ISTITUTO NAZIONALE di FISICA NUCLEARE
Sezione di Bologna

Giovanni Pietro SINI

P R O B L E M I T E C N I C I

d e l l a

M I C R O S C O P I A O T T I C A

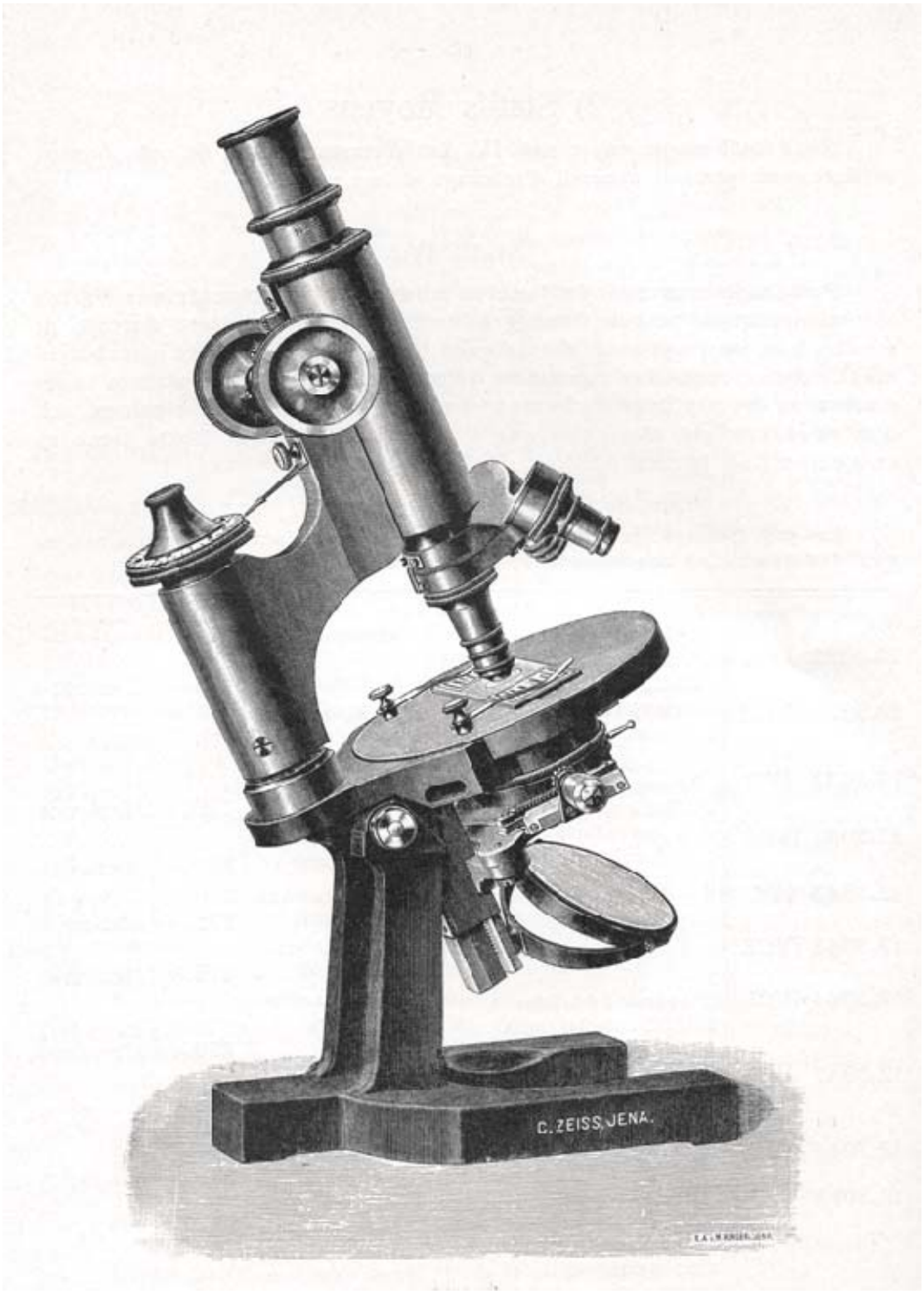
Revisione ed aggiornamento con la collaborazione di

Donato Di FERDINANDO e Gabriele SIRRI

Bologna - 2005

Revisione del Novembre 2013

NB: Questo testo può venir liberamente copiato, diffuso o stampato, purché a titolo gratuito e con la citazione della fonte



Stativo IV C con revolver, 3 obiettivi ed un oculare
(Incisione tratta da : Carl Zeiss Jena, "Microscopes et Appareils Auxiliaires"
35eme edition, 1913)

Alla memoria dei miei genitori
che mi hanno insegnato a pensare

I CONTENUTI

Questo manuale intende rivolgersi a tutti coloro che operano sul microscopio ottico per la ricerca, l'insegnamento, la manutenzione, la riparazione, la conservazione museale o semplicemente l'uso amatoriale.

Esso nasce dall'esperienza sviluppatasi nel corso di decenni di lavoro nel campo dell'ottica a Bologna, presso l'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, prima all'interno del CNAF, con la costruzione di sofisticate macchine ottico-meccaniche per l'analisi automatica di fotogrammi, poi con collaborazioni con il CERN, con l'ENEA, con l'Istituto Naz. di Ottica di Firenze; tutto ciò nell'ambito di esperimenti di fisica in cui l'utilizzazione di strumentazione ottica è fondamentale per la misura e l'acquisizione dei dati, come nei recenti sviluppi di macchine per l'analisi di emulsioni nucleari.

In Italia è assai carente la letteratura tecnica nel campo della microscopia ottica; non esistono riviste specializzate, non vi sono istituti, scuole o corsi.

Da molti anni hanno cessato l'attività la gloriosa casa KORISTKA di Milano ed il reparto microscopia delle Officine GALILEO. Da allora in Italia si acquistano solo strumenti di importazione ed i rapporti con i costruttori sono sempre indiretti e spesso insoddisfacenti.

Questo manuale vuole quindi riempire una lacuna. Esso tratta di microscopia ottica generale, con qualche cenno alle tecniche speciali (tecniche di contrasto, polarizzazione, fluorescenza, fotografia, ripresa televisiva). Innovazioni tecniche recentissime (microscopia confocale, per es.) non vengono trattate poiché si tratta di applicazioni ancora in evoluzione.

Gli aspetti matematici della materia sono limitati all'illustrazione dei fenomeni fondamentali e richiedono solo la conoscenza dell'algebra ed i rudimenti della trigonometria. I fenomeni fisici di base sono descritti separamente, spesso in maniera intuitiva.

L'impostazione è essenzialmente tecnica, con l'attenzione sia ai problemi concettuali, sia ai problemi pratici che deve affrontare il micrografo in genere. Si è cercato soprattutto di dare una comprensione ove possibile intuitiva del perché dei fenomeni descritti e dei suggerimenti pratici proposti di volta in volta.

Sia pure a livello di princìpi generali, vengono date indicazioni sui controlli e sulle operazioni di allineamento parziale o totale che il tecnico deve affrontare durante e dopo lo smontaggio dello strumento, come è richiesto dalle normali operazioni di manutenzione e pulizia.

Sempre pensando alla manutenzione, vengono descritti accessori, strumenti o soluzioni tecniche non più in commercio, ma che il tecnico può ugualmente essere chiamato a smontare e riparare.

Questo manuale è circolato in una versione preliminare negli anni '90. Recentemente è stato rivisto con la collaborazione di due giovani ricercatori dell'INFN, la grafica migliorata ed i formati adattati, anche allo scopo di renderlo disponibile in rete, per permettere una facile consultazione a chiunque abbia necessità od interesse ad occuparsi di microscopia ottica.

OLYMPUS®, Modello VANOX (da: Catalogo Olympus M215E-0691B -1995)

PRESENTAZIONE

La microscopia ottica è una tecnica che, purtroppo, viene data per scontata. Pochi hanno la pazienza di insegnarla e forse ancora meno sono quelli che hanno la pazienza di apprenderla.

Il risultato è che tutti i laboratori, dipartimenti, istituti sperimentali hanno microscopi di vario tipo ed applicazione, ma la manutenzione è molto spesso carente: l'ottica non è pulita, non è centrata e quindi la qualità dell'osservazione immancabilmente ne risente.

Per di più, è comune attitudine il considerare questa branca come ormai completamente sistematizzata e quindi non in grado di offrire agli studiosi un campo di applicazione sufficientemente stimolante e motivante.

Meno che mai poi nel mondo accademico si sente la necessità di una presentazione degli aspetti tecnici della microscopia: o si studiano i problemi fondamentali o non vale la pena di applicarsi.

Per questo credo che sia particolarmente utile quest'opera dell'amico Dr. Giovanni Pietro Sini. Con sistematicità esamina tutta la problematica sia teorica che applicativa del microscopio ottico e lo riporta al rango di strumento indispensabile in tanti rami della ricerca sperimentale.

Con l'avvento dell'optoelettronica e dei calcolatori potenti e veloci, la microscopia ha recentemente ripreso un enorme impulso, con la possibilità di grandi profondità di campo e con la ricostruzione delle immagini per mezzo delle funzioni di trasferimento. Nella tecnica, la successiva analisi di immagine trova estesissime applicazioni in biologia, scienza dei materiali, tecnologia delle polveri.

Sono grato al Dr. Sini per avere colmato questa lacuna bibliografica e per continuare a ricordarci che niente è scontato, e meno che mai il microscopio ottico.

Prof. Vittorio PRODI
Dipartimento di Fisica
Università di Bologna

SOMMARIO

I CONTENUTI 3
PRESENTAZIONE 5
1 – TERMINOLOGIA 15
1.1 - "OTTICO" 15
1.2 - MICROSCOPIO 18
1.2.1 - Ingrandire 18
1.2.2 - Risolvere 19
1.3 - MICROGRAFIA 20
1.4 - MICROSCOPIA 21
1.5 - TECNICA MICROSCOPICA 21
1.6 - "OGGETTO" 21
1.7 - "IMMAGINE 22
1.8 - OBBIETTIVO - OCULARE 22
2 – ELEMENTI DI OTTICA 23
2.1 - LA MISURA DEGLI ANGOLI 23
2.2 - LE FUNZIONI TRIGONOMETRICHE 23
2.2.1 - Seno 24
2.2.2 - Tangente 24
2.3 - LA RIFRAZIONE 24
2.3.1 - Legge di Snell 25
2.3.2 - Le conseguenze 26
2.4 - IL PRISMA DEVIATORE 28
2.5 - LE LENTI SFERICHE 29
2.5.1 - L'approssimazione di Gauss 31
2.6 – LE IMMAGINI REALI 32
2.6.1 - Leggi fondamentali 33
2.6.2 - Casi notevoli - L'ingrandimento 34
2.7 - LE IMMAGINI VIRTUALI 39
2.8 - LE LENTI SPESSE ED I PIANI PRINCIPALI 41
3 – PRINCIPIO DELL'OBBIETTIVO 43
3.1 - OBBIETTIVI "A CONIUGATA FINITA" 43
3.2 - OBBIETTIVI "A CONIUGATA INFINITA 43
3.2.1 - La lente convergente 44
3.2.2 - Il "Telan" 44
3.2.3 - Obbiettivi a coniugata infinita 45
4 – PRINCIPIO DELL'OCULARE 49
4.1 - LA LENTE D'INGRANDIMENTO 49
4.2 - L' "EFFETTO DEL TUBO" 50
4.3 - L'INGRANDIMENTO VISUALE 51
4.4 - L'OCULARE E L'IMMAGINE INTERMEDIA 52
5 – I DIAFRAMMI 55
5.1 - DIAFRAMMI DI CAMPO 56
5.2 - APERTURA E DIAFRAMMI D'APERTURA 57
5.2.4 - Apertura relativa 57
5.2.5 - Apertura numerica 58
5.2.6 - Diaframma d'apertura 59
5.2.7 - Disco di Ramsden 59
5.2.8 - Diaframma dell'obbiettivo 60
5.2.9 - Apertometri 61
6 – LE PUPILLE 63
6.1 - LA VIGNETTATURA 63
7 – I CAMPI 65
7.1 - CAMPO ANGOLARE ED INDICE DI CAMPO 66
7.2 - OCULARI NEGATIVI 68

8 − L'ILLUMINAZIONE DELL'OGGETTO 71
8.1 – DIASCOPÌA E FONDO CHIARO 71
8.2 - LE SORGENTI 72
8.3 - IL PRINCIPIO DEL CONDENSATORE 73
8.4 - ILLUMINAZIONE DIFFUSA SEMPLICE 73
8.5 – ILLUMINAZIONE DIFFUSA CON CONDENSATORE 75
8.6 - ILLUMINAZIONE CRITICA 77
8.7 - ILLUMINAZIONE CRITICA CON COLLETTORE 78
8.8 - ILLUMINAZIONE SECONDO I PRINCÌPI DI A. KÖHLER 78
8.9 - ALLINEAMENTO DELL' ILLUMINAZIONE SEC. A. KÖHLER 83
8.10 - LA RESA FOTOMETRICA DEL SISTEMA ILLUMINANTE 85
9 − LA PUPILLA DELL' OCULARE 87
10 − LA LUNGHEZZA DEL TUBO 89
11 − I PRISMI 91
12 − LA MISURA DELL' INGRANDIMENTO 93
12.1 - I MICROMETRI ED I VETRINI 93
12.2 - L'INGRANDIMENTO DELL'OBBIETTIVO 94
12.3 - LE MISURE GEOMETRICHE AL MICROSCOPIO 95
12.4 - L'INGRANDIMENTO LONGITUDINALE O ASSIALE 97
12.5 - L'INGRANDIMENTO VISUALE DELL'OCULARE 98
12.6 - L'INGRANDIMENTO LINEARE DELL'OCULARE 98
12.7 - L'INGRANDIMENTO GLOBALE DEL MICROSCOPIO 100
12.7.1 - Ingrandimento visuale 100
12.7.2 - Ingrandimento lineare 100
12.7.3 - Fattore di tubo 101
12.8 - L'INGRANDIMENTO NOMINALE 101
13 − L'OTTICA NON GAUSSIANA - LE ABERRAZIONI 103
13.1 - LE ABERRAZIONI DEL PIANO 104
13.1.1 - La curvatura di campo 104
13.1.2 - La distorsione 107
13.2 - LE ABERRAZIONI DEL PUNTO - LA DEFINIZIONE 108
13.2.1 - L'aberrazione cromatica longitudinale o assiale. 109
13.2.2 - L'aberrazione cromatica laterale o trasversale 112
13.2.3 - L'aberrazione sferica o di sfericità 112
13.2.3.1 - La lunghezza del tubo 114
13.2.3.2 - La distanza fra le lenti 114
13.2.3.3 - Lo spessore della lamella 115
13.2.4 - La coma 117
13.2.5 - L'astigmatismo 118
13.3 - CONSIDERAZIONI GENERALI SULLE ABERRAZIONI DEL PUNTO 120
13.4 - L'ABERRAZIONE D'ONDA 121
13.5 - RIMEDI CONTRO LE ABERRAZIONI 122
14 − LA PROFONDITÀ DI CAMPO 123
14.1 - L'EFFETTO DELL'OCCHIO 127
15 − LA PERCEZIONE 131
16 − L' IMMERSIONE 133
16.1 - L'OLIO DA IMMERSIONE 135
16.2 - I VANTAGGI 136
16.3 - GLI SVANTAGGI 137
16.4 - LA PULIZIA 138
16.5 - LA LAMELLA E L'IMMERSIONE 139
16.6 – LA NOTAZIONE 139
17 − IL CONTRASTO 141
17.1 - IL CONTRASTO PER OGGETTI ESTESI 141
17.1.1 - Campo illuminato eccessivo 142
17.1.2 - I riflessi 142

17.1.3 - L'apertura eccessiva *144*
17.1.4 - Le imperfezioni *144*
17.1.5 - I cementi *144*
17.2 - IL CONTRASTO PER OGGETTI "PICCOLI" **145**
17.3 - I RIMEDI **147**
18 − OTTICA ONDULATORIA **149**
18.1 - DIFFRAZIONE DA UNO SPIGOLO **149**
18.2 - DIFFRAZIONE DA UN'APERTURA CIRCOLARE **150**
18.3 - LA DIFFRAZIONE IN UNA LENTE CONVERGENTE - LA CENTRICA **150**
18.4 - L'OSSERVAZIONE DELLA CENTRICA - LO STAR TEST **155**
18.5 - LA DIFFRAZIONE E LA RISOLUZIONE DEI RETICOLI **158**
18.6 - IL SIGNIFICATO DELL'APERTURA **162**
18.7 - LA DIFFRAZIONE NELLA PUPILLA D'OBBIETTIVO **165**
18.8 - L'OSSERVAZIONE DEI MASSIMI **165**
18.9 - L'APERTURA DEL CONDENSATORE E L'ILLUMINAZIONE OBLIQUA **166**
18.10 - L'APERTURA ED IL CONTRASTO - IL CAMPO OSCURO **170**
18.11 - LA MISURA DELL'APERTURA **172**
18.12 - L'INGRANDIMENTO "UTILE" **175**
19 − GLI OBBIETTIVI DA MICROSCOPIO **181**
19.1 - LA MONTATURA MECCANICA **181**
19.1.1 - Il fissaggio dell'obbiettivo *185*
19.1.2 - Lunghezza meccanica e parfocalità *186*
19.1.3 - Distanza di lavoro *189*
19.1.4 - La parcentralità o parcentratura *190*
19.1.5 - La notazione sugli obbiettivi *191*
19.2 - IL SISTEMA OTTICO DELL'OBBIETTIVO DA MICROSCOPIO **193**
19.2.1 - La "luminosità" dell'obbiettivo *194*
19.2.2 - La "nitidezza" *194*
19.2.3 - La struttura dell'obbiettivo *196*
19.2.3.1 - Obbiettivi classici, a campo non spianato 197
19.2.3.2 - Obbiettivi a campo spianato 199
19.2.4 - Obbiettivi a grande campo *202*
19.2.5 - Obbiettivi senza lamella *203*
19.2.6 - Il diaframma ad iride incorporato *205*
19.3 - LE CLASSI DI CORREZIONE DELL' OBBIETTIVO DA MICROSCOPIO **205**
19.3.1 - La compensazione *208*
19.3.2 - L'acromatismo totale ed i sistemi CF *211*
19.3.3 - Obbiettivi monocromatici e policromatici *212*
19.3.4 - Obbiettivi catottrici e "long distance" *213*
19.4 - LA SCELTA E L'EQUIPOLLENZA DEGLI OBBIETTIVI **215**
19.4.1 - Parametri meccanici *215*
19.4.2 - Parametri ottici *216*
19.4.3 - La scelta *216*
19.5 - IL CONTROLLO DELL'OBBIETTIVO **218**
19.5.1 - Difetti contingenti *218*
19.5.2 - Difetti di montaggio *220*
19.5.3 - Difetti di progetto *221*
19.5.4 - I reticoli *222*
19.5.5 - L'osservazione della pupilla ed il microscopio ausiliario *224*
19.6 - MANUTENZIONE DELL'OBBIETTIVO **226**
20 − L' OCULARE DA MICROSCOPIO **229**
20.1 - IL CAMPO DELL' OCULARE **231**
20.2 - LA PARFOCALITÀ DEGLI OCULARI **232**
20.3 - STRUTTURA MECCANICA **233**
20.4 - STRUTTURA OTTICA **235**
20.4.1 - Oculari positivi e negativi *235*
20.4.2 - Le formule classiche *236*
20.4.3 - Le aberrazioni degli oculari *238*
20.4.4 - La cromatica *238*

