el ocular telescópico



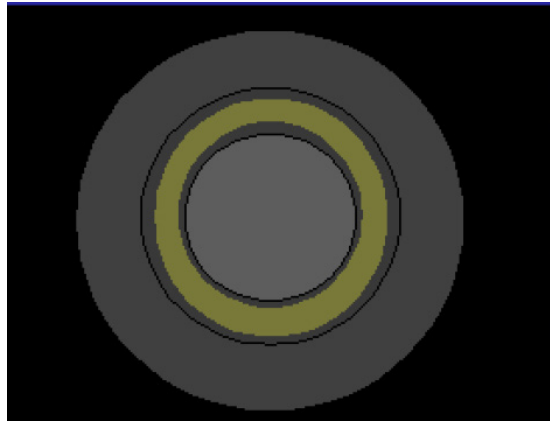
- Girar los tornillos que hay en ambos lados del condensador para centrar. Verá que el anillo brillante cambia de posición.



Tornillos para centrar el condensador de fases

-
- Debe conseguir superponer el anillo brillante sobre el oscuro, de modo que ambos queden en la misma posición.

Imagen tal y como aparece en el ocular telescópico después de centrar los anillos



- Vuelva a colocar el ocular que había extraído anteriormente.

Ahora su microscopio puede trabajar con la técnica de contraste de fases para muestras transparentes.

Éste procedimiento para centrar los anillos hecho con el objetivo de 10x deberá hacerse con el resto de los objetivos de fases. Para obtener una imagen correcta con el objetivo de 100x deberá utilizar aceite de inmersión (una gota de aceite entre el objetivo y la muestra).

Instalación sobre microscopios B-500 B-800 B-1000

Para instalar el kit de contraste de fases, por favor siga éstas instrucciones:

- Asegúrese de que ha montado en el revólver los objetivos de contraste de fase (marcados con una "PH" en la parte externa).
- Baje el condensador con el botón de ajuste:

Botón de ajuste en altura del condensador

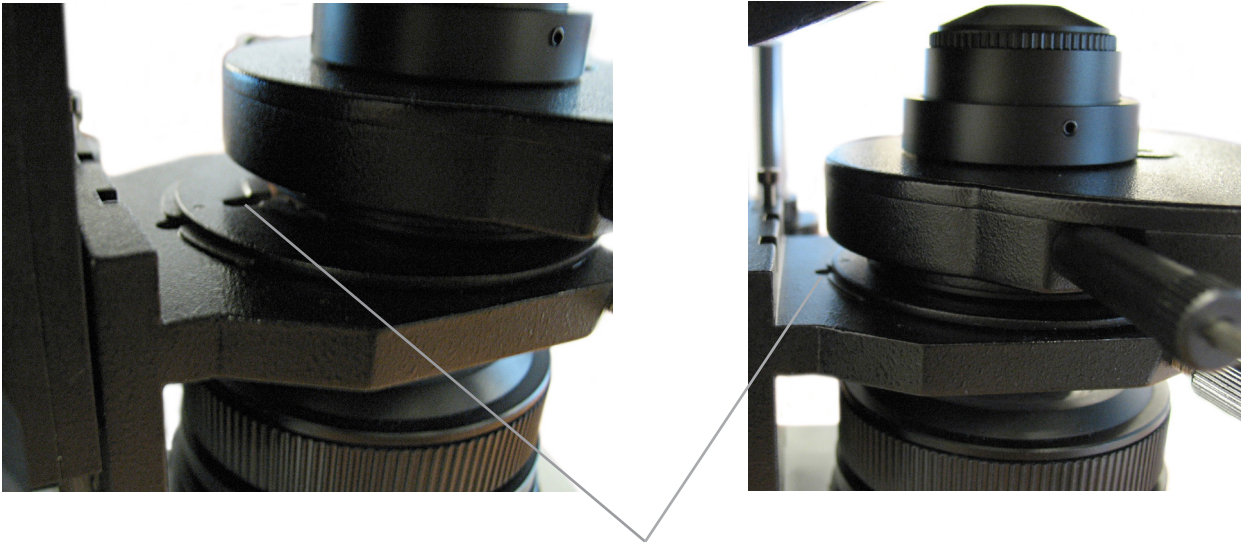


- Reemplazar el condensador de campo claro por el de contraste defases.



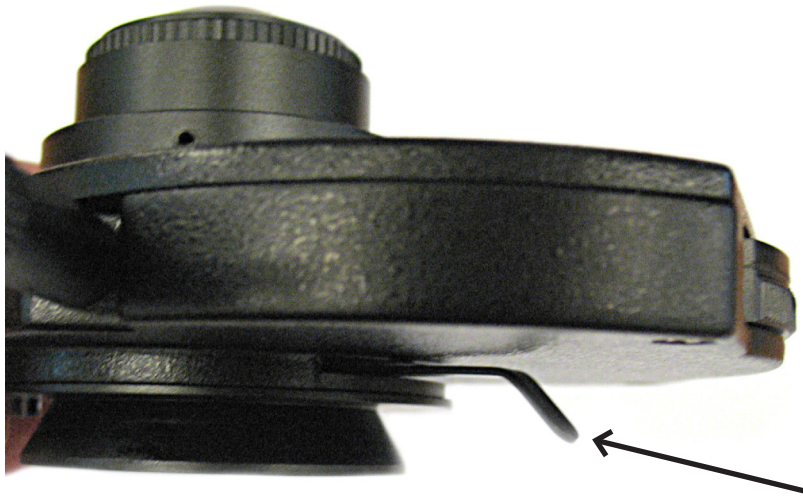
Aflojar los tornillos de sujeción que hay en ambos lados y extraer el condensador

- Insertar el condensador de contraste de fases en el soporte empujándolo hasta su tope para asegurarse que está bien sujeto.



Condensador debe coincidir de lleno en la guía

- Girar los anillos del condensador hasta la posición “BF” (campo claro).
- Abrir completamente la apertura del diafragma.



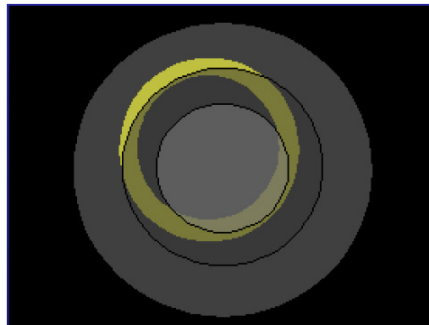
- Encienda la iluminación y ponga una muestra sobre la platina (una muestra opaca hará que el cen trado sea más fácil).
- Con el objetivo de 10x, centre la muestra (moviendo la platina X,Y) hasta que quede en el punto focal. Con los mandos de enfoque macro y micrométricos ajuste el enfoque hasta ver una imagen clara a través de los oculares.
- Gire el botón de ajuste de la altura del condensador hasta obtener una iluminación uniforme en la muestra. Importante: la posición óptima corresponde a la parte superior de la lente condensadora 1-2 mm por debajo de la cara inferior de la corredera.
- Gire el dial del condensador hasta la posición “10”.

- Quitar uno de los oculares e insertar el ocular telescópico de fases en su lugar. Aflojar el tornillo del ocular de fases y mover hacia arriba o abajo con el fin de ver una imagen nítida del anillo de fase, ahora puede apretar el tornillo.



- Lo más normal es que Ud. Vea a través del ocular telescópico de fases, dos anillos uno más brillante y otro más oscuro. El anillo brillante corresponde al aro del condensador, mientras que el oscuro corresponde al aro que hay dentro del objetivo.

Imagen tal y como aparece en el ocular telescópico

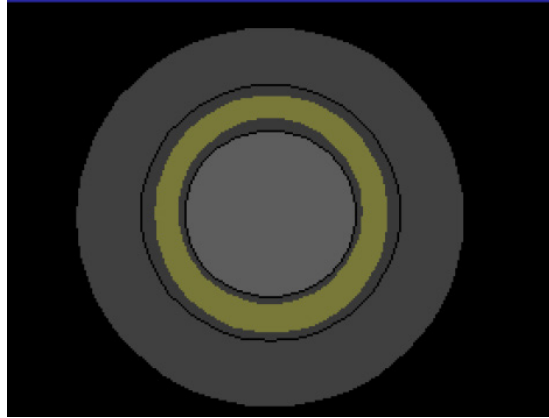


- Presionar y girar despacio los tornillos que hay en ambos lados del condensador para centrar. Verá que el anillo brillante cambia de posición.



-
- Debe conseguir superponer el anillo brillante sobre el oscuro, de modo que ambos queden en la misma posición.

Imagen tal y como aparece en el ocular telescópico después de centrar los anillos



- Suelte los tornillos de centrado lentamente, hasta la posición de reposo.
- Vuelva a colocar el ocular que había extraído anteriormente.

Ahora su microscopio puede trabajar con la técnica de contraste de fases para muestras transparentes.

Éste procedimiento hecho con el objetivo de 10x deberá hacerse con el resto de los objetivos de fases (20x, 40x y 100x). Para obtener una imagen correcta con el objetivo de 100x deberá utilizar aceite de inmersión (una gota de aceite entre el objetivo y la muestra).