20.5 - EQUIPOLLENZA DEGLI OCULARI ... **239**
20.6 - OCULARI DIVERGENTI ... **239**
20.7 - OCULARI PROIETTIVI ... **240**
20.8 - OCULARI DI MISURA ... **242**
20.9 - LA NOTAZIONE DEGLI OCULARI ... **244**
20.10 - OCULARI ED OCCHIALI ... **245**
20.11 - LA PULIZIA DELL' OCULARE ... **246**
21 − IL CONDENSATORE ... **249**
21.1 - CAMPO DEL CONDENSATORE ... **250**
21.1.1 - Le soluzioni di ripiego ... *251*
21.1.2 - Il diaframma di campo ad iride ... *251*
21.1.3 - La lente frontale estraibile ... *252*
21.1.4 - L'abbassamento del fuoco immagine ... *254*
21.1.5 - Condensatori intercambiabili ... *255*
21.1.6 - Tipi speciali ... *256*
21.1.7 - La distanza della sorgente ... *256*
21.2 - RESA FOTOMETRICA DEL CONDENSATORE ... **257**
21.3 - DISTANZA FRONTALE DEL CONDENSATORE ... **258**
21.4 - FOCALIZZAZIONE DEL CONDENSATORE ... **259**
21.5 - APERTURA DEL CONDENSATORE ... **262**
21.6 - STRUTTURA DEL CONDENSATORE ... **264**
21.7 - ABERRAZIONI DEL CONDENSATORE ... **266**
21.8 - DIAFRAMMI ANULARI ... **268**
21.9 - CENTRATURA DEL CONDENSATORE ... **269**
21.10 - PULIZIA E SMONTAGGIO DEL CONDENSATORE ... **270**
22 − LA MICRO - LAMPADA ... **273**
22.1 - LO SPECCHIO ... **274**
22.1.1 - Argentatura ... *274*
22.1.2 - Alluminatura ... *275*
22.1.3 - Gli specchi interferenziali ... *276*
22.1.4 - Lo specchio concavo ... *276*
22.2 - IL COLLETTORE ... **277**
22.2.1 - La focale del collettore ... *278*
22.2.2 - L'apertura del collettore ... *279*
22.2.3 - Le aberrazioni del collettore ... *280*
22.2.4 - Le superfici smerigliate ... *281*
22.3 - IL DIAFRAMMA DI CAMPO ILLUMINATO ... **281**
22.4 - LO SPECCHIO SFERICO POSTERIORE ... **282**
22.5 - IL PORTA FILTRI ... **283**
22.6 - IL CORPO LUMINOSO ... **283**
22.6.1 - Sorgenti ad incandescenza ... *284*
22.6.2 - Sorgenti ad arco ... *287*
22.6.3 - Sorgenti a fiamma ... *290*
22.6.4 - Caratteristiche del corpo luminoso ... *290*
22.7 - FOCHEGGIATURA DEL CORPO LUMINOSO ... **294**
22.8 - CENTRATURA DELLA MICROLAMPADA ... **295**
22.9 - ERRORI NELLA CENTRATURA DI TUTTO IL SISTEMA ILLUMINANTE ... **296**
23 − I FILTRI OTTICI ... **299**
23.1 - COMPOSIZIONE DEI FILTRI ... **301**
23.2 - FUNZIONI DEI FILTRI ... **303**
23.3 - I FILTRI IN MICROSCOPIA GENERALE ... **305**
24 − TUBI PORTA - OCULARI ... **309**
24.1 - TUBI BI - OCULARI ... **311**
24.1.1 - Correzione diottrica e parfocalità ... *313*
24.1.2 - L' "effetto del tubo" e la convergenza ... *314*
24.1.3 - Distanza inter-pupillare ... *314*
24.1.4 - Centratura ... *317*
24.1.5 - Fattore di tubo ... *317*
24.1.6 - Equipollenza dei tubi ... *318*

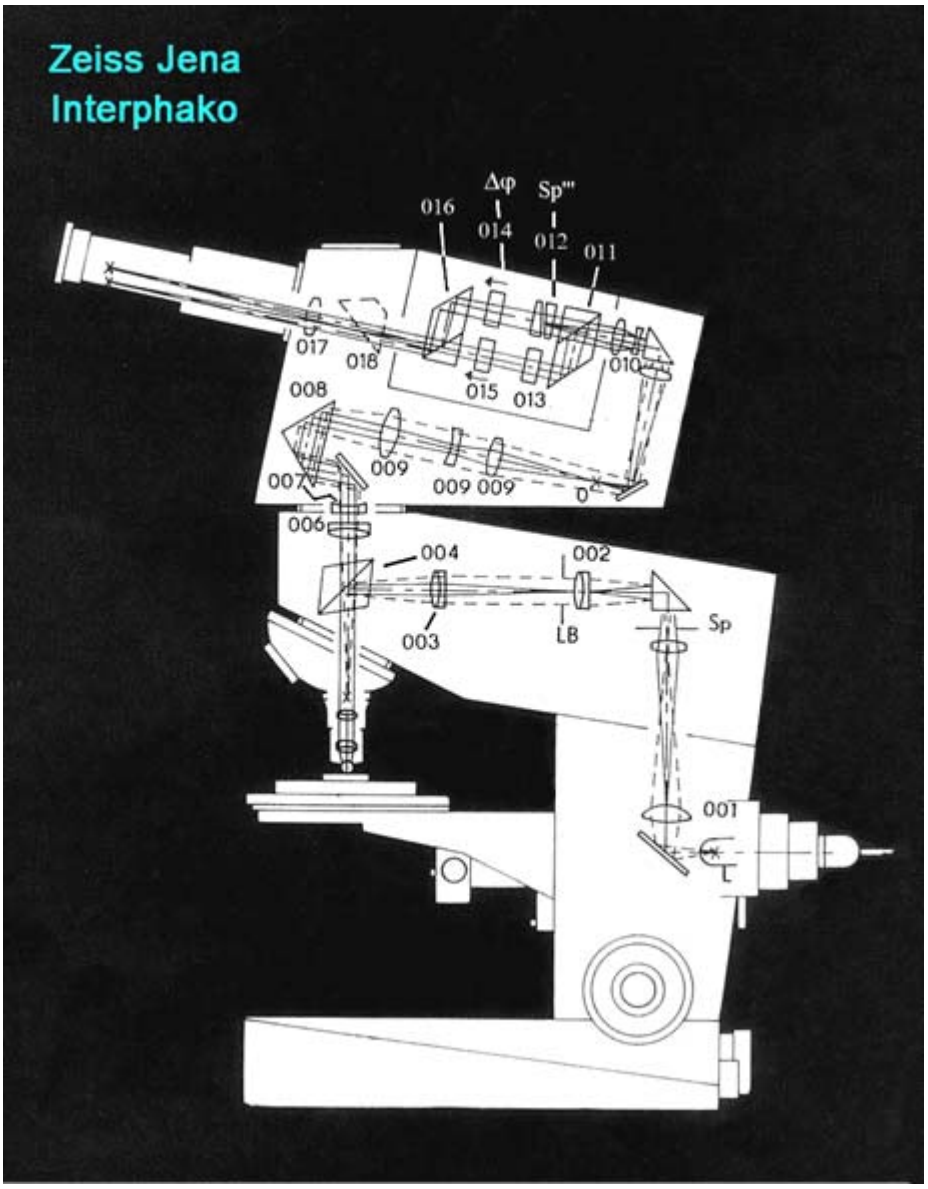
24.2 - TUBI TRIOCULARI **319**
24.2.1 - Tubo intermedio *319*
24.2.2 - Tubo unico *321*
25 – TUBI INTERMEDI **323**
25.1 - LENTI SEMPLICI **323**
25.2 - LENTI COMPLESSE **324**
25.3 - PRISMI **325**
25.4 - FILTRI **326**
26 – I TAVOLINI **329**
26.1 - TAVOLINI FISSI **331**
26.2 - IL GUIDA - OGGETTI **332**
26.3 - TAVOLINI GIREVOLI **334**
26.4 - TAVOLINI TRASLATORI **336**
26.5 - PROBLEMI MECCANICI **337**
26.5.1 - Rigidità *337*
26.5.2 - Giochi *338*
26.5.3 - Isteresi *339*
26.5.4 - Frizioni *339*
26.5.5 - Fine corsa *340*
26.5.6 - Velocità *341*
26.6 - TAVOLINI A SCIVOLAMENTO **342**
27 – LO STATIVO **343**
27.1 - I TIPI FONDAMENTALI **344**
27.1.1 - Stativi diritti *344*
27.1.2 - Stativi a perno *345*
27.1.3 - Stativi a colonna *346*
27.1.4 - Stativi da ricerca *347*
27.1.5 - Stativi rovesciati *349*
27.2 - LA STRUTTURA DELLO STATIVO **351**
27.2.1 - La base *352*
27.2.2 - La messa a fuoco *352*
27.2.3 - Il revolver *355*
27.3 - PROBLEMI MECCANICI **357**
27.4 - LE CENTRATURE **358**
27.5 - LA SCELTA DELLO STATIVO **360**
27.6 - CONTROLLI E MANUTENZIONE SULLO STATIVO **360**
27.7 - GLI ACCESSORI SPECIALI **362**
27.7.1 - Lato oculare *362*
27.7.2 - Lato tubo *365*
27.7.3 - Lato obbiettivo *366*
27.7.4 - Lato tavolino *367*
27.7.5 - Lato condensatore *368*
27.7.6 - Lato base *368*
28 – LA VISIONE MICROSCOPICA **371**
29 – STEREO - MICROSCOPIA **375**
29.1 - LE CARATTERISTICHE SALIENTI **377**
29.2 - LA "SCATOLA" DEI PRISMI **379**
29.3 - FINI ED APPLICAZIONI **380**
29.4 - PROBLEMI PARTICOLARI **382**
29.4.1 - Parcentralità *382*
29.4.2 - Parfocalità *384*
29.4.3 - L'angolo fra gli assi *385*
29.5 - LO SCHEMA DI GREENOUGH **386**
29.5.1 - Svantaggi *387*
29.5.2 - Vantaggi *388*
29.5.3 - Variazione d'ingrandimento *388*
29.6 - LO SCHEMA DI ABBE A PUPILLA DIVISA **390**
29.7 - L'OBBIETTIVO UNICO **391**

29.7.1 - Svantaggi ... 392
29.7.2 - Vantaggi ... 392
29.7.3 - Variazione d'ingrandimento ... 393
29.7.4 - Sistemi misti ... 394
29.8 - OBBIETTIVI ADDIZIONALI ... **394**
29.9 - SISTEMI ZOOM ... **395**
29.10 - LE ABERRAZIONI ... **396**
29.11 - ILLUMINAZIONE EPISCOPICA ... **396**
29.11.1 - Laterale ... 396
29.11.2 - Diffusa ... 398
29.11.3 - Verticale o coassiale ... 398
29.12 - ILLUMINAZIONE DIASCOPICA ... **400**
29.12.1 - Fondo chiaro ... 400
29.12.2 - Fondo scuro ... 401
29.13 - LO STATIVO ... **401**
29.13.1 - Accessori speciali ... 402
29.13.2 - Tavolini ... 403
29.13.3 - Modelli speciali ... 404
30 – LE TECNICHE SPECIALI ... **407**
30.1 - EPISCOPIA ... **407**
30.1.1 - L'episcopia in fondo scuro ... 412
30.1.2 - Stativi rovesciati ... 414
30.2 - IL FONDO SCURO E L'ILLUMINAZIONE OBLIQUA ... **414**
30.3 - IL CONTRASTO A MODULAZIONE D'AMPIEZZA ... **417**
30.4 - IL CONTRASTO DI FASE ... **419**
30.5 - IL CONTRASTO INTERFERENZIALE ... **422**
30.6 - LA FLUORESCENZA ... **424**
30.6.1 - Eccitazione in luce trasmessa ... 427
30.6.2 - Eccitazione in episcopia ... 427
30.7 - MICROSCOPIA IN RADIAZIONE POLARIZZATA ... **429**
30.8 - LA FOTO - MICROGRAFIA ... **432**
30.8.1 - Inquadramento ... 434
30.8.2 - Delimitare l'immagine ... 435
30.8.3 - Focalizzare ... 436
30.8.4 - Misurare il tempo di esposizione ... 438
30.8.5 - L'otturatore ... 440
30.8.6 - Definizione e risoluzione nell'immagine fotografica ... 440
30.8.7 - I formati e le emulsioni ... 441
30.8.8 - I filtri ... 442
30.8.9 - Le sorgenti ... 443
30.9 - LA RIPRESA TELEVISIVA AL MICROSCOPIO ... **444**
30.9.1 - Il materiale sensibile televisivo ... 445
30.9.2 - Sensibilità spettrale ... 446
30.9.3 - Sensibilità totale ... 447
30.9.4 - Risoluzione ... 447
30.9.5 - Dimensioni utili della superficie sensibile ... 449
30.9.6 - Peso, ingombro, attacco meccanico ... 451
30.9.7 - Rapporto segnale/rumore (S / R) o "signal/noise ratio" (S / N) ... 451
30.9.8 - Il contrasto ... 452
30.9.9 - Stabilità a lungo termine, "stampaggio" e "burning" ... 453
30.9.10 - Persistenza a breve termine ("lag") ... 453
30.9.11 - Distorsione ... 454
30.9.12 - IL MONITOR ... 454
30.10 - LA MICRO - PROIEZIONE ... **458**
30.11 - CONCLUSIONI ... **460**
31 – IL RILEVAMENTO DEI PARAMETRI ... **461**
31.1 - SCHEDA "MICROSCOPIO ... **461**
31.2 - SCHEDA "OBBIETTIVO" ... **468**
31.3 - SCHEDA "OCULARE" ... **476**
31.4 - SCHEDA "CONDENSATORE" ... **480**

31.5 - MICROSCOPI STEREOSCOPICI 482
32 − COLLAUDI TECNICO - COMMERCIALI 485
32.1 - TUBI PORTA - OCULARI 486
COLLAUDI MECCANICI 486
COLLAUDI OTTICI 487
32.2 - MOVIMENTI MACRO- E MICROMETRICI 489
32.3 - REVOLVER 492
32.4 - TAVOLINO 493
32.5 - CONDENSATORE 495
32.6 - OBBIETTIVO 497
32.7 - OCULARE 500
32.8 - MICROLAMPADA E SISTEMA ILLUMINANTE 501

BIBLIOGRAFIA RAGIONATA 504
INDIRIZZI UTILI 505

INDICE DELLE FORMULE 506
INDICE DELLE TABELLE 508
INDICE DELLE FIGURE 509
INDICE ALFABETICO 517



1 - TERMINOLOGIA

Occorre precisare prima di tutto alcuni termini che ricorreranno spesso nel testo; ad essi corrispondono concetti di base che rappresentano i fondamenti culturali della microscopia.

1.1 - "OTTICO"

L'aggettivo "**ottico**" si riferisce a tutto ciò (oggetti o concetti) che si basa sulla "radiazione ottica", cioè quella capace d'impressionare l'occhio umano sano.

È noto che in ogni carattere degli esseri viventi, e quindi anche nelle prestazioni dell'occhio, esiste una "variabilità", cioè una gamma di differenze fra individuo ed individuo e fra momento e momento. Ciò renderebbe impossibile definire con precisione quale è la gamma delle radiazioni che impressiona l'occhio umano; ma per molti usi si può definire un "**occhio medio**" ed una gamma di radiazioni "ottiche" valida per tutti.

Le **radiazioni ottiche** rappresentano una piccola parte delle radiazioni elettromagnetiche; si tratta di oscillazioni di un campo[1] elettrico e di un campo magnetico; queste oscillazioni si propagano in linea retta (in un mezzo omogeneo) ed i campi elettrico e magnetico hanno una direzione perpendicolare alla direzione di propagazione e perpendicolare l'uno rispetto all'altro. Questo tipo di oscillazione (o "**onda**") è costituito dalla variazione periodica di una forma di energia (il "**campo**"), che si può rappresentare come un "**vettore**" cioè un segmento a freccia; la direzione del segmento indica la direzione del campo; la punta della freccia indica il suo senso (per es. a destra o a sinistra); la lunghezza del segmento indica l'intensità del campo. Almeno a livello intuitivo, possiamo allora definire una "**direzione di propagazione**" o "**raggio**" come linea geometrica lungo la quale si trasmette l'energia dell'oscillazione, ed una "**onda**" come variazione periodica del valore del campo.

I campi elettrico e magnetico vengono generati e si propagano simultaneamente in molti casi, come nelle radiazioni ottiche, poiché sono collegati all'oscillazione di una carica elettrica, come quella di un elettrone attorno ad un nucleo atomico. In genere la radiazione ottica nasce appunto da atomi "eccitati" (a causa del calore, di altre radiazioni, ecc.) che ritornano nello stato di quiete; ciò avviene nelle "sorgenti" che emettono luce propria, come un metallo incandescente, una scintilla od un "plasma" (gas eccitato da calore o da scariche elettriche), una sostanza fluorescente eccitata da altre radiazioni, certe sostanze che subiscono una trasformazione chimica, ecc.