Contrasto di fase

MANUEL D'UTILISATION

	Modèle
	B-380
	B-500
	B-800
	B-1000

Version: 2
du: 18, 08, 2014



Indice Contenuti

Introduction au contraste de phase

Installation sur les microscopes de la série B-380

Installation sur les microscopes de la série B-500, B-800 et B-1000

Introduction au contraste de phase

Les échantillons non colorés qui n'absorbent pas la lumière sont appelés objets de phase, car ils modifient légèrement la phase de la lumière diffractée par l'échantillon, généralement en retardant cette lumière d'environ $1/4$ de longueur d'onde par rapport à la lumière directe non déviée passant à travers ou autour de l'échantillon non affecté. Malheureusement, nos yeux ainsi que le film de la caméra, sont incapables de détecter ces différences de phase. L'œil humain est sensible uniquement aux couleurs du spectre visible (les variations de fréquence de la lumière) ou à des niveaux différents d'intensité lumineuse (variations de l'amplitude de l'onde).

Dans les échantillons de phase, la lumière directe d'ordre zéro passe à travers ou autour du spécimen non déviée. Toutefois, la lumière diffractée par l'échantillon n'est pas réduite en amplitude telle qu'elle l'est dans un objet qui absorbe la lumière, mais elle est ralentie par l'échantillon à cause de l'index de réfraction ou de l'épaisseur de l'échantillon (ou les deux). Cette lumière diffractée, en retard d'environ $1/4$ de la longueur d'onde, arrive sur le plan d'image hors phase avec la lumière non déviée, mais, en interférence, essentiellement non diminuée en intensité. Le résultat est que l'image au niveau de l'oculaire manque de contraste et les détails sont presque invisibles.

Zernike a élaboré une méthode -connue sous le nom de contraste de phase - qui fait des objets non colorés, objets de phases, des objets d'amplitude (c'est à des images contrastées).

En figure 1, une illustration schématique de la configuration du microscope à contraste de phase basique.

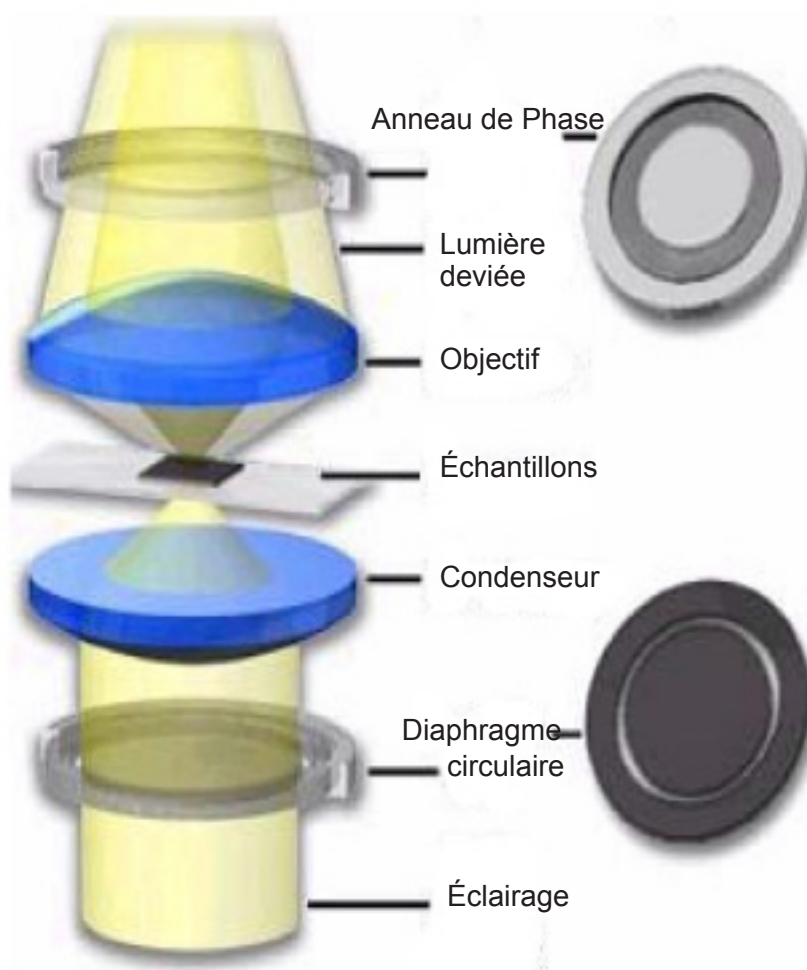


Figure 1

Les objets d'amplitude présentent un excellent contraste quand la lumière diffractée et directe sont hors phase d' $1/2$ de longueur d'onde. La méthode de Zernike était celle d'accélérer la lumière directe d' $1/4$ de longueur d'onde pour que la différence de longueur d'onde entre lumière directe et lumière déviée d'un échantillon de phase soit de $1/2$ de longueur d'onde. En conséquence, la lumière directe et diffractée arrivant au niveau de l'image dans les oculaires serait en mesure de produire une interférence destructive. Les résultats de ce procédé sont les détails de l'image qui apparaissent plus foncé sur un fond clair. Cela prend le nom de contraste de phase positif (Figure 2)

Un autre cours possible est d'organiser de ralentir la lumière directe en $1/4$ de longueur d'onde de sorte que la lumière diffractée et la lumière directe arrivent à l'oculaire en step et peuvent interférer de manière constructive. Cet arrangement donne une image claire des détails de l'échantillon sur un fond noir, et est appelé contraste négatif (voir la figure 3).

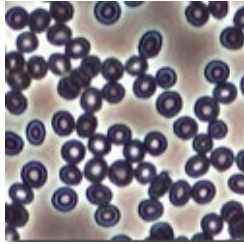


Figure 2

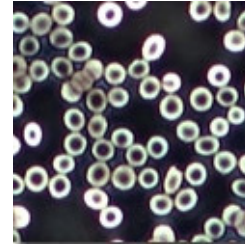


Figure 3

Les accessoires nécessaires pour l'observation en contraste de phase sont un condenseur pour contraste de phase équipé d'anneaux et un ensemble d'objectifs à contraste de phase, chacun avec une lame de phase installée. L'équipement de phase, comprend généralement un filtre vert (pour augmenter la résolution) et un télescope de phase (pour centrer les anneaux).

Les techniques de microscopie de phase sont particulièrement utiles avec les échantillons minces et dispersés dans le champ de vision. Il y a quelques limites dans la microscopie en contraste de phase:

- Les images de phase sont généralement entourés de halos autour des contours des détails. Ces halos sont des artefacts optiques, qui obscurcissent parfois les bords des détails.
- Les anneaux de phase limitent l'ouverture numérique du système optique à une certaine valeur, réduisant ainsi la résolution.
- Le contraste de phase ne fonctionne pas bien avec les échantillons épais
- en raison des changements de phase provoquée par des zones légèrement en dessous ou légèrement au-dessus du plan de mise au point.
- Les images de phase apparaissent en gris si on travaille en lumière blanche et en vert si un filtre vert est utilisé

Installation sur les microscopes de la série B-380

Pour utiliser le contraste de phase sur un microscope de la série B-380, procédez comme suit:

- Assurez-vous que le jeu d'objectifs pour contraste de phase est monté sur le revolver (les objectifs à contraste de phase portent l'indication «PH»)
- Abaissez le condenseur utilisant la commande:



- Remplacer le condenseur fond clair standard par le condenseur pour contraste de phase:



- Insérez complètement le condenseur pour contraste de phase dans le logement approprié en le poussant jusqu'à ce qu'il soit bien inséré.

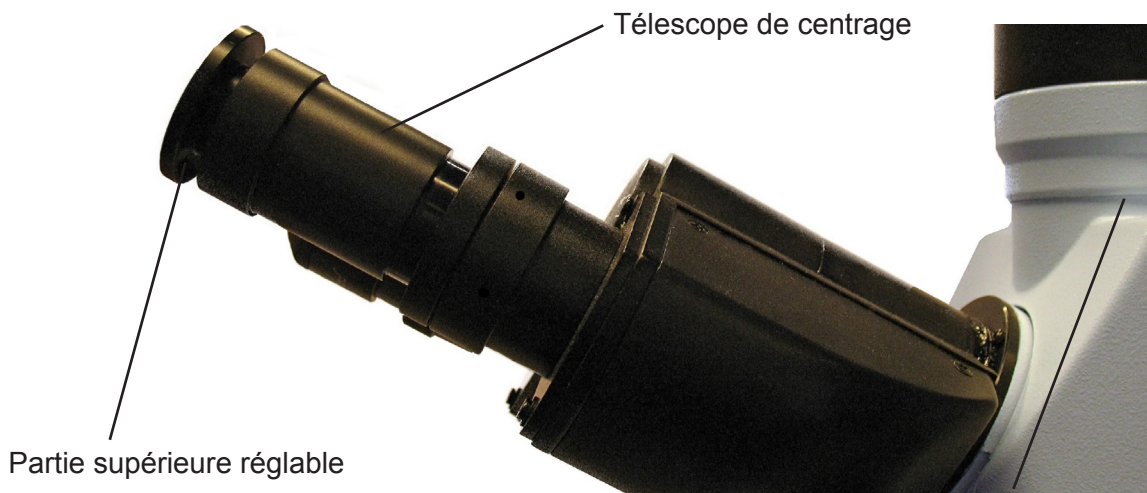


- Tourner le disque du condenseur jusqu'à ce qu'il soit en position "BF" (fond clair).
- Ouvrir complètement le diaphragme d'ouverture:



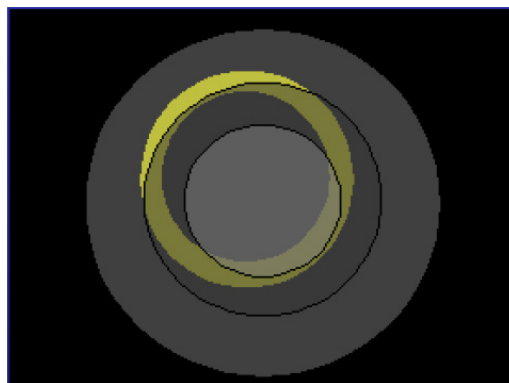
- Activer l'éclairage et placer un échantillon sur la platine (un échantillon opaque rendra l'alignement plus facile).
- En utilisant l'objectif 10x, centrer l'échantillon (en déplaçant la platine) et faire la mise au point en utilisant les commandes macro et micrométriques.
- Tourner les commandes de réglage de la hauteur du condenseur jusqu'à obtenir un éclairage blanc uniforme de l'échantillon. Important: la position optimale correspond à la lentille supérieure du condenseur, 1-2 mm au dessous de la partie inférieure de la lame
- Tourner le disque du condenseur jusqu'à ce qu'il soit en position "10"

- Enlever l'un des deux oculaires du tube, et insérer le télescope de centrage. Tourner sa partie supérieure pour visualiser une image nette de l'anneau de phase:

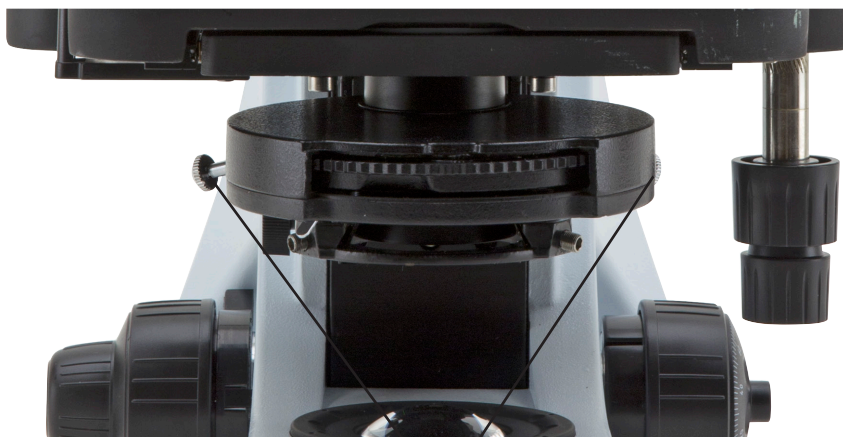


- Généralement, on voit une paire d'anneaux: un plus lumineux et un plus foncée. Le plus lumineux est l'image de l'anneau sur le condenseur, tandis que le plus foncé est l'anneau de phase à l'intérieur de l'objectif.

Image vue dans le télescope



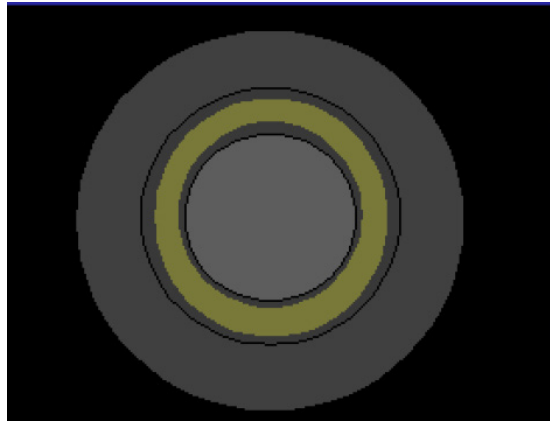
- En tournant les leviers de chaque côté du condenseur. Vous constaterez que l'anneau lumineux changera de position:



Leviers pour l'alignement de l'anneau de phase

-
- Le but est de superposer cet anneau lumineux sur l'anneau foncé, de façon à ce qu'ils soient dans la même position:

L'image vue dans le télescope,
avec des anneaux centrés.



- Réinsérer l'oculaire.

Maintenant, vous pouvez regarder l'image en contraste de phase de votre échantillon.

La même procédure doit être suivie pour aligner les autres objectifs (20x, 40x ou 100x). Pour obtenir une image correcte avec le 100x, il faut utiliser la technique de l'huile à immersion (huile entre l'objectif et la lamelle couvre objet).

Installation sur les microscopes de la série B-500, B-800 et B-1000

Afin de pouvoir utiliser le contraste de phase sur un microscope B-500, B-600 ou B-1000 , procédez comme suit:

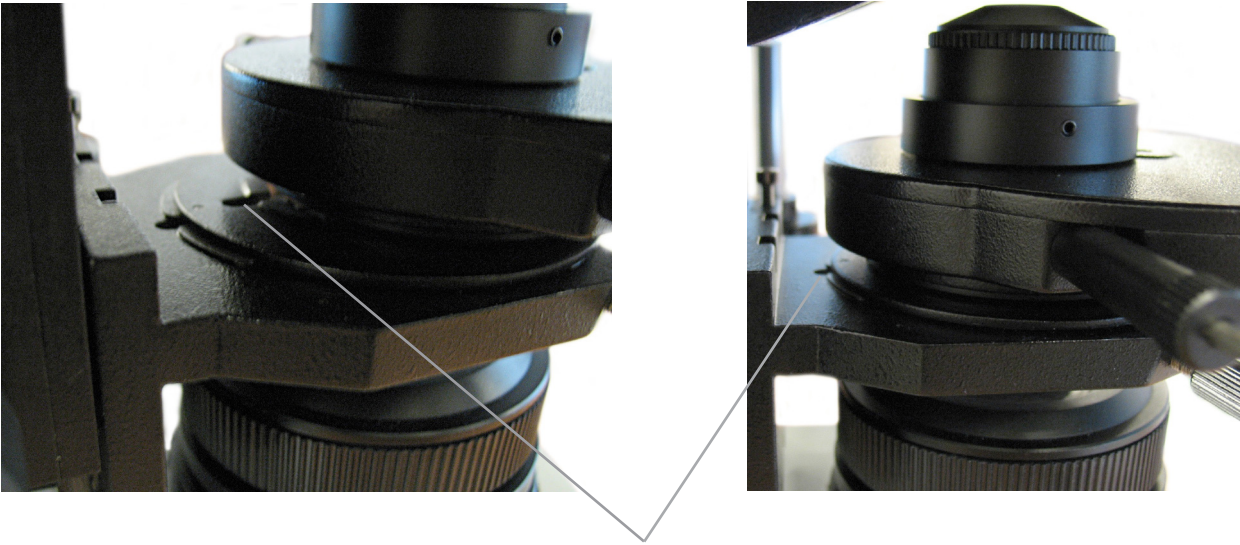
- Assurez-vous que le jeu d'objectifs pour contraste de phase est monté sur le revolver (les objectifs à contraste de phase sont marqués avec l'écriture «PH»)
- Abaissez le condenseur en utilisant la commande:



- Remplacer le condenseur fond clair avec le condenseur pour contraste de phase:

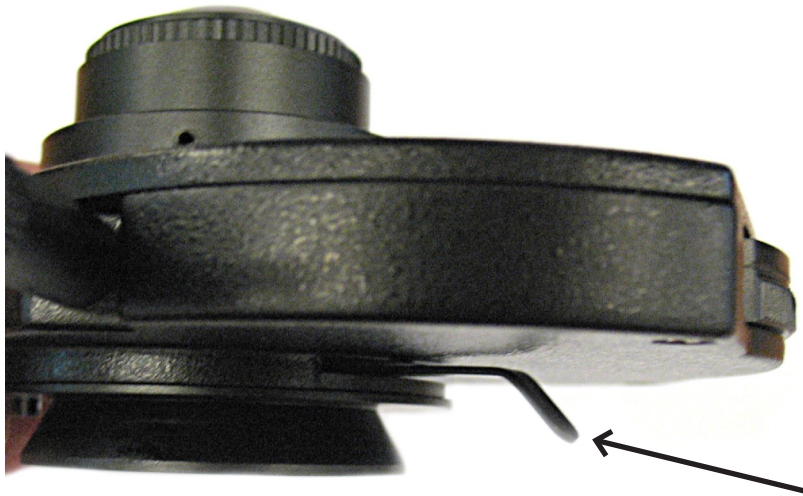


- Insérer complètement le condenseur pour contraste de phase dans le logement approprié, en le poussant jusqu'à ce qu'il soit bien inséré



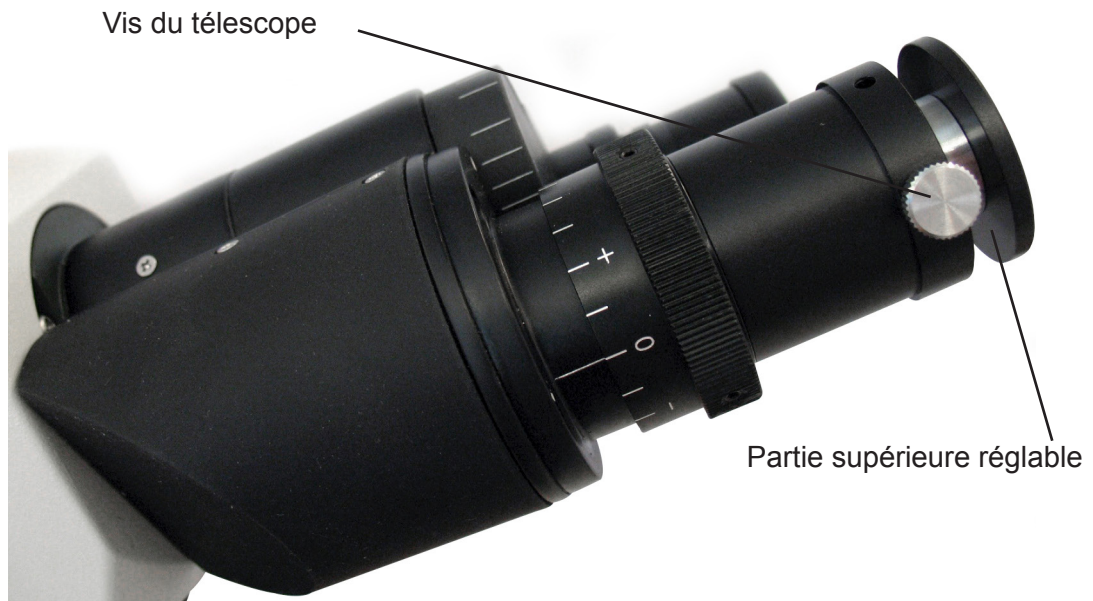
Le condenseur doit entrer complètement dans son logement