Le oscillazioni del campo elettrico e magnetico, che costituiscono l'onda ottica e le altre onde elettromagnetiche, avvengono con legge "**sinusoidale**"[2], e cioè l'intensità dei campi (elettrico e magnetico) varia nel tempo secondo la funzione:

$$E = E_o \ \text{sen}\ 2 \pi f t \qquad (1)$$

[1] Semplificando, si può dire che il "campo" è la porzione di spazio in cui una carica elettrica od un magnete fa sentire la sua presenza, cioè esercita una forza su un altro magnete o un'altra carica. Il termine "campo" si usa anche per indicare tale forza.

[2] Sulla funzione "sinusoidale", vedi il § 2.2.1 .

in cui E è l'intensità istantanea del campo, E_o è l'intensità massima che il campo presenta durante un certo tempo[3], "**f**" è la frequenza[4] dell'oscillazione, che dipende dalla sorgente, e "**t**" il tempo (vedi fig. 1).

La funzione seno, come si dirà nel § 2.2.1 , oscilla fra + 1 e – 1 per cui E può oscillare solo fra + E_o e – E_o .

In altre parole, il campo varia continuamente di intensità, fra un valore massimo positivo + E_o ed uno negativo – E_o, invertendo continuamente il proprio senso, con frequenza **f** .

Per le nostre applicazioni, e per spiegare la maggioranza dei fenomeni ottici, è sufficiente considerare il campo elettrico, ed **E** indica appunto il vettore elettrico della radiazione ottica.

La radiazione ottica si propaga con una velocità "**c**" che dipende dalla natura del mezzo attraversato e che assume nel vuoto (e approssimativamente anche nell'aria) il suo massimo valore, pari a circa 300˙000 Km/s . Se dividiamo "**c**" (spazio percorso in 1 secondo) per **f** (numero di oscillazioni al secondo) otteniamo la "**lunghezza d'onda**" **λ** (lettera greca **l** minuscola o " lambda ") cioè lo spazio percorso dalla radiazione durante un'oscillazione completa:

$$\lambda = c / f \qquad (2)$$

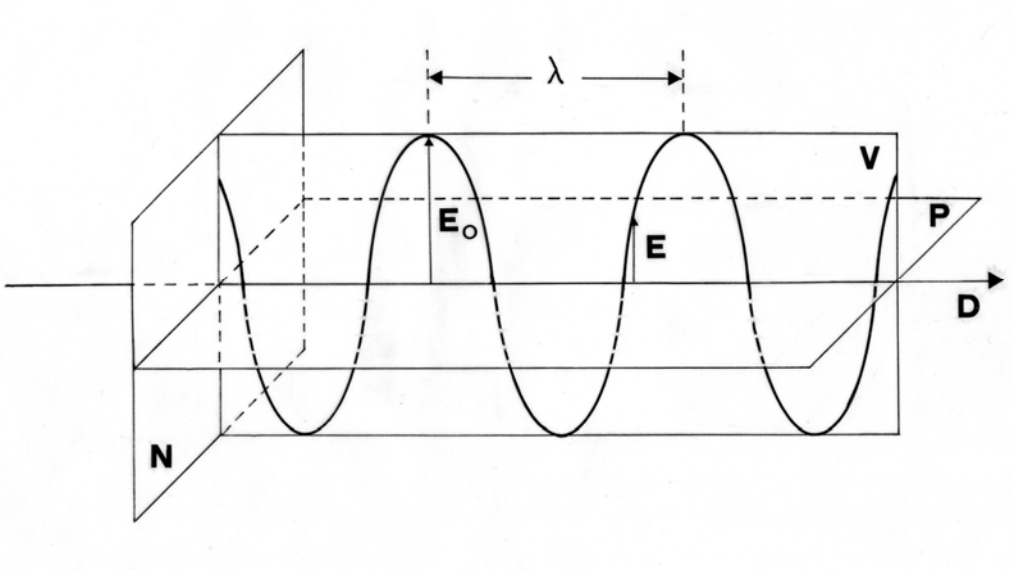


Fig. 1

Poiché la funzione seno è periodica, il campo assume periodicamente lo stesso valore; **λ** può considerarsi così lo spazio percorso dalla radiazione mentre il campo da un certo valore $\mathbf{E_t}$ si modifica fino a riassumere lo stesso valore variando nello stesso senso[5]. Il tempo impiegato dall'oscillazione a compiere un ciclo completo, espresso in secondi, si indica con **T**, o "**periodo**" , e naturalmente:

$$T = \frac{1}{f} \qquad (3)$$

[3] tempo comprendente almeno alcune oscillazioni complete.

[4] "Frequenza" indica il numero di oscillazioni complete al secondo .

[5] Data una qualunque radiazione elettromagnetica, solo la sua frequenza è costante; l'ampiezza, la velocità di propagazione e quindi λ , ecc. dipendono dal mezzo attraversato.

Da quanto detto, risulta che l'onda ottica, come ogni onda elettromagnetica, mostra il vettore elettrico **E** giacente in un piano ben preciso, chiamato "**piano di vibrazione**" (**V** in fig. 1) ; in questo piano giace ovviamente la direzione di propagazione (**D** in figura). Il piano perpendicolare a **V** (**P** in figura) è chiamato "**piano di polarizzazione**".

Il valore di λ può variare, in via di principio, senza limite. In pratica, interessa uno "**spettro**"[6] di radiazioni elettromagnetiche così suddiviso in base ai valori di λ (valori arrotondati) :

3˙000	-	600 m	=	Onde radio "lunghe"
600	-	200 m	=	Onde radio "medie"
200	-	10 m	=	Onde radio "corte"
10	-	1 m	=	Onde radio "ultracorte"
1 m	-	1 mm	=	"Micro-onde"

Tutte queste onde sono prodotte da correnti alternate in circuiti oscillanti (emettitori radiofonici, TV , FM , radar, Marconiterapia) o dai corpi caldi.

Seguono altre gamme d'onda prodotte da transizioni elettroniche in atomi eccitati, come detto sopra, o da transizioni molecolari; in queste gamme si usa come unità di misura il millesimo di mm o "micro-metro" (semplificato in "micron" , indicato con la sigla **μm** o μ in cui μ indica la m greca minuscola o "mu"), oppure il "**nanometro**" o "**nm**", che è il millesimo di μ , cioè il milionesimo di mm ovvero il miliardesimo di metro. Così si ha:

$1\ \mu m = 10^{-6}\ m = 10^{-3}\ mm$
$1\ nm = 10^{-9}\ m = 10^{-6}\ mm = 10^{-3}\ \mu m$

Ebbene, seguono queste gamme di radiazioni :

da 1 mm a 0,8 μm = **Infrarosso** o **IR** , radiazione termica prodotta da tutti i corpi caldi;

da 0,8 μm a 0,4 μm = **Radiazione ottica**, radiazione prodotta da transizioni elettroniche, come detto sopra;

da 400 nm a 10 nm = **Ultra-violetto** o **UV,** prodotta da varie sorgenti ad alta temperatura (lampade speciali, corpi celesti, ecc.) con forti effetti chimici.

A questo punto si usa come unità di lunghezza l'Ångström[7] (Å)

$$1\ Å = 0{,}1\ nm = 10^{-4}\ \mu m = 10^{-7}\ mm = 10^{-10}\ m.$$

da 10 nm a 1 Å = "raggi X" prodotti da nuclei atomici eccitati in apparecchi speciali (Tubi Röntgen[8]) o in corpi celesti.

meno di 1 Å = raggi γ, (lettera g minuscola greca o "gamma"); si tratta di radiazioni assai penetranti e pericolose prodotte dalla decomposizione di atomi o da corpi celesti (fanno parte dei "raggi cosmici ").

---

[6] "spettro" è una successione di radiazioni di diversa λ .

[7] Andreas Jonas ÅNGSTRÖM (pronuncia ònström), fisico svedese (1814- 1874). In realtà, l'unità Å è stata dichiarata illegale a partire dal 1981 per una direttiva CEE del 20 Dicembre 1979.

[8] Wilhelm Conrad RÖNTGEN (pronuncia röntghen), fisico tedesco (1845-1923).

Come si vede, la radiazione ottica occupa un settore assai limitato dello spettro globale delle radiazioni elettro-magnetiche.

Il **microscopio ottico** è appunto uno strumento che utilizza la radiazione ottica o, in casi particolari, le radiazioni più vicine come il prossimo infrarosso o l'ultravioletto (vedi il par. 19.3.3).

Esistono anche microscopi che usano ultra-suoni o raggi X o elettroni, ma si tratta di strumenti di tutt'altra natura che non tratteremo in questa sede.

All'interno dello "**spettro ottico**" vi sono dunque radiazioni di lunghezza d'onda fra circa 0,4 e 0,8 μm; tali radiazioni producono nell'occhio "medio" sensazioni varie di colori puri, che vanno dal viola (400-450 nm) al blu (450-500 nm), verde (500-580 nm), giallo (580-600 nm), arancio (600-650 nm) fino al rosso (oltre 650 nm). I "**colori**" sono dunque rappresentazioni psichiche che corrispondono ad un agente fisico che è la radiazione ottica, di varia lunghezza d'onda. Però i colori reali sono in genere misti, costituiti o provocati da porzioni più o meno estese dello spettro ottico. È assai difficile avere sorgenti di colori "puri", cioè sorgenti monocromatiche capaci di emettere su una sola lunghezza d'onda o almeno in uno spettro assai ristretto. Questo è il caso dei laser.

La sensazione di bianco nasce nel nostro occhio in casi assai diversi, per es. mescolando coppie di colori, cioè di radiazioni, detti "**complementari**", di cui esistono infiniti esempi, oppure porzioni più o meno estese dello spettro. In genere, le **sorgenti** "**bianche**" (sole, nubi, fiamme, corpi incandescenti, ecc.) emettono uno spettro continuo che copre tutto lo spettro ottico, sia pure con intensità non uniforme ed è facile, con un prisma ad es., decomporre la luce bianca nelle radiazioni costituenti (vedi oltre, dove si parla della dispersione al § 2.3.1).

1.2 - MICROSCOPIO

Il sostantivo "**Microscopio**" indica uno strumento che usa la radiazione ottica per un duplice scopo:

1.2.1 – Ingrandire

Per noi questo termine significa "ottenere un'immagine di un certo oggetto che sia ingrandita rispetto all'oggetto stesso" (ogni strumento è adatto all'osservazione solo di certe categorie di oggetti). Il microscopio non "ingrandisce gli oggetti" (i quali restano quello che sono), ma fornisce di essi un'immagine ingrandita.

Si potrebbe dire che anche il canocchiale ed il telescopio "fanno vedere gli oggetti ingranditi"; ed infatti esistono dei "**tele-microscopi**" in cui la distanza fra strumento ed oggetto è assai grande (anche qualche metro). Il confine fra le due categorie di strumenti è dunque sfumato, ma in linea di massima il microscopio si rivolge ad oggetti "a portata di mano", il telescopio ad oggetti "lontani".

Limitandoci al microscopio ottico, il termine fu introdotto nel 1624 da J. Faber[9] dell'Accademia dei Lincei ed ha conservato il significato originario. In senso stretto si chiama "**microscopio semplice**" un sistema ottico formato da una sola lente o da un gruppo di lenti riconducibile ad una lente semplice. In sostanza si tratta della "**lente d'ingrandimento**" o "loupe" (in francese; pron. "lup"), il cui funzionamento è spiegato nel § 4.1. Di questo

[9] Johannes FABER, di origine bavarese (1574-1629).

dispositivo si hanno esempi molto antichi, forse di epoca babilonese, ed esso rende tuttora grandi servigi, soprattutto nel lavoro all'aperto, date le sue piccole dimensioni. Il suo ingrandimento può arrivare a valori elevatissimi (qualche centinaio di volte), ma per ottenere questo occorre aumentare la curvatura delle lenti e ciò significa diminuirne il diametro.

Con una lente sferica di 1 mm di diametro l'ingrandimento "convenzionale" (vedi il § 4.3) può arrivare a 350 × , ma a questo punto la lente diviene quasi inutilizzabile:

-- il campo visuale è strettissimo, inferiore al diametro della lente;

-- la lente, per non diminuire ulteriormente il campo, va tenuta vicinissima all'occhio;

-- l'oggetto va tenuto dalla lente ad una distanza inferiore al suo diametro;

-- una lente semplice risulta affetta da forti aberrazioni, la cui correzione rende il sistema complesso e costoso.

Pertanto, in pratica, la lente d'ingrandimento più utile al naturalista ha un ingrandimento non superiore a 10 × (focale non inferiore a 25 mm, diametro 10 - 15 mm) e può essere costituita da una lente semplice.

Per ingrandimenti superiori si usa il "**microscopio composto**" formato da due o più lenti, ma sempre riconducibile a due lenti semplici nel suo funzionamento essenziale (vedi il § 1.8). Con esso si ottengono facilmente i massimi valori dell'**ingrandimento** "**utile**" (circa 1˙500 × nell'osservazione visuale, circa la metà in fotografia; vedi il § 18.12), con distanze ragionevoli per l'occhio e per l'oggetto, con **campi visuali** anche oltre i 50°. Il **campo oggetto**, cioè la porzione visibile dell'oggetto (vedi i §§ 7 e 19.2.4) può andare da 25 mm a 0,1 mm, in casi estremi; valori maggiori si possono avere nei microscopi "stereoscopici" (vedi il § 29).

I primi microscopi composti risalgono ai primi anni del 17° sec., forse per opera di G.Galilei[10], forse per opera di un artigiano olandese (Z. Janssen)[11], forse di un altro olandese (Drebbel)[12] o dell'inglese Digges (1571-1629). Ma, fino all'inizio del 19° sec., cioè fino alla scoperta dell'acromatismo (vedi il § 13.2.1), le prestazioni di questi strumenti erano peggiori di quelle del microscopio semplice e non ricevevano attenzione da parte degli studiosi. Solo presso le classi agiate il microscopio veniva considerato un oggetto di lusso, oggi diremmo uno "status symbol", e lo si usava per osservazioni "curiose e stravaganti".

Attraverso l'ingrandimento, il microscopio consente l'osservazione di oggetti o strutture troppo piccoli per l'osservazione diretta, la loro localizzazione (cioè la definizione della loro disposizione all'interno di un complesso di altri oggetti), e, con opportuni accessori, la loro misura (dimensioni o altre proprietà fisiche) e la loro fotografia o ripresa televisiva.

1.2.2 - Risolvere

L'altro scopo fondamentale del microscopio, troppo spesso ignorato, è quello di aumentare il "potere risolutivo" dell'occhio.

Il "**potere risolutivo**" di un sistema ottico, in genere, esprime la possibilità di ricavarne un'immagine che mostri evidenti, distinti o "risolti", certi "dettagli", corrispondenti a certe strutture dell'oggetto.

Per es., se noi fotografiamo da 30 cm una pagina di giornale con un buon obbiettivo di tipo normale, potremo distinguere nella foto le singole lettere. Se queste ultime vengono assunte come struttura caratteristica di quell'oggetto, allora diremo che quell'obbiettivo ha "risolto" la struttura in esame, ossia ce ne mostra distinti i dettagli. "**Risolvere**" ha un significato affine a "sciogliere", cioè "separare", quindi "rendere distinto", "rendere chiaro";

---

[10] Galileo GALILEI, matematico, fisico ed astronomo pisano (1564-1642). Egli chiamò "occhialino" il suo strumento.

[11] Zacharias JANSSEN, occhialaio fiammingo (1587-1638).

[12] Cornelis van DREBBEL o DREBEL, fisico e meccanico olandese (1572-1634).

in tedesco “auflösen” significa “sciogliere, diluire, separare” oltre che “risolvere”.

Proseguiamo col nostro esempio: lo stesso giornale, fotografato a 100 m di distanza con lo stesso obbiettivo, ci apparirà come un rettangolino grigio, che non contiene i dettagli, la struttura dell’oggetto, cioè le singole lettere. La struttura dell’oggetto non è stata “risolta”.

Qualcuno potrebbe pensare che è questione di ingrandimento e che l’immagine del giornale è semplicemente troppo piccola.

Ma si provi ad ingrandire questa fotografia con un microscopio od un proiettore: l’immagine del giornale diventerà grande quanto si vuole (anche più grande di quella fotografata da 30 cm di distanza), ma la “struttura”, le singole lettere, non appariranno mai.

Altro esempio: con un microscopio anche di modesta qualità si possono osservare i singoli globuli in uno striscio di sangue; ma essi non appaiono mai nell’immagine dello stesso oggetto fornita da un obbiettivo fotografico normale, comunque si ingrandisca poi quell’immagine.

Ritorneremo ampiamente sul concetto di risoluzione (vedi il § 18), ma è chiaro che l’utilità di uno strumento ottico sta nella sua capacità di mostrarci la struttura fine dell’oggetto, cioè di “risolverla”, ed il “**potere risolutivo**” è tanto maggiore quanto più piccoli sono i dettagli che appaiono nell’immagine fornita da quello strumento, ovvero quanto più vicini sono i punti (punti in senso ottico, vedi il § 18.4) che si possono ancora rivelare come distinti nell’immagine.

Quindi, per valutare un microscopio, non ha senso considerare il suo ingrandimento massimo, ma piuttosto il suo massimo potere risolutivo. Quest’ultimo raramente è dichiarato dal costruttore, ma lo si ricava con una semplice formula (vedi il § 18 e la formula (50)) dal valore di apertura dei suoi obbiettivi. Quest’ultima è sempre dichiarata dai costruttori seri: in caso contrario, il microscopio va considerato privo di valore.

Ottenere forti ingrandimenti è tecnicamente facile ed economico; anche strumenti giocattolo consentono ingrandimenti di 2˙000 o 5˙000 volte. Ma uno strumento serio non va oltre 1˙500, poiché in quelle condizioni si ha già il massimo ingrandimento utile (vedi il § 18.12).

Stiamo parlando ovviamente di microscopi ottici composti; ed in essi la risoluzione va da circa 6 μ a 0,2 μ (vedi il § 18.6), a seconda dell’apertura e di altre caratteristiche del sistema ottico.

1.3 - MICROGRAFIA

Il termine “**Micrografia”** indica genericamente le branche della scienza e le tecniche che hanno per oggetto il microscopio ottico :

-- Teoria sul funzionamento del microscopio e sull’interpretazione delle immagini da esso fornite.