- Tourner le disque du condenseur jusqu'à ce qu'il soit en position "BF" (fond clair).
- Ouvrir complètement le diaphragme d'ouverture:



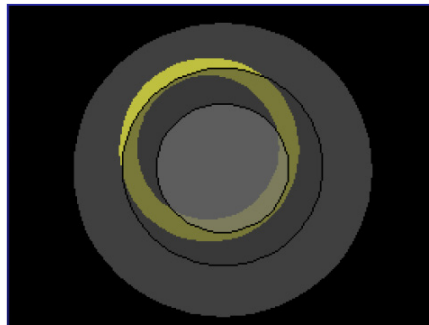
- Activer l'éclairage et placer un échantillon sur la platine (un échantillon opaque rendra l'alignement plus facile).
- En utilisant l'objectif 10x, centrer l'échantillon (en déplaçant la platine) et faire la mise au point en utilisant les commandes macro et micrométriques.
- Tourner les commandes de réglage de la hauteur du condenseur jusqu'à obtenir un éclairage blanc uniforme de l'échantillon. Important: la position optimale correspond à la lentille supérieure du condenseur 1-2 mm en dessous de la partie inférieure de la lame.
- Tourner le disque du condenseur jusqu'à la position "10"

- Enlever l'un des deux oculaires du tube et insérer le télescope de centrage. Desserrer la vis du télescope et déplacer sa partie supérieure afin de visualiser une image nette de l'anneau de phase, ensuite bloquer la vis:



- En générale, vous devez voir une paire d'anneaux: un plus lumineux et un plus foncée. L'anneau lumineux est l'image de l'anneau sur le condenseur, tandis que le plus foncée est l'anneau de phase à l'intérieur de l'objectif:

L'image vue dans le télescope

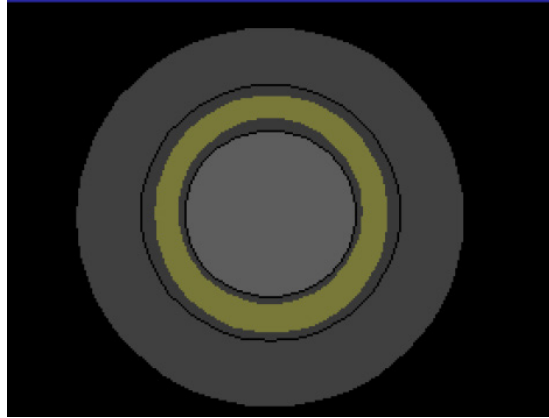


- Appuyer sur les deux longues vis sur les côtés du condenseur et puis les tourner lentement jusqu'à ce que l'anneau lumineux change de position:



-
- Le but est de superposer cet anneau lumineux à l'anneau foncé, de façon à ce qu'ils soient dans la même position:

Immagine vista nel telescopio,
con gli anelli centrati



- Desserrer les vis de centrage lentement, en les guidant à la position de repos..
- Réinsérer l'oculaire.

Maintenant, vous pouvez regarder l'image en contraste de phase de votre échantillon.

La même procédure doit être suivie pour aligner les autres objectifs (20x, 40x ou 100x). Pour obtenir une image correcte avec l'objectif 100x, il faut utiliser la technique de l'huile à immersion (huile entre l'objectif et la lame couvre-objet).

Contraste de fase

MANUAL DE INSTRUÇÕES

	Modelo
	B-380
	B-500
	B-800
	B-1000

Versão: 2
Emitido em: 18, 08, 2014



Índice de Conteúdos

Introdução ao contraste de fase

Configuração em microscópios B-380

Configuração em microscópios B-500 B-800 B-1000

Introdução ao contraste de fase

Os preparados sem nenhuma cor que não absorvem luz são chamados de “objetos de fase” pois alteram ligeiramente a fase da luz que os atravessa, atrasando-a tipicamente em $1/4$ do comprimento da onda em relação à luz direta que passa não desviada em redor da amostra. Infelizmente aos nossos olhos, como os sensores das telecâmeras, não são capazes de apreciar essas diferenças de fase. O olho humano é sensível somente às cores do espectro visível (variações na frequência da luz) ou a diferentes níveis de intensidade luminosa (variações na amplitude da onda luminosa).

Nos objetos de fase, a “ordem zero” da luz passa através ou em redor da amostra não sendo desviada. A luz difratada pelo objeto não é reduzida em amplitude (como nas amostras opacas), mas é atrasada (atraso de fase) em função do índice de refração e da espessura da amostra. Esta luz difratada, atrasada em cerca de $1/4$ de comprimento de onda, chega ao plano da imagem fora de fase em relação à luz direta não desviada mas essencialmente não reduzida em intensidade. O resultado é que a imagem a nível ocular falta em contraste e os detalhes da amostra são quase invisíveis.

Zernike teve sucesso em desenvolver um método, agora conhecido como Microscopia de Contraste de Fase, que permite obter imagens contrastadas de objetos de fase transparentes, como se fossem amostras opacas.

Uma ilustração esquemática da configuração de um microscópio de contraste de fase é mostrada na figura 1.

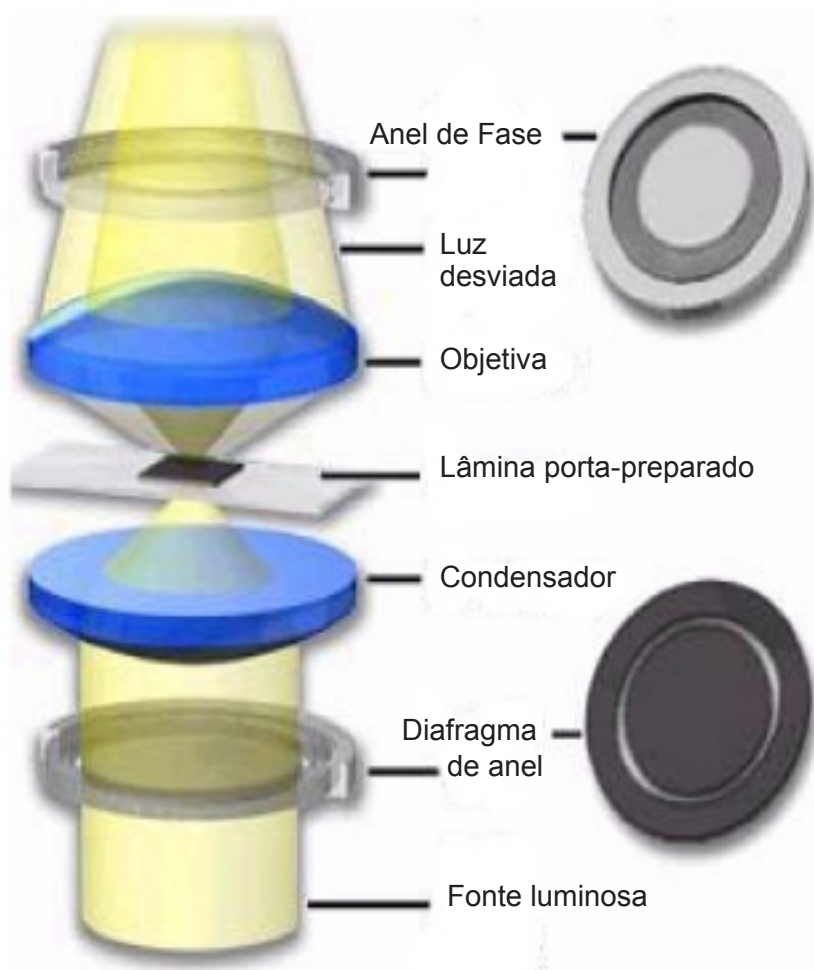


Figura 1

A amostra demonstra um excelente contraste quando a luz difratada e a luz direta (não desviada) estão defasadas em $1/2$ de comprimento de onda. O método de Zernike consiste no defasar adicionalmente também a luz direta de $1/4$ de comprimento de onda, de modo que a diferença entre luz difratada e direta seja de $1/2$ de comprimento de onda. Como resultado, os dois componentes de luz produzem uma interferência destrutiva no plano de imagem do óculo. Este procedimento produz uma imagem com detalhes mais escuros sobre um fundo mais claro. Esta tipologia é chamada de contraste de fase positivo (figura 2).

Uma segunda variante consiste no defasar a luz direta sempre de $1/4$ de comprimento de onda mas de modo que chegue em fase no plano de imagem com a luz difratada, causando portanto uma interferência construtiva. Este procedimento produz uma imagem com detalhes mais claros sobre um fundo mais escuro. Esta tipologia é dita contraste de fase negativo (figura 3).