-- Tecniche di costruzione e d’impiego dei microscopi.

-- Tecniche di manutenzione e di controllo.

-- Tecniche di preparazione degli oggetti da osservare.

-- Documentazione delle immagini col disegno, la fotografia o tecniche televisive e digitali.

-- Elaborazione delle immagini con mezzi di calcolo digitale o analogico.

-- Osservazioni qualitative.

-- Misure, conteggi e valutazioni quantitative di vario genere sulle immagini fornite dal microscopio.

"**Micrografo**" è chi si occupa o si serve di microscopi per qualunque scopo pertinente.

Modernamente, il termine "micrografia" ha assunto significati più restrittivi:

-- in botanica, lo stesso che "tecnica microscopica" (vedi sotto);

-- in metallografia: osservazione in genere di provini metallici al microscopio o la loro fotografia.

1.4 - MICROSCOPIA

"**Microscopìa**" è invece un termine più restrittivo, che indica solo la teoria e la pratica sul funzionamento, l'impiego e la manutenzione del microscopio.

"**Microscopista**" è chi si occupa di microscopia, senza occuparsi di preparazione degli oggetti, di interpretazione delle immagini, ecc.

La microscopia attinge alla fisica, in particolare all'ottica ed alla meccanica, qualche volta alla chimica (vetri ottici, leghe metalliche, lubrificanti, adesivi, ecc.), e sempre alla tecnologia.

La "**Microscopia generale**" si occupa dei princìpi generali di funzionamento e d'impiego del microscopio, e rappresenta l'oggetto di questo volume.

La "**Microscopia speciale**" si occupa di tecniche speciali applicate in microscopia: radiazione polarizzata, fluorescenza, contrasto di fase, campo oscuro, fenomeni interferenziali, episcopia, durimetria, fotografia, ripresa ed elaborazione TV, ecc. Ne accenneremo nel capitolo 30.

1.5 – TECNICA MICROSCOPICA

"**Tecnica microscopica**" è l'insieme dei metodi usati per la preparazione degli oggetti da osservare al microscopio: "fissazione" (conservazione della struttura), colorazione, sezione, levigatura, montaggio, ecc.

Tali metodi hanno lo scopo di rendere più fruttuosa e più comoda l'osservazione, e per ogni tipo di oggetti esiste una "tecnica microscopica" particolare.

Sulle varie tecniche esiste un'ampia letteratura.

1.6 - "OGGETTO"

Per "**Oggetto"** intenderemo l'oggetto che va osservato attraverso il microscopio, di cui lo strumento deve fornire un'immagine ingrandita. Esso può avere natura svariatissima. Per essere osservato può richiedere manipolazioni anche complicatissime (ad opera della "tecnica microscopica").

L'oggetto può essere "in rilievo" (a tre dimensioni) solo in casi particolari (microscopi stereoscopici o comunque a basso ingrandimento); normalmente, esso va steso o sezionato o levigato in modo da presentare all'osservazione una superficie piana.

1.7 - "IMMAGINE "

"**Immagine**" è l'immagine dell'oggetto fornita dal microscopio o in genere da un sistema ottico; l'immagine deve essere più simile possibile all'oggetto e deve essere formata dalla convergenza dei raggi (o dei loro prolungamenti) che emergono dal sistema ottico; il piano o la superficie curva in cui si trova il punto di convergenza di ognuno dei fasci che provengono dai singoli punti dell'oggetto si chiama "piano immagine" anche quando non è piano.

Vedremo che tale immagine può avere caratteristiche svariate e che, all'interno del funzionamento del microscopio, si possono avere, di un dato oggetto, differenti immagini assai diverse fra loro.

1.8 - OBBIETTIVO - OCULARE

Se il microscopio composto, come si è detto, è riducibile ad almeno due lenti o sistemi di lenti, possiamo definire:

"**Obbiettivo**" (o "obiettivo") il sistema ottico che si trova più vicino all'oggetto.

"**Oculare**" l'altro sistema ottico essenziale, che sta sopra l'obbiettivo, vicino all'occhio dell'osservatore o vicino alla lastra fotografica o alla telecamera.

Altri sistemi o lenti accessori possono trovarsi fra obbiettivo ed oculare ("lenti di tubo", variatori d'ingrandimento, prismi, specchi, ecc.) o sopra l'oculare (specie nei sistemi fotografici o televisivi). Di questi elementi accessori si parlerà più avanti.

Anche il sistema illuminante può comportare gruppi semplici o complessi di lenti, specchi, ecc. sotto l'obbiettivo (diascopia) o fra obbiettivo ed oculare (episcopia), e di esso si parlerà in dettaglio nei capitoli che seguono; ma esso NON costituisce parte essenziale del microscopio.

Semmai, si parlerà di "sistema illuminante" per tutto ciò che sta fra la sorgente e l'oggetto; di "sistema formatore d'immagine" per tutto ciò che sta fra l'oggetto e l'occhio (o l'emulsione fotografica o il sensore elettronico).

Nel caso dell'episcopia, una parte del sistema illuminante e del sistema formatore d'immagine possono essere costituiti dagli stessi elementi (per es., l'obbiettivo serve anche da condensatore).

2 - ELEMENTI DI OTTICA

2.1 – LA MISURA DEGLI ANGOLI

In geometria gli angoli piani si misurano in vari modi:

-- in **gradi** sessagesimali: un angolo giro, corrispondente ad un giro completo, si divide in 360°; un angolo piano in 180° ; un angolo retto in 90° . Un angolo acuto è sempre inferiore a 90° ; ogni grado è poi diviso in 60 minuti primi (‘) ed ogni primo in 60 minuti secondi (”) .

-- in **radianti**, facendo corrispondere ad un angolo quella porzione di cerchio od “**arco**”, che è delimitata dai lati dell’angolo quando il vertice di esso coincide col centro del cerchio. L’unità di misura è la lunghezza del raggio del cerchio o “**radiante**” (abbreviato con “ **rad** “ o “ **rd** “); in altre parole, 1 radiante è quell’arco di cerchio la cui lunghezza è pari al raggio “ **r** “ del cerchio stesso.

Un cerchio intero corrisponde quindi a $\mathbf{2\pi r}$ cioè a $\mathbf{2\pi}$ radianti. Un angolo piatto (180°) corrisponde a π rad , un angolo retto a $\frac{\pi}{2}$ rad , 1° sessagesimale a 0,01745 rad.

Viceversa, 1 rad = 57° 17’ 45” = 57,2958° e 0,1 rad = 5° 43’ 47”.

Si preferisce l’espressione in gradi o radianti a seconda dell’applicazione.

2.2 - LE FUNZIONI TRIGONOMETRICHE

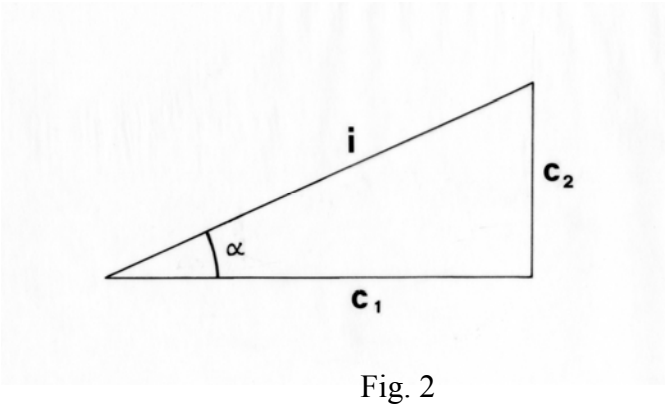


Fig. 2

In molti casi conviene esprimere gli angoli con le funzioni trigonometriche, e cioè come rapporto di segmenti (che è un numero puro, senza dimensioni). Si consideri un triangolo rettangolo (fig. 2); l’angolo da misurare α[13] sia compreso fra l’ipotenusa “**i**” ed il cateto adiacente “$\mathbf{c_1}$”. Ebbene, a noi interessano due funzioni di α .

[13] “alfa” o “a” minuscola dell’alfabeto greco .

2.2.1 - Seno

Il "seno" di α è il rapporto c_2 / i :

$$\text{sen } \alpha = c_2 / i \qquad (4)$$

E' ovvio che $c_2 \leq i$, per cui sen $\alpha \leq 1$; sen 0° = 0 ; sen 90° = 1 ; sen 180° = 0 ; sen 270° = – 1 ; sen 45° = 0,707 ; sen 1° = 0,01745; sen 10° = 0,173648.

Si noti che un angolo di 10° , espresso in rad è eguale a 0,174533, per cui, per angoli piccoli, seno ed arco (misura in radianti) possono in molti casi ritenersi equivalenti.

2.2.2 - Tangente

La "tangente" di α è il rapporto c_2 / c_1:

$$\text{tg } \alpha = c_2 / c_1 \qquad (5)$$

Poiché c_1 e c_2 possono stare fra loro in qualunque rapporto, c_2 / c_1 = tg α può essere compreso fra $+\infty$ e $-\infty$ (nota[14]). Si intuisce che : tg 45° = 1 ; tg 90° = ∞ ; tg 180° = tg 0° = 0; tg 270° = – ∞; tg 1° = 0,017455; tg 10° = 0,176327. Anche qui, per angoli piccoli, la tangente si confonde col seno e con l'arco espresso in radianti.

2.3 - LA RIFRAZIONE

Quando abbiamo definito la radiazione ottica (vedi il § 1.1), abbiamo chiamato "**direzione di propagazione**" o "**raggio**" la linea lungo la quale si propaga l'energia radiante, cioè l'onda.

Abbiamo detto che la direzione di propagazione è una retta se il mezzo è **omogeneo.** Intendiamo con ciò un mezzo che ha le stesse proprietà in tutti i punti. In microscopia avremo sempre a che fare con elementi ottici di tale tipo; mezzi non omogenei esistono però in natura (aria od acqua in grandi masse a temperatura non omogenea, ecc.) ed in certe applicazioni ottiche speciali (lenti "GRIN" ad indice variabile da punto a punto, ecc.).

Tratteremo anche, salvo indicazione contraria, di **corpi** "**isotropi**", cioè che presentano le stesse proprietà in tutte le direzioni. Sono al contrario "**anisotropi**" i cristalli in grande maggioranza e certi componenti organici, che per contro possono essere omogenei; ma per ora non ce ne occupiamo; se ne occupa invece la microscopia in radiazione polarizzata.

Ci interessa invece precisare che in un mezzo omogeneo ed isotropo la direzione di propagazione è una retta e la velocità di propagazione è la stessa in tutte le direzioni (e con essa l'indice, vedi oltre).

Date queste premesse, dunque, con una sorgente puntiforme l'onda è sempre sferica (poiché in ogni istante si trova a distanza costante dalla sorgente, in tutte le direzioni) e la sua direzione di propagazione coincide sempre con la normale alla superficie della sfera, cioè con un raggio di quella.

Se la sorgente si trova a distanza infinita, si può supporre che l'onda che giunge all'osservatore sia piana (una calotta sferica di raggio infinito è piana) e la direzione di

[14] Il simbolo ∞ indica il valore infinito di una qualche grandezza.

propagazione è normale a questo piano. L'onda che consideriamo non è che il luogo geometrico dei punti nei quali giunge la radiazione in un istante dato.

La direzione di propagazione si può così rappresentare con una retta e questa coincide col concetto di "**raggio**". Il raggio non è l'onda, cioè una realtà fisica; ne è solo un simbolo geometrico: è la retta lungo cui l'onda si propaga.

Comunemente si usa il termine "raggio luminoso", ma né raggio né direzione di propagazione né onda sono "luminosi" poiché non emettono "luce"; solo un corpo può farlo ("corpo luminoso"). Neppure si può dire "raggio di luce" poiché la "luce" è una sensazione, una rappresentazione psichica. Attorno a noi esiste solo quella realtà fisica chiamata "**radiazione**" e questa è semplicemente una forma di energia. Solo la sorgente può essere "di luce" o meglio, "di radiazione". Limitiamoci dunque al termine "raggio" o "**raggio ottico**".

In conclusione, come si è detto, il raggio è rettilineo in un mezzo omogeneo e, in un mezzo isotropo, è sempre perpendicolare alla superficie dell'onda. Non possiamo qui descrivere certe eccezioni che si hanno nei mezzi anisotropi.

2.3.1 - Legge di Snell

Consideriamo ora la superficie di separazione **s** fra due mezzi trasparenti ed omogenei (*1*) e (*2*): la superficie **s** (vista in sezione in fig. 3) sia piana. Sia dato un raggio incidente I che colpisce la superficie **s** nel punto P ("**punto d'incidenza**"). Sia N la perpendicolare (o "**normale**") alla superficie **s** nel punto P. Sia **i** l'angolo d'incidenza fra raggio incidente I e normale N . Al di là di **s** il raggio si propaga nel mezzo (*2*) e si chiama "**raggio rifratto**" (R); R forma con N l'angolo **r** (**angolo di rifrazione**).

La **legge di Snell-Cartesio**[15] dice che :

1) Raggio incidente e raggio rifratto giacciono in uno stesso piano assieme alla normale che passa pel punto d'incidenza. Questo piano è detto "**piano d'incidenza**".

2) Ed inoltre è costante il rapporto: $\text{sen } i / \text{sen } r = n$ (6)

Questo " **n** " è chiamato "**indice di rifrazione** relativo" ai mezzi (*1*) e (*2*). Se (*1*) è il vuoto (o con buona approssimazione l'aria), allora **n** si chiama "indice di rifrazione assoluto" attribuito al mezzo (*2*), o, semplicemente, "**indice**" e dipende dalla natura chimica e dalle condizioni fisiche del mezzo (*2*); esso è una costante del mezzo se costanti sono le sue condizioni e definita è la lunghezza d'onda λ della radiazione incidente.

Se λ varia, allora varia anche **n** con una legge che dipende dalla natura e dalle condizioni del mezzo. Questa variazione è chiamata "dispersione dell'indice" o, semplicemente, "**dispersione**" (vedi il § 13.2.1).

Se in P (fig. 3) incide un fascio di raggi paralleli di diversa λ , ogni raggio, in base alla propria λ , verrà rifratto in diversa misura; con **i** costante sarà diverso **r** e, al di là di P, avremo un fascio di raggi di diversa direzione, cioè un fascio globalmente divergente come un ventaglio o, per meglio dire, "disperso" nel piano d'incidenza.

Poiché **n** dipende da λ , nell'indicare o misurare **n** occorre specificare a quale valore di λ ci si riferisce; quindi **n** è funzione di λ ($\mathbf{n}_\lambda$). In pratica, ci si riferisce spesso alla lunghezza d'onda emessa dai vapori incandescenti di sodio (589,59 - 588,99 nm), che corrisponde alla riga gialla D dello spettro del sole. Si indicherà quindi n_D.

Poiché la funzione $\mathbf{n}_\lambda$ non è lineare, il valore della dispersione varia a seconda della regione spettrale alla quale ci si riferisce. La formula usuale è indicata nel § 13.2.1.

---

[15] SNELL o SNELLIUS Willebrordus, matematico olandese (1580-1626). CARTESIO o René Descartes, filosofo francese (1596-1650). Il primo studio della rifrazione sarebbe però dovuto all'astronomo inglese Thomas Harriot (1560 – 1621).

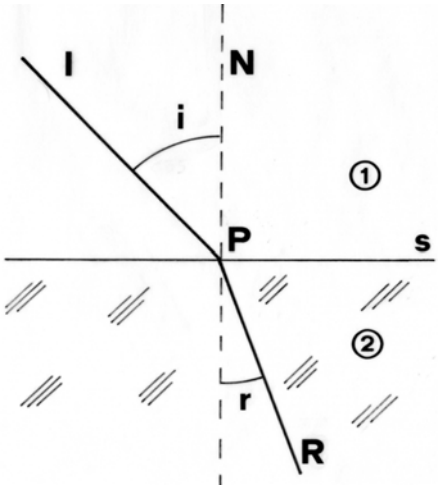


Fig. 3

2.3.2 - Le conseguenze

Dalla legge di Snell si deduce (vedi la fig. 3) :

•• se il raggio incidente **I** è perpendicolare ad **s** , esso coincide con la normale N e giace sulla stessa retta di R ; **i = r = 0** ; non vi è rifrazione (né dispersione). Con "**incidenza normale**", ogni raggio incidente prosegue indisturbato, indipendentemente dal valore di λ .

•• se **i** aumenta, aumenta anche **r** , sia pure in misura diversa.

•• se un mezzo trasparente ed omogeneo (*2*) (fig. 4) è limitato da due superfici piane e parallele ($\mathbf{s_1}$ ed $\mathbf{s_2}$), un raggio incidente **I** subisce una prima rifrazione in P_1 (piede della normale N_1, cioè punto di incidenza di I) e poi una seconda in P_2 (incidenza di R_1, piede della normale N_2).

Alla fine, si ha che $\mathbf{i = r_2}$ e quindi il raggio finale R_2 , rifratto due volte, è parallelo ad **I** , ma soltanto spostato lateralmente. In queste condizioni R_2 non è disperso (R_1 lo è [16]). Se **i = 0** (**I** incide normalmente), anche $\mathbf{r_1 = r_2 = 0}$ ed il raggio $\mathbf{R_2}$ emerge indisturbato (la sua direzione coincide con quella di **I**).

•• si consideri ancora la fig. 3 ; sia (*1*) il vuoto (o l'aria od altri gas leggeri, che hanno l'indice molto prossimo ad 1); si può dimostrare che, ponendo in (*2*) un qualunque mezzo ottico trasparente tranne che il vuoto, si ha **r < i** , cioè il raggio rifratto R (fig. 3) si avvicina alla normale N rispetto ad **I** ; dunque: **sen r < sen i** ed **n > 1** . In conclusione: l'indice assoluto di qualunque mezzo è sempre maggiore di 1 .

•• dando ad **i** il suo massimo valore, cioè: i = 90° , si ha **sen i = 1** ; il raggio incidente **I** è radente ad **s** ; in queste condizioni, **r** assume il suo massimo valore :

$$\text{sen } r = \text{sen } i / n = 1 / n = \text{sen } \theta \qquad (7)$$

Questo valore massimo di **r** è chiamato "**angolo limite**" e lo indichiamo con la lettera θ (theta, in greco).