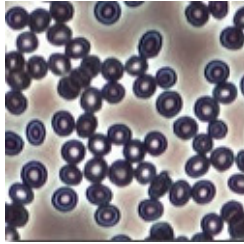


Figura 2

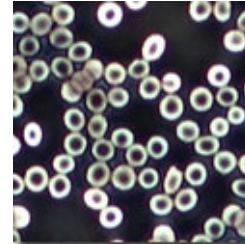


Figura 3

Os acessórios pedidos para o funcionamento em contraste de fase são um condensador a colocar sob a mesa, equipada com diafragmas de anel e um conjunto de objetivas para contraste de fase, cada um deles equipado com uma lâmina de fase em anel. O fornecimento inclui também um filtro verde (para aumentar a resolução) e um telescópio de centragem (para centrar os anéis).

As técnicas de microscopia de fase são especialmente úteis com amostras finas e distribuídas no campo visual. Existem algumas limitações nessa técnica:

- As imagens de fase são normalmente afetadas por halos em redor das bordas dos detalhes. Esses halos são artefatos ópticos, que podem obscurecer ocasionalmente as fronteiras entre detalhes adjacentes.
- Os anéis de fase limitam a abertura numérica do sistema óptico, reduzindo (minimamente) a resolução.
- O contraste de fase não funciona ao seu melhor com amostras espessas, pois as variações de fase ocorrem em zonas pouco acima ou abaixo do plano de focagem.
- As imagens de fase aparecem cinza quando é usada uma luz branca, e verdes quando é inserido o filtro verde.

Configuração em microscópios B-380

Para utilizar o contraste de fase na série B-380, fazer o seguinte:

- Certificar-se de ter montado no revólver um conjunto de objetivas de contraste de fase (são marcadas com "PH" no corpo).
- Baixar o condensador usando o manípulo específico:



- Substituir o condensador padrão para campo claro por aquele de contraste de fase:



- Inserir completamente o condensador para contraste de fase no seu suporte, empurrando até ao fim do curso:

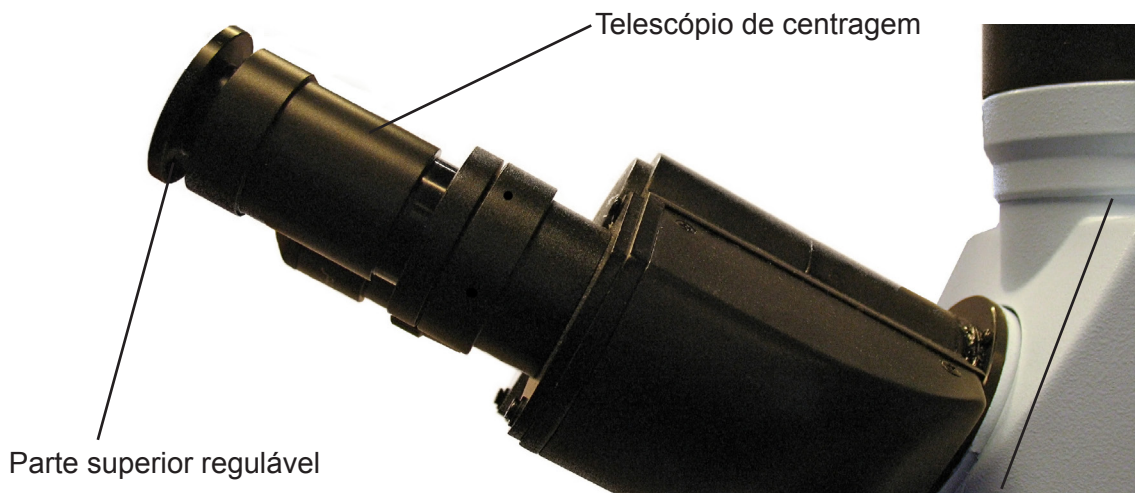


- Rodar a braçadeira do condensador até à posição "0" (campo claro).
- Abrir completamente o diafragma de abertura:



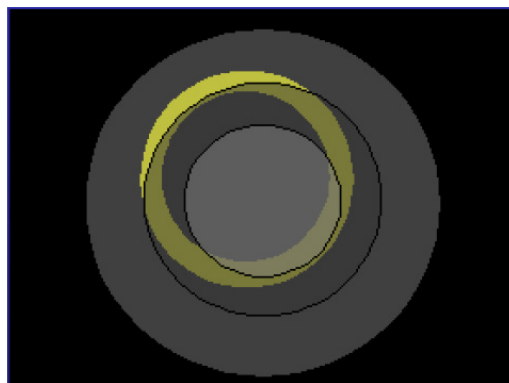
- Acender uma iluminação e colocar uma amostra sobre a mesa (uma amostra opaca facilitará o alinhamento).
- Usando a objetiva 10x, centrar a amostra (movendo a mesa de translação) e focar usando as manípulos macro- e micrométrico.
- Rodar o manípulo de regulação da altura do condensador até obter uma iluminação uniforme na amostra. Importante: a posição ideal corresponde à lente superior do condensador 1-2 mm embaixo da face superior da lâmina.
- Rodar a braçadeira do condensador até à posição "10".

- Extrair um dos dois oculares da cabeça e inserir o telescópio de centragem. Rodar a parte superior até focar a imagem dos anéis de fase:

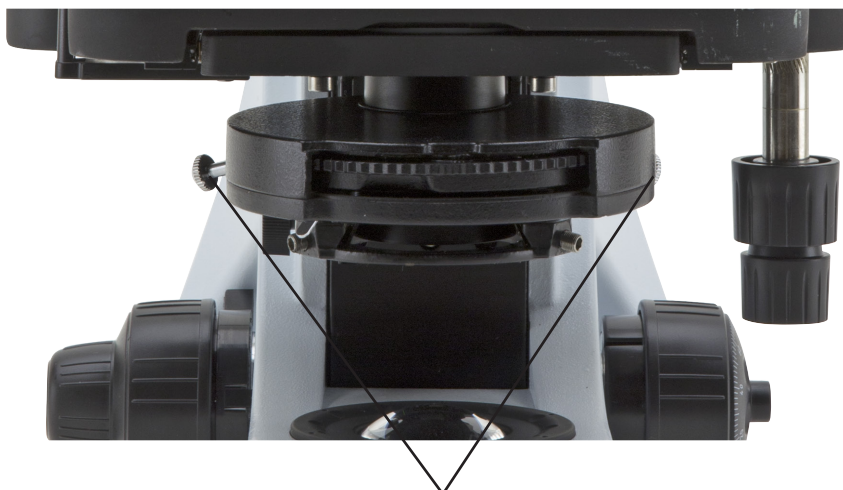


- Normalmente serão visíveis dois anéis: um mais claro e um mais escuro. Aquele claro é a imagem do diafragma a anel do condensador, enquanto que o anel escuro representa o anel de fase dentro da objetiva:

Imagem vista no telescópio

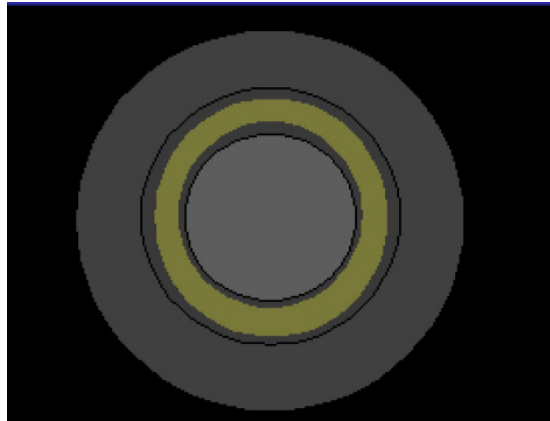


- Rodar as alavancas em ambos os lados do condensador. Irá notar-se que o anel claro muda de posição:



-
- O objetivo é sobrepor o anel claro ao anel escuro, de modo que estejam na mesma posição:

Imagem vista no telescópio, com os anéis centrados



- Reinsserir o óculo

Agora é possível ver a imagem em contraste de fase da amostra.

O mesmo procedimento deve ser seguido para alinhar as outras objetivas (20x, 40x, 100x). Notar que para obter uma imagem correta com a objetiva 100x, deve ser usado óleo de imersão (colocado entre a objetiva e a lâmina cobre objeto).

Configuração em microscópios B-500 B-800 B-1000

Para utilizar o contraste de fase na série B-500, B-800 e B-1000, fazer do seguinte modo:

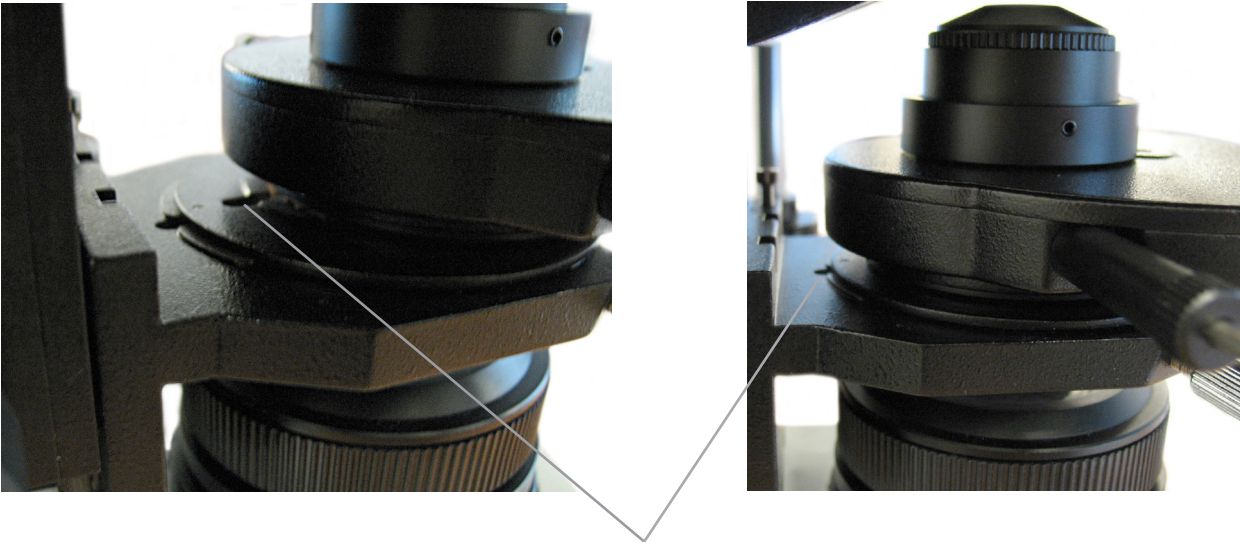
- Certificar-se de ter montado no revólver um conjunto de objetivas de contraste de fase (são marcadas com "PH" no corpo).
- Baixar o condensador usando o manípulo específico:



- Substituir o condensador padrão para campo claro por aquele de contraste de fase:

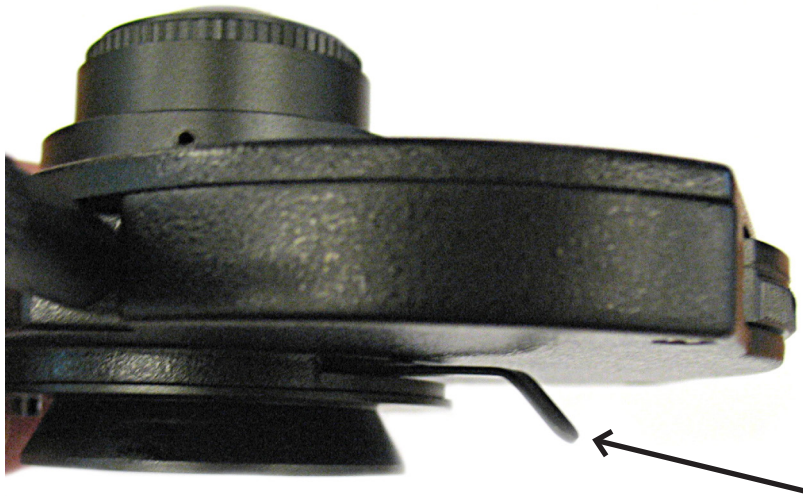


- Inserir completamente o condensador para contraste de fase no seu suporte, empurrando até ao fim do curso:



O condensador deve entrar completamente na guia

- Rodar a braçadeira do condensador até à posição “BF”.
- Abrir completamente o diafragma de abertura:



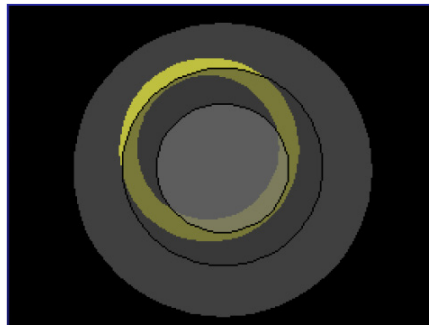
- Acender uma iluminação e colocar uma amostra sobre a mesa (uma amostra opaca facilitará o alinhamento).
- Usando a objetiva 10x, centrar a amostra (movendo a mesa de translação) e focar usando as manípulos macro- e micrométrico.
- Rodar o manípulo de regulação da altura do condensador até obter uma iluminação uniforme na amostra. Importante: a posição ideal corresponde à lente superior do condensador 1-2 mm embaixada face superior da lâmina.
- Rodar a braçadeira do condensador até à posição “10”.

- Extrair um dos dois oculares da cabeça e inserir o telescópio de centragem. Liberar o parafuso do telescópio e mover a parte superior até focar a imagem dos anéis de fase, em seguida apertar o parafuso:



- Normalmente serão visíveis dois anéis: um mais claro e um mais escuro. Aquele claro é a imagem do diafragma a anel do condensador, enquanto que o anel escuro representa o anel de fase dentro da objetiva:

Imagem vista no telescópio

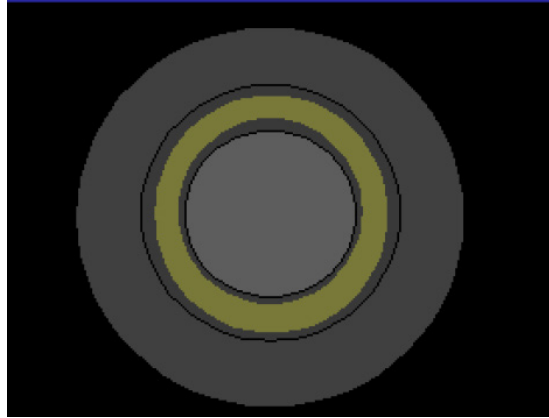


- Pressionar ambos os parafusos longos aos lados do condensador e em seguida rodá-los lentamente até se verificar um deslocamento do anel mais claro:



-
- O objectivo é o de se sobrepor a luz anel de escuro, a fim de que eles se encontrem na mesma posição:

Imagem vista em telescópio, com os anéis centrada



- Lentamente, solte os parafusos de centralização, acompanhando-os para a posição de repouso.
- Substitua o ocular.

Agora você pode ver a imagem de contraste de fase da amostra.

O mesmo procedimento deve ser seguido a fim de alinhar os outros objectivos (20x, 40x, 100x). Note-se que para obter uma imagem adequada, com o objetivo 100x, para ser usado pela imersão em óleo (localizado entre o objetivo ea tampa de vidro-no-objeto).



Phasenkontrast

ANLEITUNG

	Modell
	B-380
	B-500
	B-800
	B-1000

Version: 2

Ausgestellt am: 18, 08, 2014



Inhaltsangabe

Einführung zum Phasenkontrast

Set-up Mikroskope B-380

Set-up Mikroskope B-500 B-800 B-1000

Einführung zum Phasenkontrast

Präparate ohne irgendeine Färbung, die kein Licht absorbieren werden als "Phasenobjekte" bezeichnet, weil sie die Phase des sie durchlaufenden Lichtes leicht verändern, und es im Vergleich zum direkten Licht, das die Probe nicht abgelenkt durchläuft, um eine viertel Wellenlänge verschieben. Unglücklicherweise sind unsere Augen, genau wie die Sensoren der Kameras, nicht in der Lage diese Phasenunterschiede abzuschätzen. Das menschliche Auge reagiert nur auf die Farben des sichtbaren Spektrums (Veränderungen der Lichtfrequenz) oder auf unterschiedliche Stufen der Lichtstärke (Unterschiede der Lichtwellenamplitude).

Bei Phasenobjekten läuft die "Nulllinie" des Lichts nicht abgelenkt durch oder um die Probe herum. Das vom Objekt gebeugte Licht wird (wie bei dunklen Proben) nicht in der Amplitude eingeschränkt, sondern abhängig von Brechungsindex und Dicke der Probe verlangsamt (Phasenverschiebung). Dieses gebeugte Licht, das um ca. eine viertel Wellenlänge verschoben ist, erreicht die Bildebene im Vergleich zum direkten, nicht abgelenkten Licht, mit einer Phasenverschiebung aber mit derselben Intensität. Das Ergebnis ist, dass dem Bild auf Okularebene der Kontrast fehlt und die Details der Probe fast unsichtbar sind.

Zernike entwickelte erfolgreich eine gegenwärtig als Phasenkontrastmikroskopie bekannte Methode, mit der sich Kontrastbilder von transparenten Phasenobjekten erzielen lassen, als ob es sich um dunkle Proben handle.

Eine schematische Darstellung der Konfiguration eines Phasenkontrastmikroskops erfolgt auf Abbildung 1.