[16] In realtà, si può parlare per R_2 di "dispersione parallela" nel senso che i raggi rifratti in R_2 , corrispondenti alle varie lunghezze d'onda presenti, sono tutti paralleli fra loro ma non coincidenti.

•• se il raggio incidente proviene da un mezzo con indice n > 1 ed entra in un mezzo di indice minore, per es. nel vuoto o in aria, risulta che esso si allontana dalla normale. Nella fig. 3 si supponga che il raggio vada dal basso in alto: il raggio incidente diventa R; l'angolo di rifrazione diventa **i** ed è maggiore dell'angolo di incidenza (che diventa **r**). Quando **r** aumenta, aumenta anche **i** fino al punto in cui **r = θ** (angolo limite). In queste condizioni, i = 90° ed il raggio rifratto (in questo caso **I**) emerge radente ad **s** .

•• infine, nel caso della fig. 5, se $\mathbf{r_1 > \theta}$, il raggio incidente (R_1) **non** viene rifratto, cioè non oltrepassa la superficie **s** ma viene "totalmente riflesso" in P e prosegue come raggio riflesso R_2. Questa riflessione si chiama "**interna totale**" poiché tutta l'energia incidente viene riflessa (se il mezzo è totalmente trasparente, la superficie di separazione assolutamente piana e pulita, ecc.), mentre nelle riflessioni normali vi è una parte riflessa, una parte trasmessa (se il materiale è trasparente) oppure una parte assorbita (materiali metallici, ad es.).

La riflessione totale soggiace alle stesse leggi della riflessione normale:

•• raggio incidente (R_1), raggio riflesso (R_2) e normale (N) nel punto d'incidenza (P), giacciono nello stesso piano (piano d'incidenza)(vedi la fig. 5);

•• l'angolo di riflessione (r_2) è uguale all'angolo di incidenza (r_1).

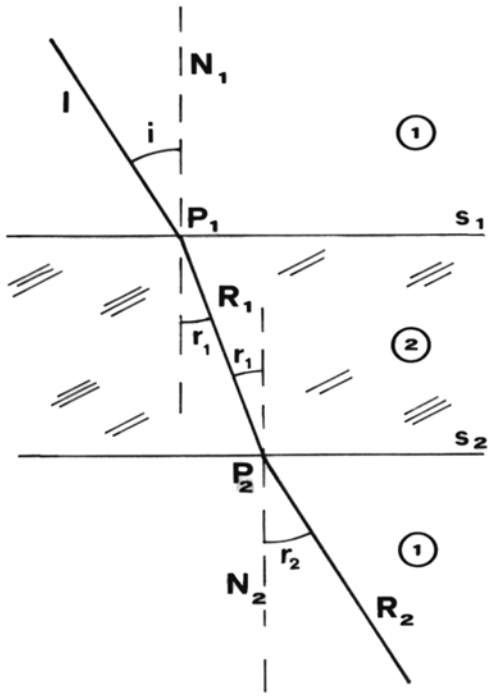


Fig. 4

Se il mezzo (*2*) di fig. 5 è un normale vetro leggero boro-silicato (crown) con $n_D = 1{,}515$, si ha (vedi la (7)) sen θ = 1/n = 0,660; θ = 41,30° ; dunque, se un raggio incide su una superficie vetro-aria (provenendo dal vetro) con un angolo di 45°, superiore all'angolo limite **θ** per quel vetro, esso viene totalmente riflesso come se la superficie del vetro fosse opaca, cioè priva di trasmissione. Si ha così uno specchio ideale, a rendimento massimo.

Questo fenomeno si sfrutta nei "**prismi a riflessione totale**" o "a riflessione interna", ampiamente utilizzati nei microscopi, binocoli, ed altri strumenti (vedi il § 11).

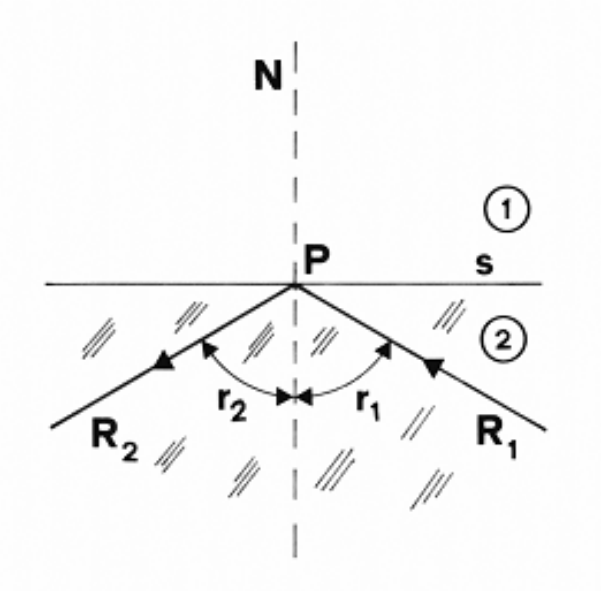


Fig. 5

2.4 – IL PRISMA DEVIATORE

Si consideri un diedro, per es. un blocco di vetro (visto in sezione in fig. 6) limitato da due superfici piane (s_1 ed s_2) concorrenti in uno spigolo S. L'angolo fra le facce del diedro ("angolo del prisma") è indicato con α .

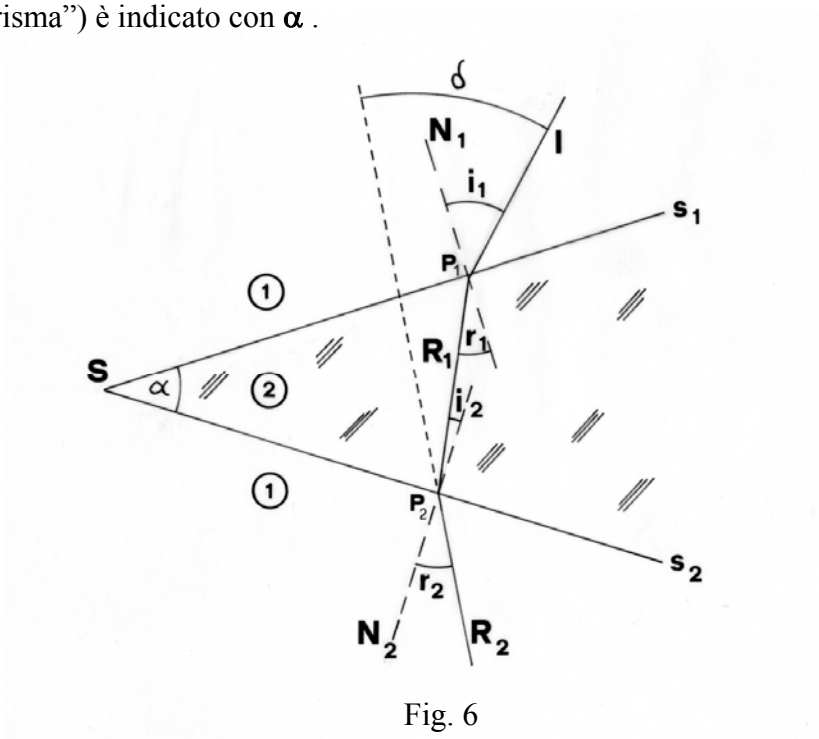


Fig. 6

Il mezzo (1) ai due lati del diedro può essere aria. Se un raggio I incide su s_1 come in figura, in base all'indice del vetro (2), al valore dell'angolo di incidenza i_1 ed alle leggi della rifrazione, si può costruire il percorso del raggio attraverso (come R_1) e fuori (R_2) del diedro. Si può dimostrare che il raggio emergente (R_2) è deviato rispetto al raggio incidente I di un

angolo δ ("delta", d minuscola dell'alfabeto greco) che dipende fra l'altro dall'"angolo del prisma" α; comunque R_2 si allontana dallo spigolo S, rispetto la direzione di I , e la "deviazione" δ cresce al crescere di α e di **n**.

Naturalmente, se la radiazione incidente sul diedro è mista (raggi di diversa λ), il raggio R_2 sarà "disperso" a ventaglio, vi sarà una diversa direzione di R_2 per ogni valore di λ. Vedremo che questa dispersione avviene anche nelle lenti, e costituisce un grande problema per il progettista di sistemi ottici (vedi i §§ 13.2.1 e 13.2.2).

2.5 – LE LENTI SFERICHE

In microscopia, tranne casi assai rari, si usano lenti sferiche, cioè porzioni di vetro "ottico"[17] limitate da due superfici sferiche o da una sferica ed una piana.

Facciamo il caso di una lente piano-convessa per semplicità, ma il principio di funzionamento è lo stesso per tutte le lenti. Vedi la fig. 7, nella quale si considera una sezione parziale di una tale lente secondo le convenzioni del § 2.6 ed alcuni raggi ($I_{1,2,3}$) che incidono sulla superficie s_1 sferica.

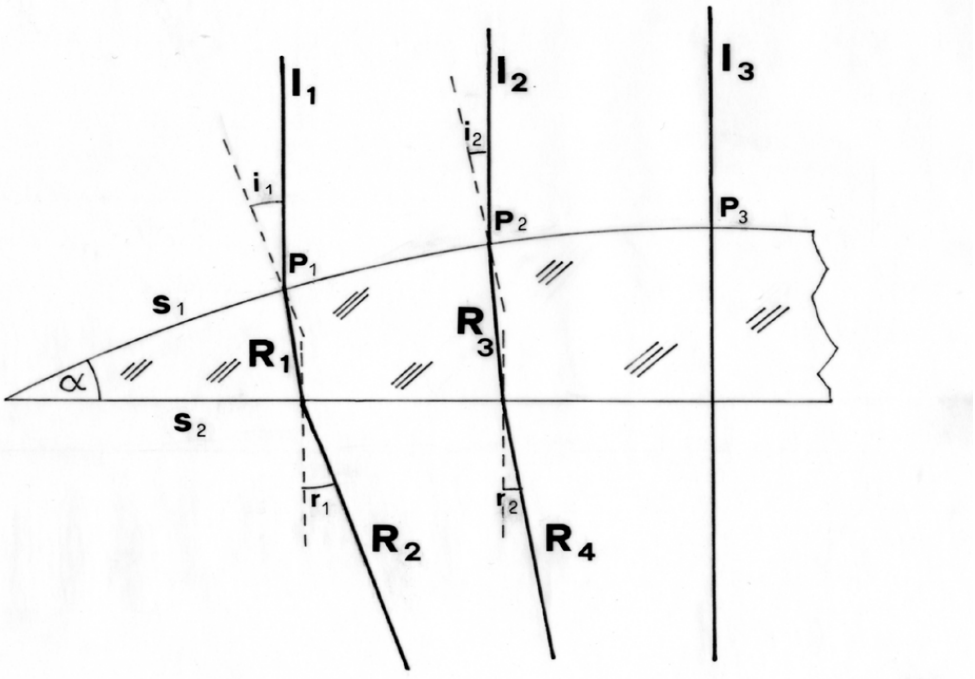


Fig. 7

Nel punto d'incidenza P_1, il raggio I_1 incontra una superficie curva ma, dato che I_1 è una direzione, senza dimensioni trasversali, s_1 si comporta in P_1 come se fosse piana. Così I_1 si comporta come se traversasse un prisma, cioè come in fig. 6; lo stesso si può dire di I_2 e di qualunque altro raggio incidente ma, se minore è l'inclinazione di s_1 , cioè se P_2 dista dallo

[17] cioè dotato di proprietà ottiche assai particolari e controllate con minime tolleranze, di grande omogeneità e trasparenza.

spigolo più di P_1 , la deviazione di R_4 è minore di quella di R_2. Senza entrare nei dettagli, si intuisce come tutti i raggi incidenti paralleli ad I_1 emergano dalla lente formando globalmente un fascio convergente. Si può considerare la lente sferica come un prisma in cui l'angolo α sia decrescente partendo dall'orlo ed andando verso il centro; parallelamente, varia l'angolo di deviazione δ da un massimo a zero (δ è l'angolo di deviazione fra R_2 ed I_1, fra R_4 ed I_2, ecc.).

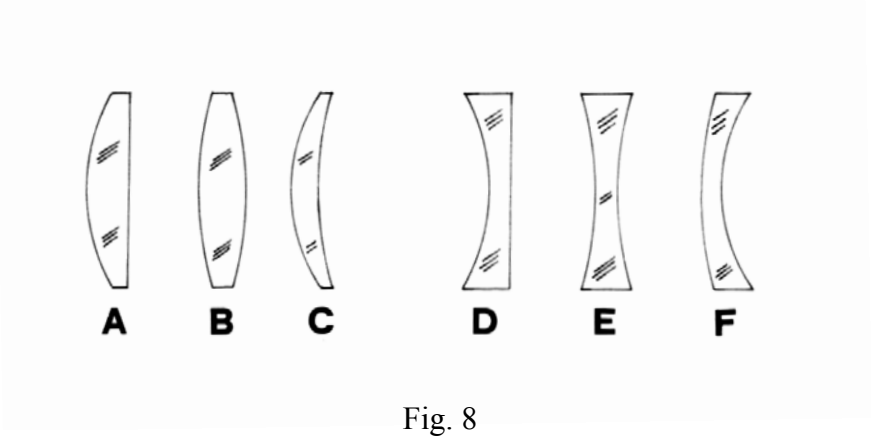


Fig. 8

Nella riga di sopra abbiamo detto "zero" poiché un raggio che incida sulla lente al vertice della calotta sferica, cioè perpendicolare ad entrambe le facce, come I_3 in fig. 7, non subisce deviazione per quanto detto nel § 2.3.2. E' come dire che in P_3 le superfici s_1 ed s_2 sono piane e parallele.

Va sottolineata dunque questa funzione fondamentale di una lente come quella di fig. 7: un fascio di raggi paralleli diviene, emergendo dalla lente, **convergente**. Forse non convergente in un punto geometricamente inteso, come vedremo parlando delle aberrazioni, ma convergente in una piccola regione che chiameremo a suo tempo "cerchio di confusione". Se i raggi paralleli incidenti sulla lente si possono considerare come provenienti da una sorgente puntiforme a distanza infinita ("le rette parallele s'incontrano all'infinito"), i raggi emergenti s'incontrano in un "punto" che è il corrispettivo ottico della sorgente, cioè la sua "immagine". Abbiamo così lo schema di base di una lente convergente: dato un punto "oggetto", ad esso corrisponde un punto "coniugato" o "immagine": corrispondenza bi-univoca fra ogni punto-sorgente da un lato della lente ed il coniugato punto-immagine dall'altro lato.

Ebbene, data una lente sferica, si chiama "**asse**" la retta che passa per i centri di curvatura delle due superfici. Se una delle facce è piana, l'asse passa per il centro della superficie curva ed è normale alla faccia piana. L'**asse ottico** della lente è anche l'asse di simmetria di essa (asse di simmetria di ordine infinito, trattandosi di superfici sferiche o piane). In fig. 7, il raggio I_3 coincide con l'asse e non viene deviato.

Si chiamano "**positive**" o "**convergenti**" le lenti il cui spessore è maggiore al centro che non ai bordi; esse possono essere piano-convesse, biconvesse o convesso-concave ("**menischi convergenti**"). Si veda la fig. 8 A, B e C per una sezione assiale di esse.

Si chiamano "**negative**"[18] o "**divergenti**" le lenti il cui spessore è minore al centro; anche qui si hanno lenti piano-concave, biconcave e concavo-convesse ("**menischi divergenti**"). Si veda la fig. 8 D, E ed F .

[18] In microscopia il termine "negativo" indica un tipo particolare di oculare convergente (vedi il § 7.2 e la fig. 27) per cui le lenti divergenti vanno indicate solo come " divergenti ".

Le lenti convergenti allora, se colpite da un fascio di raggi paralleli fra loro e paralleli all'asse, producono un fascio di raggi che convergono (all'incirca) in un punto detto "**fuoco**" o "punto focale"; il fuoco giace sull'asse e dista dalla lente di una lunghezza detta "lunghezza focale", come vedremo.

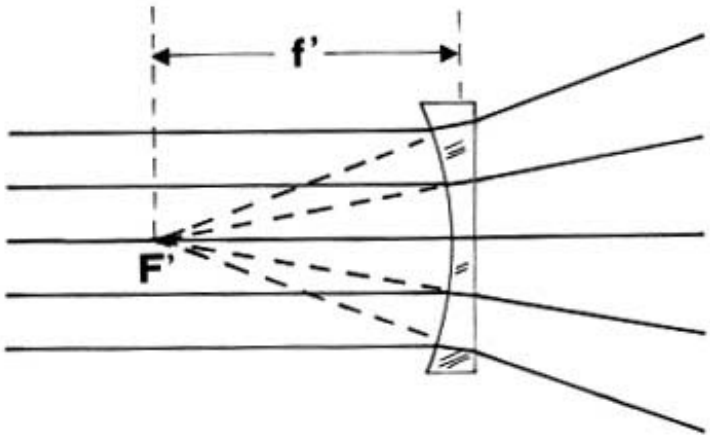


Fig. 9

Le lenti divergenti, se colpite da raggi paralleli fra loro e paralleli all'asse, tranne il caso dei menischi di forte spessore (vedi il § 19.2.3.2), producono un fascio emergente di raggi divergenti. Questi non convergono dunque in un fuoco ma, se si tracciano all'indietro i prolungamenti dei raggi emergenti, si può identificare un "**fuoco virtuale**" F_1 che giace sull'asse (fig. 9)[19].

2.5.1 - L'approssimazione di Gauss

Lo studio geometrico del comportamento delle lenti è molto complesso, ma per i fini che si propone questo volume può bastare, almeno per il momento, occuparci della "**approssimazione di Gauss**" o "**teoria delle lenti sottili**" o "**ottica parassiale**".

Si tratta di una semplificazione che considera lenti ideali con queste caratteristiche:

•• la lente è "**sottile**", cioè con spessore trascurabile;

•• i raggi incidenti su di essa sono "**parassiali**", cioè molto vicini all'asse; è come dire che si adopera solo la parte centrale della lente, oppure che la lente è diaframmata da uno stretto diaframma centrato sull'asse, che giace nel piano della lente stessa;

•• i raggi sono "poco" inclinati sull'asse, nel senso che tutti gli angoli da essi formati (angoli di incidenza, di apertura, di campo, ecc.) sono piccoli e si decide di confondere l'arco col seno e con la tangente (vedi il § 2.2);

•• la radiazione utilizzata è "monocromatica", cioè formata da onde con un unico valore di λ;

•• le onde considerate sono sempre sferiche (o piane se il loro raggio di curvatura è infinito); esse sono quindi **omocentriche**, cioè nella loro propagazione divergono o

[19] In una lente sottile piano-convessa o piano-concava, la focale f è pari circa al doppio del raggio di curvatura della superficie sferica; se la lente è biconvessa o biconcava simmetrica e sottile, f è all'incirca pari al raggio.

convergono sempre verso un medesimo punto che è il centro della sfera; ad ogni punto oggetto corrisponde quindi un punto immagine (vedi sotto) ed i raggi di un fascio convergente o divergente concorrono tutti in uno di questi punti. Se un fascio è parallelo, quel punto si trova a distanza infinita e l'onda corrispondente è piana oppure sferica con raggio di curvatura infinito.

Vedremo che nelle lenti reali queste onde sferiche omocentriche e queste immagini puntiformi non esistono; la formazione delle immagini è affetta da "aberrazioni" (vedi il § 13) e da altri fenomeni, come la diffrazione (§ 18).

In ogni caso, una singola lente sferica produce questo effetto fondamentale: un'onda incidente (sferica o piana) viene convertita in un'altra onda (sferica o piana) con diverso raggio di curvatura; ovvero: da un fascio di "raggi" (parallelo, convergente o divergente) emerge un altro fascio con un diverso valore di convergenza o divergenza.

2.6 – LE IMMAGINI REALI

Entro i limiti dell'approssimazione di Gauss, esaminiamo il comportamento di una qualunque lente convergente. Supponiamo inoltre che la lente sia immersa nel vuoto (o, con lievissime differenze, in qualunque gas leggero).

Il nostro scopo sarà di ricavare delle relazioni univoche fra la posizione e la dimensione dell'oggetto e la posizione e la dimensione dell'immagine. Ci limiteremo comunque, anche qui, ai concetti utili in microscopia.

In tutti gli schemi che seguono useremo le seguenti **convenzioni** (riferirsi alla fig. 11):

•• la radiazione procede da sinistra a destra, quindi l'oggetto (sorgente) sta a sinistra della lente; la direzione inversa è negativa;

•• oggetto ed immagine, salvo indicazioni contrarie, sono privi di spessore e giacciono in un piano perpendicolare all'asse; avremo così un piano-oggetto ed un piano-immagine; l'oggetto e l'immagine sono spesso indicati in una sola metà del loro piano (di solito con una freccia);

•• è sempre indicato l'asse ottico della lente, che è l'asse di simmetria rotatoria del sistema;

•• le lenti sono rappresentate nella loro sezione mediana, che contiene l'asse;

•• le lettere maiuscole sono usate per indicare i punti; le minuscole i segmenti; le lettere greche minuscole per gli angoli;

•• le lettere con un apice (') indicano i punti o le lunghezze dal lato immagine; senza apice, dal lato oggetto; le lunghezze a sinistra della lente (lato oggetto) hanno segno negativo;

•• y (od y') indica la distanza dall'asse di un punto oggetto (o immagine) extra-assiale;

•• h (od h') indica la distanza del punto di incidenza (o emergenza) di un raggio sulla lente rispetto all'asse. In una lente sottile, per lo stesso raggio si ha: $h = h'$.

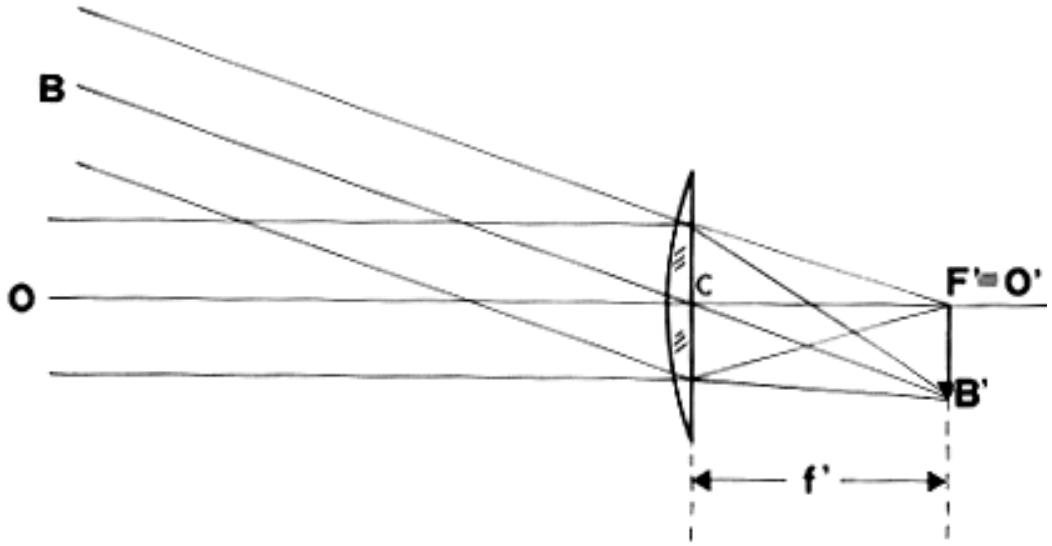


Fig. 10

2.6.1 - Leggi fondamentali

Entro i limiti citati dell'ottica parassiale valgono questi princìpi:

•• l'asse ottico attraversa la lente sottile in un punto chiamato " **centro**" della lente (C);

•• un raggio che incida su una lente convergente viaggiando parallelamente all'asse, emerge da essa passando sempre per un punto chiamato "**fuoco immagine**" (**F'**). La distanza fra fuoco e centro (C-F') è chiamata "**lunghezza focale**" o "distanza focale" o, semplicemente, "**la focale**", ed è indicata con **f'**. Il fuoco F' è detto anche "fuoco posteriore" o "secondo fuoco" (fig. 10)[20];

•• ad ogni punto oggetto sull'asse (O) corrisponde un punto immagine (O') sempre sull'asse (fig. 11); O ed O' si dicono "punti coniugati";

•• ad ogni punto oggetto fuori asse (B) corrisponde un punto immagine, "coniugato" anch'esso, fuori asse (B');

•• la distanza oggetto-lente (O - C), che è chiamata "distanza **coniugata-oggetto**" ed è indicata con **a**, determina la distanza lente-immagine (C - O'), che è chiamata "**coniugata-immagine**" ed è indicata con **a'**. Questa dipendenza di **a'** da **a** giustifica il termine di grandezze "coniugate" (fig. 11);

•• la distanza fra immagine e fuoco immagine (F' - O') è indicata con **x'** e, per riguardo ad un concetto usato in fotografia, è chiamata "**tiraggio**"[21]. Così si definisce una **x** lato oggetto (fig. 11);

•• da quanto detto, risulta:

$$a' = f' + x' \tag{8}$$

e: $$a = f + x \tag{9}$$

[20] In una lente sferica, si può esprimere la sua "potenza" P (unità di misura è la "diottrìa" (D)) come inverso della sua focale (espressa in metri) : P = 1/f . Vedi anche la (69) nel § 20.10.

[21] In realtà, "tiraggio" indicherebbe la distanza totale fra obbiettivo ed immagine reale; le grandezze **x** ed **x'** andrebbero quindi chiamate, con un'espressione meno abbreviata, "**distanza extrafocale** lato oggetto" o "lato immagine".

•• un raggio che attraversa la lente passando per il centro C prosegue indisturbato, non deviato;

•• un raggio che incide sulla lente passando per un punto particolare giacente sull'asse, chiamato **fuoco oggetto** (F), emerge dalla lente parallelo all'asse. È l'equivalente del fuoco immagine sopra definito (F'). In fig. 11, il raggio BH', passando per F, emerge come H'B', che è parallelo all'asse.

Si può dimostrare che (se la lente è limitata da ambo i lati dallo stesso mezzo trasparente) la distanza FC = f è pari a CF' = f' . Così **f** , la **focale** lato oggetto, è uguale a quella lato immagine f'. F è chiamato anche "**primo fuoco**" o "fuoco anteriore". Vedere ancora la fig. 11;

•• lo spazio fra lente ed oggetto si chiama "spazio-oggetto"; quello fra lente ed immagine, "spazio immagine".

2.6.2 - Casi notevoli - L'ingrandimento

In base a quanto detto, possiamo identificare alcuni casi particolari di funzionamento delle lenti convergenti sottili, particolarmente utili per la comprensione della microscopia.

2.6.2.1 - Ingrandimento = 0 - Rif. Fig. 10

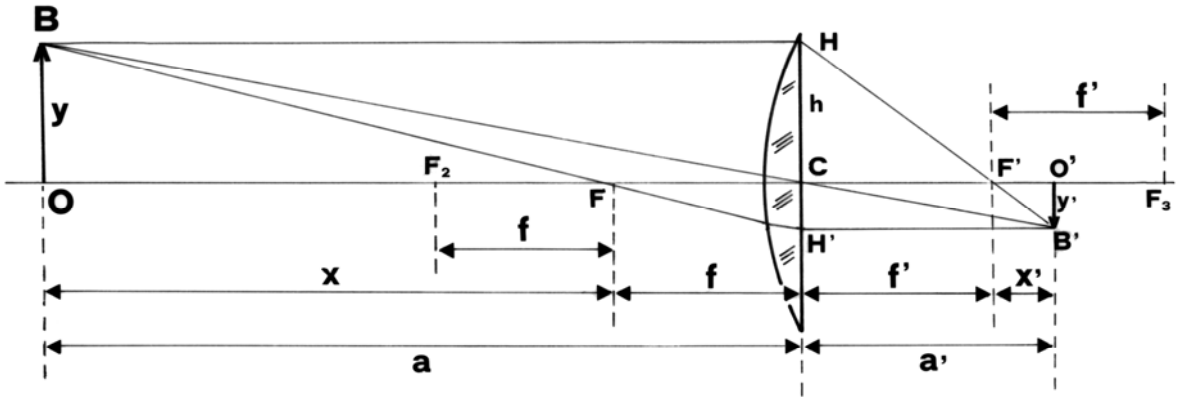
L'oggetto (esteso) si trova a distanza infinita.

È questo il caso dell'obbiettivo di un cannocchiale, di un binocolo, di una macchina fotografica (con oggetto lontano); è anche il caso della "lente di tubo" di certi microscopi (vedi il § 3.2.3).

Il punto assiale dell'oggetto (O, fuori figura), trovandosi a distanza infinita, invia alla lente un fascio parallelo che converge in O', il quale coincide con F'. Un punto extra-assiale (B) produce analogamente un'immagine in B'. Il luogo geometrico di tutti i punti possibili analoghi a B' è un piano perpendicolare all'asse, che interseca l'asse in F', detto "piano immagine", che in questo caso coincide col "**piano focale posteriore**" (nelle lenti reali il "piano" focale non è mai un piano). B' ed F' giacciono in tale piano.

Di un oggetto a distanza infinita (in pratica, molto grande rispetto alla focale f') la lente produce un'immagine rovesciata nel suo piano focale; l'immagine dista dalla lente di una distanza pari ad f'.

(Fig. 11)



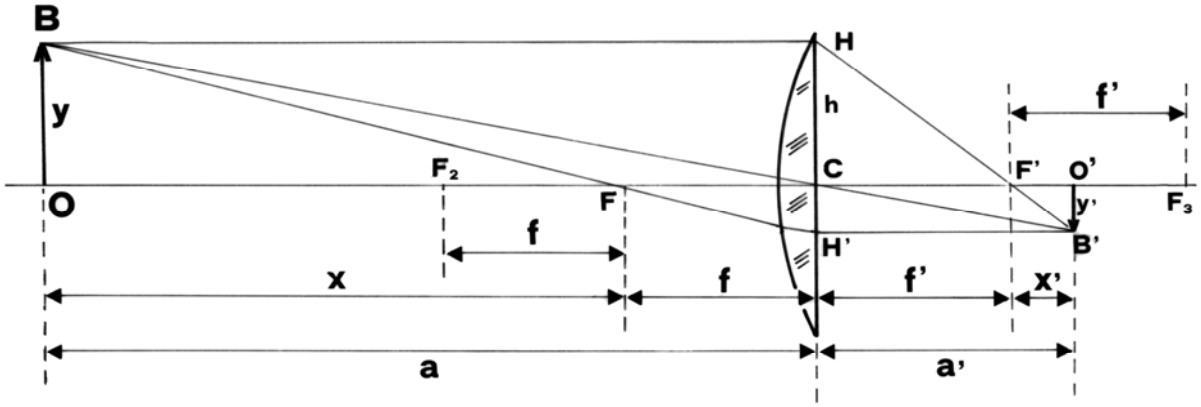


Fig. 11

2.6.2.2 - Ingrandimento < 1 - Rif. Fig. 11

In fig. 11 sono indicati i simboli, i punti e le lunghezze sopra definite.

Essa può essere vista come un caso generale, cui gli altri possono ricondursi; il caso di fig. 10, ad es., ricade nella fig. 11 ponendo $a = x = \infty$ e, in quel caso, $x' = 0$, $a' = f'$. Ora, invece, l'oggetto dista dalla lente di una distanza finita : $a > 2f$; l'immagine si forma ad una distanza compresa fra f' e 2f'; essa è rovesciata ed impiccolita rispetto l'oggetto. Il piano immagine non coincide più col piano focale posteriore.

Le leggi generali che stabiliscono i rapporti fra le coniugate, la focale ed il tiraggio sono[22]:

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{a} + \frac{1}{a'} \qquad (10)$$

$$f^2 = x\,x' \text{ (formula di Newton)} \qquad (11)$$

Si può ricavare graficamente la costruzione dell'immagine sfruttando i principi esposti nel § 2.6.1 : il raggio BC, passando per il centro C, prosegue indeviato fino a B'; il raggio BH, parallelo all'asse (y = h), emerge dalla lente passando per il fuoco immagine F'; il raggio BH', passando per il primo fuoco (F), emerge dalla lente e prosegue parallelamente all'asse. I tre raggi s'incontrano in B'.

La fig. 11 illustra le condizioni di lavoro di un obbiettivo fotografico o da binocolo con oggetto a distanza finita, e di un condensatore da microscopio (vedi il § 8.3); così funziona anche un oculare, se per suo oggetto si considera la pupilla dell'obbiettivo.

Sempre in fig. 11 si è indicato un solo punto extra-assiale (B o B'), come faremo in molte altre figure; ma ciò solo a fini di semplicità. Infatti, un qualunque oggetto non puntiforme si può considerare formato da infiniti punti come B. Normalmente, l'oggetto e l'immagine sono centrati rispetto l'asse, e negli schemi li si considera piani e perpendicolari all'asse.

Dalla fig. 11 si può anche chiarire il concetto di ingrandimento, applicabile a tutti gli altri casi: ricordando le condizioni poste sopra, risulta che BO e B'O' sono perpendicolari all'asse; a questo punto risulta definibile un "**ingrandimento lineare trasversale**", indicato con M,

[22] In molti testi, i simboli **a** ed **a'** sono indicati rispettivamente con **p** e **q** .

pari a :

$$M = \frac{y'}{y} = \frac{B'O'}{BO} \qquad (12)$$

Tale ingrandimento è detto "**lineare**" poiché è un rapporto di segmenti, non di aree o di volumi; è detto "**trasversale**" perché i segmenti considerati giacciono nei piani oggetto ed immagine che sono perpendicolari all'asse. Lo si può anche definire come il rapporto fra la lunghezza di un segmento nel piano-immagine e la lunghezza del segmento corrispondente nel piano-oggetto.

Considerando i triangoli simili OBC ed O'B'C (fig. 11) si può dimostrare che :

$$M = \frac{y'}{y} = \frac{a'}{a} \qquad (13)$$

L'ingrandimento M è dunque pari al rapporto delle "coniugate" **a'** ed **a**.

Considerando i triangoli simili HCF' e B'O'F' (retti in C ed O') si può dimostrare che :

$$M = \frac{y'}{y} = \frac{y'}{h} = \frac{x'}{f'} = \frac{x'}{f} \qquad (14)$$

(nell'ipotesi che la lente sia limitata da ambo i lati dallo stesso mezzo, si è già detto che f = f' e naturalmente y = h = HC).

Dai triangoli H'CF e BOF (simili, e retti in C ed O) si dimostra allo stesso modo:

$$M = \frac{f}{x} \qquad (15)$$

Nel caso di fig. 11 è chiaro che **a' < a** ed **M < 1** (immagine rimpiccolita). Nel caso di fig. 10, risultava: **a = x =** ∞ nonché **x' = 0** ed **a' = f'**; quindi l'ingrandimento era:

$$M = \frac{a'}{a} = \frac{f'}{\infty} = 0; \quad \text{oppure: } M = \frac{x'}{f} = \frac{0}{f} = 0; \quad \text{oppure: } M = \frac{f}{x} = \frac{f}{\infty} = 0$$

Ciò significa non che l'immagine ha dimensioni nulle (un oggetto a distanza praticamente infinita, come il cielo stellato, ha pur sempre un'estensione trasversale) ma che l'immagine è infinitamente più piccola dell'oggetto.

2.6.2.3 - Ingrandimento = 1 – Rif. Fig. 12

Anche la fig. 12 è un caso particolare del caso generale di fig. 11 : a = OC = 2 f = a' = CO' = 2 f'; inoltre: x = x' = f ; $M = \frac{a'}{a} = \frac{x'}{f} = \frac{f}{x} = 1$.

L'ingrandimento è **unitario**; le due coniugate sono uguali e pari al doppio della focale. La figura è simmetrica rispetto al piano della lente (supposta sottile). L'immagine ha le stesse dimensioni dell'oggetto ed è ovviamente rovesciata.