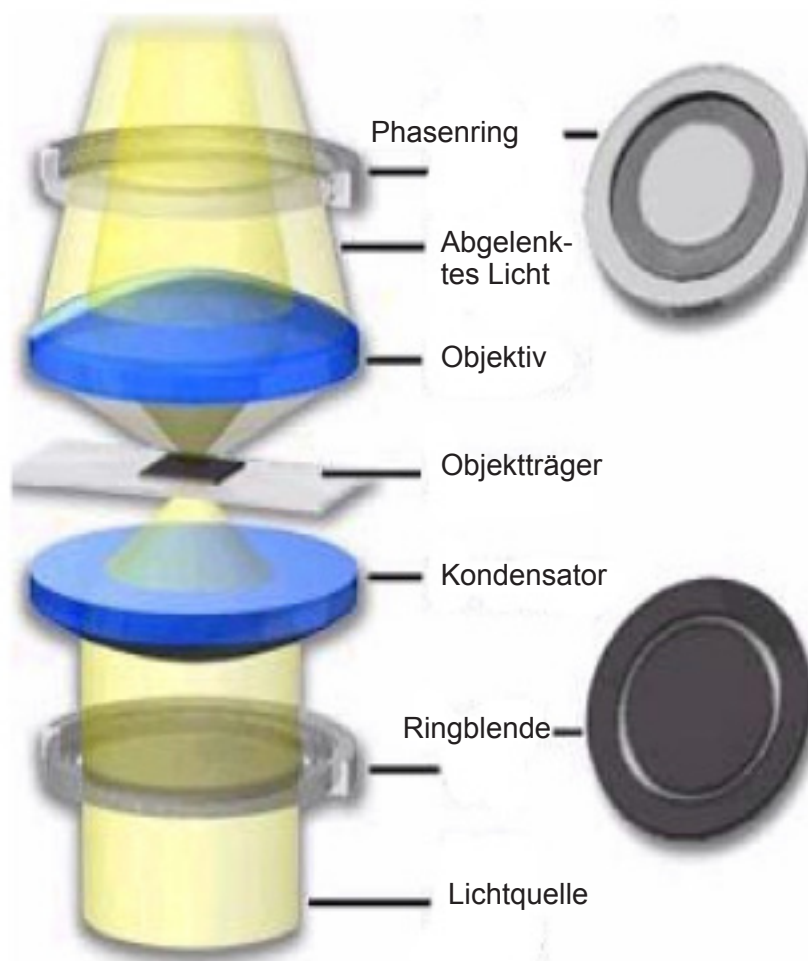


Abbildung 1

Die Probe weist einen exzellenten Kontrast auf, wenn das gebeugte Licht und das direkte (nicht abgelenkte) Licht um eine halbe Wellenlänge verschoben sind. Die Methode von Zernike besteht darin, auch das direkte Licht weiterhin um eine viertel Wellenlänge zu verschieben, damit der Unterschied zwischen gebeugtem und direktem Licht genau einer halben Wellenlänge entspricht. Als Resultat wird von den beiden Lichtkomponenten auf der Okular-Bildebene eine destruktive Interferenz gebildet. Dieses Verfahren erzeugt ein Bild mit dunkleren Details vor einem helleren Hintergrund. Diese Typologie wird als positiver Phasenkontrast bezeichnet (Abbildung 2).

Eine zweite Variante besteht darin, direktes Licht stets um ein viertel der Wellenlänge zu verschieben, aber so, dass es die Bildebene mit gebeugtem Licht erreicht, wodurch eine konstruktive Interferenz erzeugt wird. Dieses Verfahren erzeugt ein Bild mit helleren Details vor einem dunkleren Hintergrund. Diese Typologie wird als negativer Phasenkontrast bezeichnet (Abbildung 3).

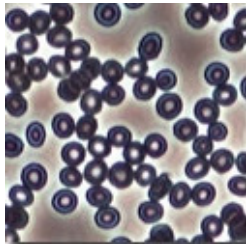


Abbildung 2

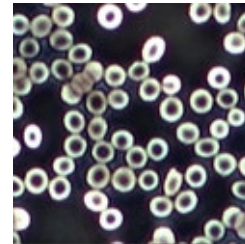


Abbildung 3

Das für das Funktionieren des Phasenkontrastes erforderliche Zubehör ist ein unter dem Tisch zu positionierender Kondensator, der mit einer Ringblende ausgerüstet ist und ein Satz Phasenkontrast-Objektive, wovon jedes mit einem Phasenring ausgestattet sein muss. Die Ausstattung beinhaltet außerdem einen Grünfilter (um die Auflösung zu steigern) und ein Einstellteleskop (um die Ringe zu zentrieren).

Die Phasenkontrastmikroskopietechniken sind bei dünnen und im Sichtfeld verteilten Proben besonders nützlich. Für diese Technik gelten einige Einschränkungen:

- Phasenbilder weisen normalerweise Ränder um die Kanten der Details herum auf. Diese Ränder sind optische Artefakte, die die Grenzen zwischen angrenzenden Details manchmal verdunkeln können.
- Die Phasenringe schränken die numerische Apertur des optischen Systems ein, indem sie (auf jeden Fall minimal) die Auflösung reduzieren.
- Der Phasenkontrast funktioniert am schlechtesten bei dicken Proben, weil die Phasenunterschiede in Zonen erfolgen, die nur etwas über oder unter der Brennebene liegen.
- Die Phasenbilder erscheinen bei Benutzung von weißem Licht grau, und wenn ein Grünfilter eingesetzt wird, grün.

Set-up Mikroskope B-380

Um den Phasenkontrast für Serie B-380 zu benutzen, folgende Schritte befolgen:

- Sicherstellen, dass am Revolver eine Satz Phasenkontrast-Objektive angebracht ist (am Körper mit "PH" gekennzeichnet).
- Kondensator mithilfe des entsprechenden Griffs senken:



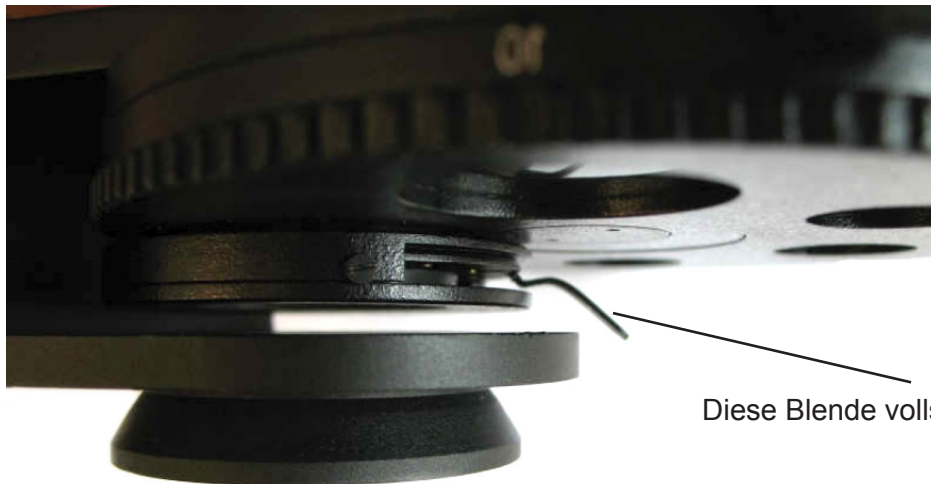
- Standard-Hellfeldkondensator durch einen für Phasenkontrast ersetzen:



- Phasenkontrast-Kondensor vollständig in seiner Halterung einsetzen, indem er bis zum Endanschlag gedrückt wird:



- Kondensor-Ring bis zur Position "0" (Hellfeld) drehen.
- Aperturblende komplett öffnen:



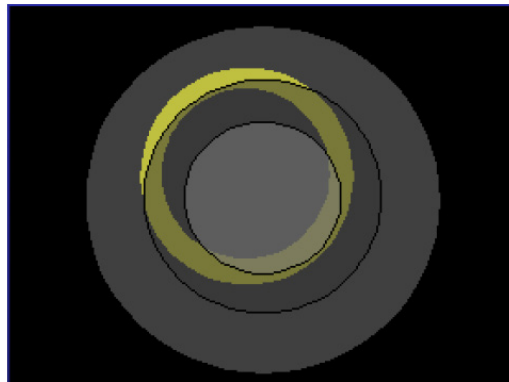
- Beleuchtung einschalten und eine Probe auf den Tisch legen (eine dunkle Probe erleichtert die Zentrierung).
- Die Probe mithilfe des 10x-Objektivs (indem der Schiebetisch bewegt wird) zentrieren und mit den
- Grob- und Feineinstellung scharf stellen.
- Den Einstellgriff für die Kondensorhöhe so lange drehen, bis die Probe gleichmäßig beleuchtet ist. Wichtig: Die optimale Position entspricht der oberen Linse des Kondensors 1-2 mm unterhalb der Unterseite des Objektträgers.
- Kondensor-Ring bis zur Position "10" drehen.

- Einen der beiden Okulare aus dem Tubus ziehen und das Einstellteleskop einsetzen. Den oberen Teil so lange drehen, bis das Bild der Phasenringe scharf gestellt ist:

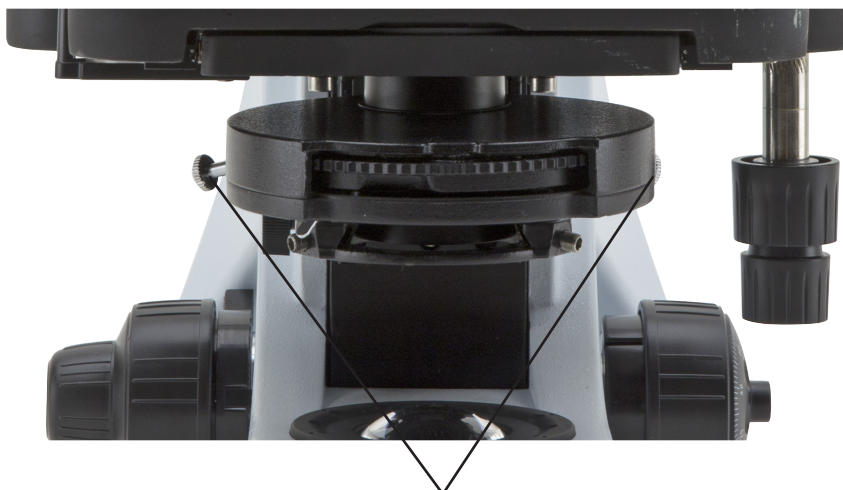


- Typischerweise sind zwei Ringe sichtbar, ein hellerer und ein dunklerer. Der hellere ist das Bild der Kondensator-Ringblende, während der dunkle Ring den Phasenring im Objektiv repräsentiert:

Im Teleskop gesehenes Bild



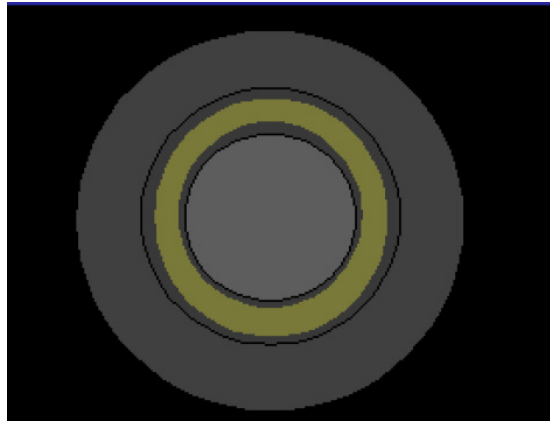
- Die Hebel auf beiden Kondensorseiten drehen. Es wird festgestellt, dass der helle Ring die Position ändert:



Hebel zur Zentrierung der Ringe

-
- Der Zweck besteht darin, den hellen Ring mit dem dunklen Ring zu überlagern, damit sie deckungsgleich sind:

Im Teleskop gesehenes Bild, bei zentrierten Ringen



- Okular wieder einsetzen

Jetzt kann das Phasenkontrastbild der Probe dargestellt werden.