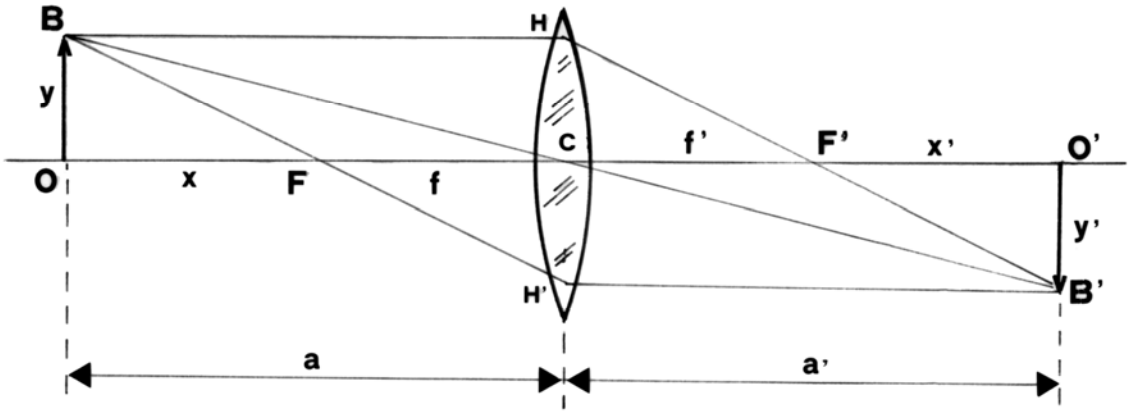


Fig. 12

Si noti che, in questo caso, la distanza globale oggetto-immagine (OO' = a + a' = x + f + f' + x' = 4f) è la minima possibile.

È questo il caso di certi "duplicatori per diapositive" e di certe lenti di trasporto o "**lenti-relé**" usate nei cannocchiali o nei microscopi (vedi il § 25.2).

2.6.2.4 - Ingrandimento > 1 – Rif. Fig. 13

Un altro caso particolare si ha quando l'oggetto si trova rispetto alla lente ad una distanza minore di 2 f , però maggiore di f (fig. 13) : $f < a < 2f$.

Questo caso è rovesciato rispetto a quello di fig. 11 ; $a' > a$; $x < f$; $x' > f$; $M = \frac{a'}{a} > 1$.

Valgono ancora la (14) ($M = \frac{x'}{f}$) e la (15) ($M = \frac{f}{x}$).

L'immagine dista dalla lente più di 2 f ed è ingrandita rispetto l'oggetto, sempre rovesciata[23].

[23] In generale (immagine reale rovesciata, lente sottile), la distanza totale oggetto-immagine è data da :

$$f\,(2 + M + \{1 / M\})$$

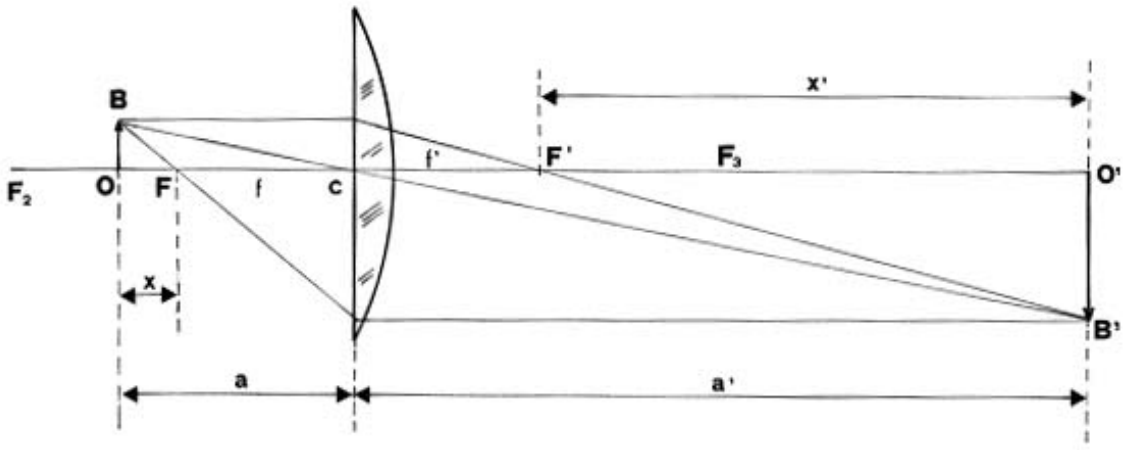


Fig. 13

Questo caso è importantissimo poiché è il caso di un obbiettivo macro-fotografico, di un obbiettivo da proiettore e di un obbiettivo da microscopio classico con "**coniugata finita**". Quest'ultima locuzione allude al fatto che la maggior parte degli obbiettivi da microscopio costruiti prima del 1980, e forse ancora oggi, sono calcolati per operare secondo lo schema di fig. 13, in cui la "coniugata" (immagine) è finita, cioè non è infinita (vedi caso seguente) pur essendo superiore a 2 f.

Anche il collettore della micro-lampada (vedi il § 22.2) funziona secondo questo schema.

Finora abbiamo sempre contemplato casi in cui, da ogni punto-oggetto, emergeva un fascio di raggi divergenti (o al massimo paralleli); le distanze nel sistema erano tali che questo fascio, al di là della lente, convergeva in un punto-immagine. Quindi, ponendo uno schermo nel piano-immagine, si poteva formare su di esso un'immagine dell'oggetto, nel senso che, ad ogni punto-oggetto, corrispondeva sullo schermo un punto-immagine.

Questo tipo di immagine, che è formata dalla convergenza dei raggi e che si può raccogliere su uno schermo, si chiama "**immagine reale**". In assenza di schermo, al di là dell'immagine, i raggi che convergono in essa proseguono divergendo da ogni punto-immagine come se esso fosse una nuova sorgente, cioè un nuovo oggetto. L'immagine reale può quindi essere trattata, con opportune limitazioni, come un oggetto ed essere osservata dall'occhio o da un successivo sistema ottico (come un oculare).

In tutti i casi considerati di immagine reale, l'immagine può essere più piccola o più grande dell'oggetto, ma sempre rovesciata.

Si è anche visto che, via via che l'oggetto si avvicina alla lente, l'immagine se ne allontana e diviene più grande.

Avvicinando ancora l'oggetto, si creano situazioni nuove, come quelle descritte qui sotto.

2.6.2.5 - Ingrandimento = ∞ – Rif. Fig. 14

In fig. 14 si ha il caso inverso di fig. 10 : l'oggetto si è avvicinato alla lente fino ad una distanza pari ad **f** ; O coincide col primo fuoco F; a = f ; x = 0 . Per ragioni di simmetria, dovrà essere:

$$a' = x' = \infty \quad \text{ed} \quad M = \frac{a'}{a} = \frac{\infty}{a} = \infty$$

L'immagine si forma a distanza infinita. L'ingrandimento è infinito, ma non nel senso che l'immagine ha dimensioni infinite, piuttosto nel senso che essa è "infinitamente" più grande dell'oggetto.

Questo è il funzionamento di certi illuminatori e degli obbiettivi da microscopio "a **coniugata infinita**" o "all'infinito", cosiddetti per il valore della loro coniugata-immagine. Vedremo come essi sono utilizzati nello schema generale di un microscopio.

In questo caso, il fascio di raggi emergenti dalla lente e corrispondenti ad ogni singolo punto oggetto è un fascio parallelo; ciò significa che quei raggi convergono verso un punto immagine a distanza infinita. L'immagine è dunque rovesciata, infinitamente ingrandita, a distanza infinita. L'onda emergente dalla lente è **telecentrica**, nel senso che il suo centro di curvatura si trova a distanza infinita e l'onda è piana.

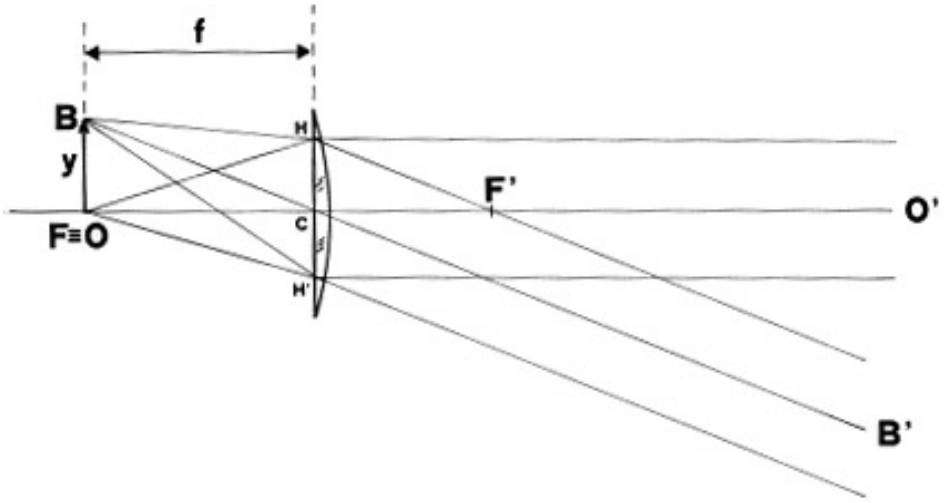


Fig. 14

2.7 – LE IMMAGINI VIRTUALI

Abbiamo intitolato il capitolo precedente con "IMMAGINI REALI". Infatti, in tutti i casi finora esaminati, illustrati nelle figure da 10 a 13, i raggi emergenti dalla lente convergono verso una "**immagine reale**", concreta, che si può raccogliere su uno schermo. Ma già con la fig. 9 si è visto che i raggi emergenti da una lente possono divergere; in tal caso non si forma un'immagine reale; solo i prolungamenti dei raggi, tracciati a ritroso, possono convergere verso un'immagine fittizia o "virtuale".

Così, proseguendo con l'esame dei casi particolari nelle lenti convergenti, che, finora, hanno sempre prodotto immagini reali, avviciniamo ancora l'oggetto ad una distanza (dalla lente sottile, sempre all'interno dell'ottica parassiale) minore della focale **f**.

In fig. 15, si ha : $a < f$; $x < 0$. Ponendo uno schermo a destra della lente non si osserverà mai un'immagine formarsi su di esso poiché i raggi provenienti da ogni punto oggetto divergono ancora al di là della lente. Non si ha immagine reale.

Proviamo però a tracciare verso sinistra i prolungamenti dei raggi emergenti dalla lente e corrispondenti ad ogni singolo punto oggetto (tratteggiati in figura). Essi convergono verso

corrispondenti punti "virtuali", un punto immagine per ogni punto oggetto.

Ad O corrisponde O' , a B corrisponde B', ecc. Si può quindi costruire (anche graficamente, applicando i princìpi generali già usati) una "**immagine virtuale**" che non esiste fisicamente, non si proietta su uno schermo, ma esiste geometricamente.

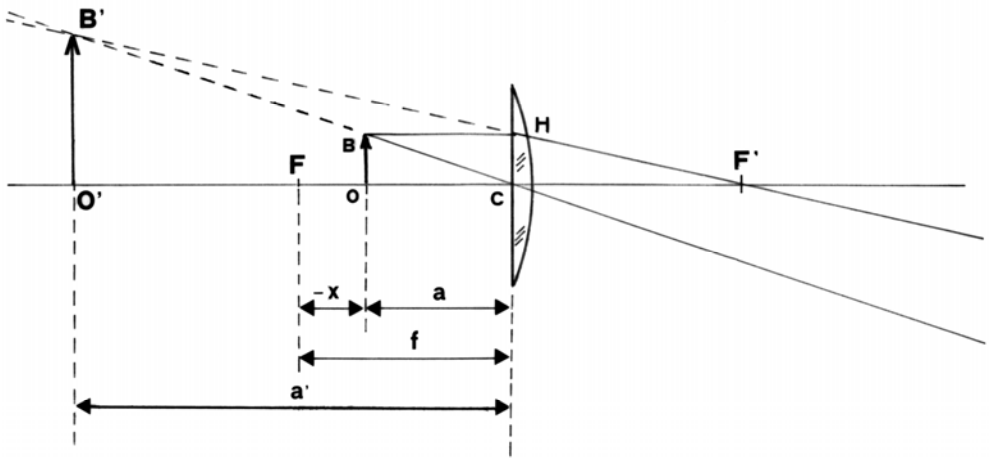


Fig. 15

C'è però un vantaggio: un occhio (o una lente convergente) posto a destra della lente di fig. 15, rivolto verso la lente medesima, riceve dei raggi divergenti ***come se*** provenissero non dai punti oggetto (O, B, ecc.) ma dai punti corrispondenti dell'immagine virtuale (O' e B'). I raggi emergenti dalla lente vengono interpretati come provenienti dall'immagine O'B'. Noi quindi "vediamo" non l'oggetto ma la sua immagine virtuale (ingrandita, come detto nel § 4.3).

Il principio della costruzione di un'immagine virtuale ottenuta tracciando all'indietro i prolungamenti dei raggi, si può applicare anche al caso dei raggi paralleli di fig. 14 : invece di dire che i raggi si incontrano verso destra in un'immagine reale a distanza infinita, si può anche dire che i loro prolungamenti si incontrano verso sinistra in un'immagine virtuale, sempre a distanza infinita.

Mentre le immagini reali dei casi precedenti sono sempre rovesciate, l'immagine virtuale è diritta: in fig. 15, il segmento oggetto OB è orientato come il corrispondente segmento immagine O'B'. Così pure le lenti divergenti (vedi fig. 9, § 2.5) possono produrre immagini virtuali diritte, e questo è il principio dell'oculare divergente di Galileo.

Ebbene, per quanto detto sopra, al posto dell'oggetto OB (fig. 14 o 15) si può porre un'immagine reale (prodotta ad es. da un sistema convergente come quello di fig. 11). Questo avviene nei telescopi, cannocchiali e binocoli, in cui un obbiettivo che lavora come in fig. 11 produce un'immagine reale che cade esattamente oppure un po' oltre il primo fuoco di un oculare convergente, il quale opera come in fig. 14 o 15. Qualcosa di simile avviene in un microscopio (vedi il § 4.4) .

2.8 – LE LENTI SPESSE ED I PIANI PRINCIPALI

Finora si sono descritti sistemi ottici ideali, con le caratteristiche convenzionali descritte nel § 2.5.1, in particolare "lenti infinitamente sottili" .

Le varie lunghezze (coniugate, focali, tiraggio) sono state misurate a partire dal centro C della lente (vedi il § 2.6.1).

Ma le lenti reali hanno uno spessore non trascurabile e spesso sono costituite da varie lenti incollate fra loro o distanziate. Un raggio, parallelo all'asse, incidente in A (fig. 16) subisce una serie di deviazioni (in B, C e D) attraversando altrettante superfici aria-vetro (o vetro-vetro, se sono a contatto vetri di diverso indice) ed alla fine converge nel fuoco-immagine (F').

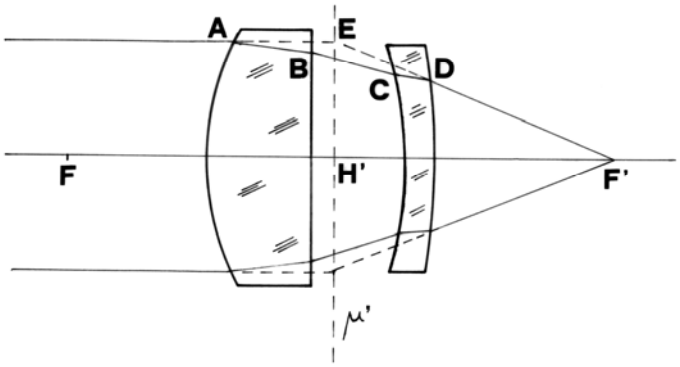


Fig. 16

Immaginiamo di prolungare in avanti il raggio incidente ed all'indietro il raggio emergente. Questi due raggi virtuali (tratteggiati in figura) si incontrano in un punto (E). Con tutte le infinite possibili coppie di raggi incidente-emergente, si costruiscono infiniti punti analoghi ad E giacenti su una superficie (simmetrica attorno all'asse) che non è normalmente piana, chiamata però "**piano principale** immagine" ed indicata colla lettera **m** minuscola greca o "mu" (μ').

Considerando dei raggi emergenti dal fuoco-oggetto (F), essi dovranno emergere dalla lente paralleli fra loro ed all'asse e per essi si potrà costruire allo stesso modo un "piano principale oggetto" (μ) (vedi oltre, fig. 24). I due piani principali intersecano l'asse in due punti chiamati "**punti principali**" (oggetto ed immagine) indicati con H ed H'.

Ebbene, tutte le lunghezze (coniugate, ecc.) vanno misurate a partire dai punti principali. Infatti, dal punto di vista della formazione dell'immagine, tutto si svolge come se le lenti reali non esistessero, e tutta la "potenza" della lente fosse concentrata nel piano principale. Questo diventa così l'equivalente di una lente sottile che svolge la stessa funzione della lente reale spessa (almeno da un punto di vista geometrico).

Allora, per definire le proprietà della lente spessa, è sufficiente definire la posizione dei punti principali (e con ciò dell'asse) e la posizione dei fuochi, che indica la potenza.

I piani principali possono essere interni od esterni alla lente reale spessa e la loro posizione si può ricavare dai dati di progetto oppure da misure assai complesse.

Fortunatamente, in microscopia le grandezze essenziali si possono normalmente calcolare senza conoscere la posizione dei piani principali.

3 – PRINCIPIO DELL'OBBIETTIVO DEL MICROSCOPIO OTTICO

3.1 - OBBIETTIVI "A CONIUGATA FINITA"

Si prenda uno schema come quello di fig. 13. Supponiamo ancora che l'oggetto sia piano ed infinitamente sottile, perpendicolare all'asse; ragioniamo ancora all'interno dell'approssimazione di Gauss, trascurando quindi lo spessore della lente.

Lungo un asse comune si hanno, centrati, l'oggetto OB (come si è già detto, la chiarezza impone di schematizzare nelle figure solo metà dell'oggetto e dell'immagine; ma non è difficile immaginare un oggetto od un'immagine simmetrici rispetto all'asse), la lente sferica convergente, l'immagine reale, rovesciata ed ingrandita O'B' . Le distanze sono quelle di fig. 13: $f < a < 2f$; $a' > 2\,f$. Valgono ancora la (14) e la (15) del § 2.6.2.2 :

$$M = \frac{y'}{y} = \frac{a'}{a} = \frac{x'}{f} = \frac{f}{x}$$

Questo è l'utilizzo normale della prima lente convergente del microscopio composto che, come già precisato, si chiama "obbiettivo".

L'immagine reale O'B' si viene a trovare, per quanto detto sopra (§ 2.7) prima di una seconda lente convergente (in pratica, l'oculare), e precisamente ad una distanza da tale lente pari o appena inferiore alla focale di essa (vedi la fig. 20 nel § 4.4).