Für die Zentrierung der anderen Objektive (20x, 40x, 100x) auf dieselbe Weise vorgehen. Um mit dem 10x Objektiv ein korrektes Bild zu erhalten, muss Immersions-Öl (zwischen Objektiv und Objektträger-Abdeckglas) benutzt werden.

Set-up Mikroskope B-500 B-800 B-1000

Um den Phasenkontrast für Serie B-500, B-800 und B-100 zu benutzen, folgende Schritte befolgen:

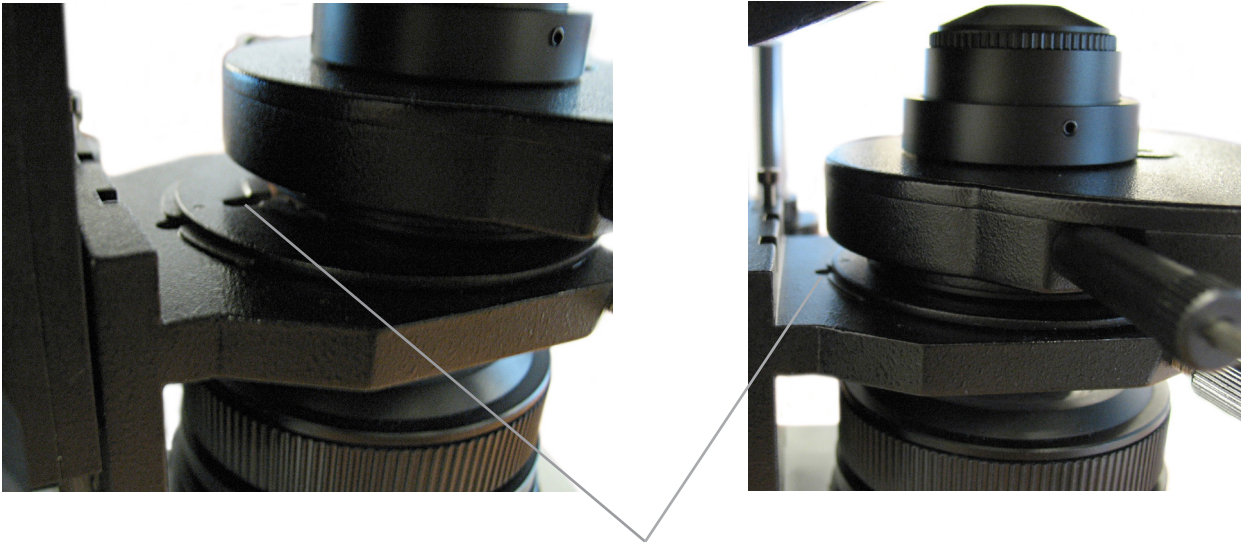
- Sicherstellen, dass am Revolver ein Satz Phasenkontrast-Objektive angebracht ist (am Körper mit "PH" gekennzeichnet).
- Kondensator mithilfe des entsprechenden Griffs senken:



- Standard-Hellfeldkondensator durch einen für Phasenkontrast ersetzen:

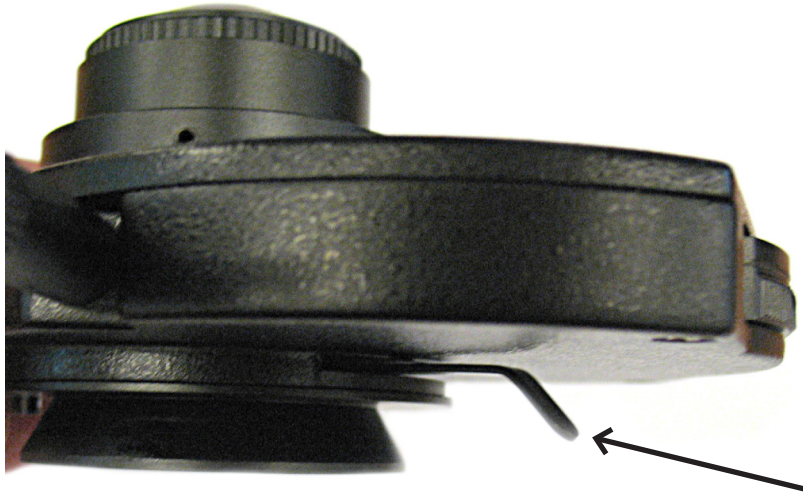


- Phasenkontrast-Kondensor vollständig in seiner Halterung einsetzen, indem er bis zum Hubende gedrückt wird:



Der Kondensor muss vollständig in die Führung eingesetzt werden

- Kondensor-Ring bis zur Position "BF" drehen.
- Aperturblende komplett öffnen:



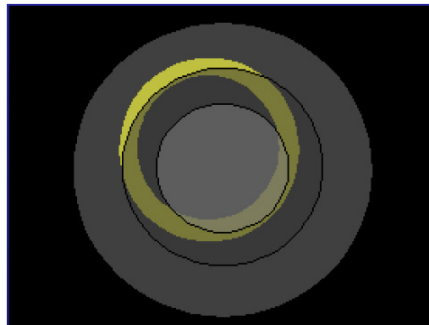
- Beleuchtung einschalten und eine Probe auf den Tisch legen (eine dunkle Probe erleichtert die Zentrierung).
- Die Probe mithilfe des 10x-Objektivs (indem der Schiebetisch bewegt wird) zentrieren und mit der Grob- und Feineinstellung scharf stellen.
- Den Einstellgriff für die Kondensorhöhe so lange drehen, bis die Probe gleichmäßig beleuchtet ist. Wichtig: die optimale Position entspricht der oberen Linse des Kondensors 1-2 mm unterhalb der Unterseite des Objektträgers.
- Kondensor-Ring bis zur Position "10" drehen.

- Eines der beiden Okulare aus dem Tubus ziehen und das Einstellteleskop einsetzen. Die Teleskop-Schraube lockern und den oberen Teil so lange bewegen, bis das Bild der Phasenringe scharf gestellt ist, die Schraube anschließend wieder anziehen:



- Typischerweise sind zwei Ringe sichtbar, ein hellerer und ein dunklerer. Der hellere ist das Bild der Kondensor-Ringblende, während der dunkle Ring den Phasenring im Objektiv repräsentiert:

Im Teleskop gesehenes Bild

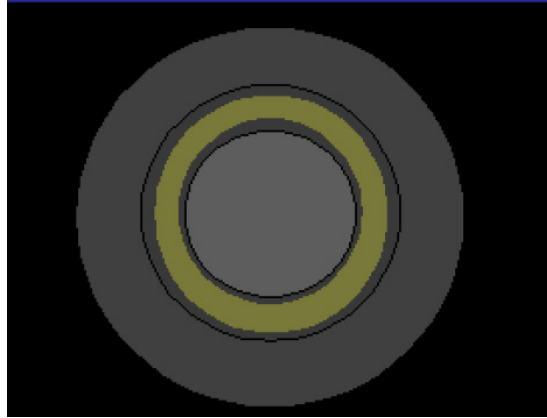


- Beide Schrauben an den Kondensorseiten drücken und danach so lange langsam drehen, bis eine Verschiebung des helleren Rings wahrgenommen wird:



-
- Der Zweck besteht darin, den hellen Ring mit dem dunklen Ring zu überlagern, damit sie deckungsgleich sind:

Im Teleskop gesehenes Bild, bei zentrierten Ringen



- Langsam lassen Sie die Zentrierung Schrauben, Begleit in die Ruheposition.
- Okular wieder einsetzen.

Jetzt kann das Phasenkontrastbild der Probe dargestellt werden.

Für die Zentrierung der anderen Objektive (20x, 40x, 100x) auf dieselbe Weise vorgehen. Um mit dem 10x Objektiv ein korrektes Bild zu erhalten, muss Immersions-Öl (zwischen Objektiv und Objektträger-Abdeckglas) benutzt werden.

Headquarters and Manufacturing Facilities

OPTIKA® S.r.l.

Via Rigla, 30 - 24010 Ponteranica (BG) - ITALIA Tel.: +39 035.571.392 - Fax: +39 035.571.435
info@optikamicroscopes.com - www.optikamicroscopes.com

Optika Sales branches

OPTIKA® Spain

spain@optikamicroscopes.com

OPTIKA® USA

usa@optikamicroscopes.com

OPTIKA® China

china@optikamicroscopes.com

OPTIKA® Hungary

hungary@optikamicroscopes.com