La focale dell'obbiettivo si indica con $\mathbf{f_{ob}}$; la seconda lente convergente si chiama "oculare" e la sua focale si indica con $\mathbf{f_{oc}}$ o $\mathbf{f_{ok.}}$

Questo è lo schema di base del microscopio composto.

L'immagine O'B', poiché si trova fra obbiettivo ed oculare, si chiama "**immagine intermedia**"**.** Tale immagine è rovesciata rispetto l'oggetto OB. L'immagine virtuale fornita dall'oculare è diritta rispetto al suo proprio oggetto (che è l'immagine intermedia) quindi rovesciata rispetto l'oggetto OB.

3.2 - OBBIETTIVI "A CONIUGATA INFINITA"

Lo schema descritto sopra è detto "a **coniugata finita**" facendo riferimento alla coniugata immagine **a**' (in fig.13 : a' = CO'). In pratica, nel microscopio, la **a'** varia da 120 a 200 mm; essa dipende dalla posizione del punto principale immagine dell'obbiettivo (H' in fig. 16), che è diversa per ogni obbiettivo, e dalla posizione dell'immagine intermedia, che invece dovrebbe rimanere costante per tutti gli obbiettivi e gli oculari della stessa serie, almeno nella produzione recente.

Il valore di **a'** non ha molte relazioni con la "**lunghezza ottica**" o quella "**meccanica**" del tubo (vedi il § 10).

Lo schema di obbiettivo a coniugata finita porta dunque a formare un'immagine intermedia reale, rovesciata ed ingrandita rispetto l'oggetto, a distanza finita dall'obbiettivo,

senza bisogno di altre parti ottiche.

È lo schema più antico, il più semplice, e non soffre di limitazioni sul piano teorico. Esso ha però un inconveniente: in molti casi, è necessario interporre fra obbiettivo ed oculare delle lamine di vetro limitate da facce piane e parallele (filtri, prismi, ecc.). Tali parti sono prive di potenza ottica, appunto perché le facce sono piane, e quindi non modificano l'ingrandimento, però esse spostano l'immagine intermedia, di una lunghezza pari a circa 1/3 dello spessore **d** della lamina; più esattamente, se A è lo spostamento dell'immagine in direzione dell'asse, chiamato anche "**avanzamento**", si ha :

$$A = [(n – 1) / n] \cdot d \qquad (16)$$

in cui **n** è l'indice della lamina. In particolare, l'immagine intermedia si sposta in direzione dell'oculare.

Il fenomeno dell'avanzamento dell'immagine si spiega semplicemente in base al fenomeno della rifrazione in un fascio convergente. Esso produce uno spostamento dell'immagine ma non una variazione delle sue dimensioni.

Ebbene, non essendo pratico compensare lo spostamento dell'immagine intermedia con un movimento dell'oculare, in pratica si fa variare la distanza oggetto-obbiettivo e quindi la posizione dell'immagine intermedia a mezzo del movimento di "messa a fuoco" (vedi il § 27.2.2). Questa manovra porta però alcuni inconvenienti:

◊◊ si perde la "parfocalità" degli obbiettivi, cioè si perde la messa a fuoco quando si cambia obbiettivo (vedi il § 19.1.2);

◊◊ gli obbiettivi lavorano con coniugate alterate e ciò, nel caso degli obbiettivi forti, provoca l'insorgenza di aberrazioni (vedi il § 13.2.3);

◊◊ l'ingrandimento viene alterato, sempre a causa dell'alterazione delle coniugate.

Per evitare dunque il ritocco della messa a fuoco con i relativi effetti dannosi, ogni volta che si inserisce o si esclude il filtro o il prisma, si è cercata da tempo un'altra soluzione.

3.2.1 - La lente convergente

Un primo rimedio consiste nell'inserire assieme al filtro od al prisma un opportuno sistema ottico convergente che compensi lo spostamento dell'immagine intermedia. Questa soluzione è raramente seguita in pratica poiché riduce l'ingrandimento.

3.2.2 - Il "Telan"

Si può anche inserire fra obbiettivo ed oculare un sistema "**Telan**". Ecco il principio: lo spostamento dell'immagine intermedia provocato dal prisma dipende dal fatto che il fascio che concorre in ogni punto dell'immagine intermedia è convergente (fig. 13). Se il fascio fosse parallelo, non vi sarebbe spostamento (i raggi inciderebbero tutti normalmente alla lamina e non verrebbero deviati, almeno per i punti assiali).

Per ottenere un fascio parallelo (per ogni punto immagine) in qualche regione fra obbiettivo ed oculare, si usa il sistema TELAN (fig. 17).

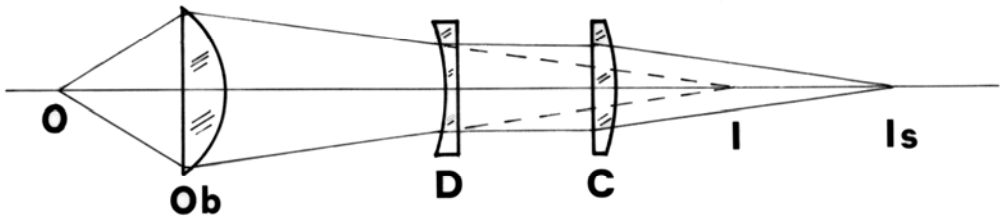


Fig. 17

L'obbiettivo O_b , in condizioni normali, produrrebbe un'immagine intermedia in posizione I . Sopra l'obbiettivo si pone una lente divergente D tale che il fascio convergente prodotto dall'obbiettivo divenga parallelo. Ad una distanza opportuna dopo D si pone una lente convergente C che rende di nuovo convergente il fascio in modo da formare una nuova immagine intermedia spostata in I_S .

Si fa in modo che i tratti O_b - D e C - I_S formino globalmente una lunghezza pari alla coniugata-immagine originale dell'obbiettivo (O_b - I). In questo modo la I_S è identica alla I, è solo spostata del tratto I - I_S = D - C . Nel tratto D - C si può porre od estrarre qualunque lamina plan-parallela senza che l'immagine intermedia cambi posizione o dimensioni in virtù del fatto che fra le lenti D e C il fascio prodotto da ogni punto oggetto è parallelo (telecentrico).

Il Telan viene usato anche per interporre fra obbiettivo ed oculare qualche sistema intermedio (cambiatori d'ingrandimento, lente di Amici, ecc., vedi il § 25.2); i cambiatori d'ingrandimento hanno in genere coniugate infinite da ambo i lati (sono "afocali", come i cannocchiali).

3.2.3 - Obbiettivi a coniugata infinita

Per evitare le lenti addizionali del Telan, vi è un terzo metodo, che è appunto quello degli "**obbiettivi a coniugata infinita**" già usato alla fine del XIX sec. negli strumenti che fanno normalmente uso di prismi sopra l'obbiettivo (microscopi polarizzatori e metallografici), poi sempre più diffuso a partire dal 1930 ad opera dei costruttori Reichert (Vienna), Leitz (Wetzlar) e Zeiss (Jena).

Si veda la fig.18: lungo l'asse si ha l'oggetto O_g posto nel primo fuoco dell'obbiettivo O_b . Ogni punto dell'oggetto (qui è indicato solo il punto sull'asse) produce a valle di O_b un fascio parallelo. A questo punto si avrebbe un'immagine intermedia a distanza infinita (vedi la fig. 14 nel § 2.6.2.5) e quindi inutilizzabile. Per avere un'immagine intermedia reale a distanza utile basta porre sopra l'obbiettivo una lente convergente LT , detta "**lente di tubo**". Poiché il fascio incidente su LT è parallelo, esso converge nel secondo fuoco di LT ; qui si forma l'immagine intermedia e qui si trova il primo fuoco dell'oculare. Nello spazio fra obbiettivo ed LT si ha un fascio parallelo (telecentrico) per ogni punto oggetto. La distanza LT - immagine intermedia è pari alla focale di LT (indicata con f_t), e spesso è di 250 mm (con molte eccezioni[24]).

La lente di tubo è presente ormai nella maggioranza degli strumenti di alto livello

[24] Si usa il valore di 180 mm (Olympus), 200 mm (Nikon, Leica), 165 mm (Zeiss), ecc.

costruiti negli ultimi 20 anni e nei modelli stereoscopici del tipo CMO (§ 29.7).

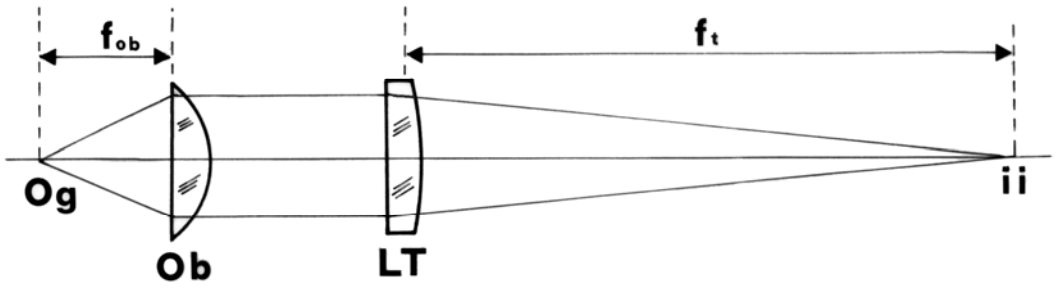


Fig. 18

Dal punto di vista della struttura, la differenza fra gli obbiettivi classici "a coniugata finita" e quelli "all'infinito" è lieve: nel calcolo del sistema di lenti si deve ovviamente tener conto delle diverse distanze dell'oggetto e dell'immagine al fine di ottimizzare le prestazioni del sistema.

Inoltre, se si confronta l'ingrandimento di un obbiettivo a coniugata finita (formula (14), § 2.6.2.2 : $M = \frac{x'}{f}$) con quello di un'obbiettivo a coniugata infinita (vedi sotto la (17):

$M = \frac{f_t}{f_{ob}}$, tenendo conto che nella (14) **f** indica la focale dell'obbiettivo f_{ob}, se ne deduce che la focale di tubo f_t è numericamente pari ad x' (a parità d'ingrandimento). Ma **x'**, nel caso degli obbiettivi a coniugata finita, è dell'ordine di 160 mm (dipende dalla struttura dell'obbiettivo), mentre la f_t è variabile almeno fra 180 e 250 mm. Ne risulta che, a parità d'ingrandimento, un obbiettivo a coniugata infinita ha una focale maggiore del corrispondente a coniugata finita. Se maggiore è la focale, a parità di apertura sarà anche maggiore il diametro delle lenti e quindi l'ingombro generale dell'obbiettivo.

A questo punto, lo spazio fra obbiettivo e lente di tubo diviene una specie di spazio franco in cui è possibile introdurre od eliminare qualunque elemento privo di potenza senza variare ingrandimento né focalizzazione (lamine plan-parallele, prismi, sistemi galileiani afocali con funzione di cambiatori d'ingrandimento, ecc.); di questo "spazio franco" si può variare l'ampiezza entro ampi limiti; il limite superiore può essere dato da vignettature, qualche aberrazione e simili.

La struttura a seconda coniugata infinita facilita l'intercambiabilità degli accessori e la costruzione di strumenti a struttura modulare. È una comodità per il costruttore, più che per l'utilizzatore.

Per calcolare l'ingrandimento lineare di un obbiettivo a coniugata infinita, si può fare questa approssimata considerazione: l'immagine intermedia è formata dal complesso dell'obbiettivo + lente di tubo (fig. 18); la prima coniugata (**a**) di questo complesso è la focale f_{ob} dell'obbiettivo; la seconda coniugata (**a'**) è la focale della lente di tubo (f_t), spesso pari a 250 mm. Quindi, applicando la (13), si ha la :

$$M = \frac{a'}{a} = \frac{f_t}{f_{ob}} \qquad (17)$$

Come vedremo nel § 10, la distanza fra fuoco superiore dell'obbiettivo (F'_{ob}) e fuoco

inferiore dell'oculare (F_{ok}) è pari alla distanza fra F'_{ob} ed immagine intermedia (quest'ultima dovrebbe trovarsi sempre a livello di F_{ok}). Questa distanza si indica come "lunghezza ottica del microscopio" (Δ). Ma allora Δ è pari ad **x'** e, per quanto detto sopra, ad $\mathbf{f_t}$: $\Delta = x' = f_t$. Così la formula (14): $M = x' / f$ equivale alla (17): $M = f_t / f$ e cioè:

$$M = f_t / f = \Delta / f \qquad (17')$$

(qui f ed f_{ob} sono sinonimi).

Quando $f_t = \Delta$ è pari a 250 mm, si ha $M = 250 / f$, e questa è l'espressione dell'ingrandimento visuale di un oculare (§ 4.3) e pertanto va seguita dal simbolo "×". In genere, infatti, i costruttori indicano l'ingrandimento degli obbiettivi a coniugata infinita con un numero seguito da "×".

Si noti anche che un obbiettivo a coniugata infinita produce l'immagine intermedia congiuntamente alla lente di tubo. Si può quindi considerare tale duplice sistema come un normale obbiettivo a coniugata finita: basta ricordarsi che abbiamo a che fare con un sistema complesso. La focale dell'obbiettivo da considerare nelle formule come la (14) o la (15) è allora la focale complessiva del sistema obbiettivo + lente di tubo; tale focale dipende dalla distanza fra obbiettivo e lente di tubo e tale distanza, come si è visto, può variare entro ampi limiti. Ma come fa un obbiettivo a coniugata infinita + lente di tubo a dare sempre lo stesso ingrandimento se la sua focale complessiva non è definita? Questa apparente contraddizione si supera pensando che, variando la distanza fra obbiettivo e lente di tubo, varia anche la posizione dei punti principali del sistema e l'altezza **h** di incidenza dei fasci prodotti dall'obbiettivo sulla lente di tubo stessa. Insomma, variando la distanza fra le due parti, varia il sistema complessivo sia nella sua focale che in altri parametri, ed i vari effetti si elidono reciprocamente in modo che l'ingrandimento non vari.

Per scrupolo di completezza, ricordiamo che alcuni costruttori (Zeiss W. ad es.) possono prevedere come lente di tubo un sistema semplice il quale, oltre a svolgere la funzione appena descritta, introduce ad arte piccoli residui di aberrazioni che hanno come scopo di "compensare" residui di segno opposto presenti negli obbiettivi. Ciò, globalmente, facilita il lavoro del progettista ma rende incompatibili gli obbiettivi di un costruttore con gli stativi (contenenti la lente di tubo) di un altro. Il problema della compatibilità è sempre presente.

4 – PRINCIPIO DELL'OCULARE

4.1 – LA LENTE D'INGRANDIMENTO

In fig. 19 è indicato un oggetto AE posto a 250 mm dalla pupilla dell'occhio di un osservatore (questa pupilla è in F'). L'oggetto appare all'osservatore sotto un angolo α ; il valore di α dipende dalle dimensioni di AE e dalla distanza AF'; si può dire che :

$$\text{tg } \alpha = \frac{AE}{AF'}$$

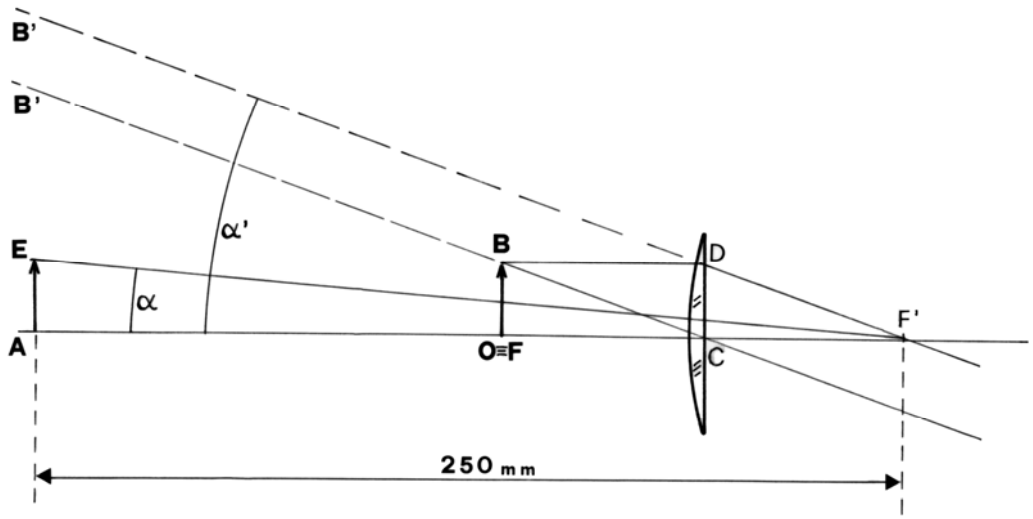


Fig. 19

Si assume normalmente per AF' il valore "convenzionale" di 250 mm, tanto per avere un riferimento internazionale, supponendo che quella sia la distanza "media" di osservazione di un occhio sano. In realtà, un occhio giovane può avere un "**punto prossimo**" (distanza minima della visione distinta) di 7 - 8 cm; anche meno se è miope. Un occhio adulto vede allontanarsi il punto prossimo fino ad 1 m e, nell'anziano, anche oltre 2 m, col progredire della presbiopìa. Ma un valore medio va considerato al fine di unificare i calcoli.

Fissata dunque la distanza di osservazione AF', l'**angolo** "**visuale"** α , sotto cui l'oggetto AE appare all'occhio, dipende solo dalle dimensioni di AE.

Supponiamo ora di porre in C una lente convergente (sottile per semplicità) in modo che il suo fuoco immagine F' coincida colla pupilla dell'osservatore. Poniamo ora nel suo primo fuoco F un oggetto OB identico ad AE; O coincide con F; OC = CF' = f , in cui **f** è la focale della lente.

Consideriamo il punto B dell'oggetto; esso può inviare un raggio BC che attraversa la lente nel suo centro e, per quanto detto nel § 2.6.1, prosegue indeviato; un altro raggio, BD , può incidere sulla lente rimanendo parallelo all'asse e, per definizione, emerge passando per il secondo fuoco F'; pensando che i triangoli rettangoli BOC e DCF' sono uguali (BO = DC ;

OC = CF' = f) risulta che i raggi BC e DF' sono paralleli. Del resto, tutti i punti (come O e B) posti nel piano focale di una lente convergente, quando inviano raggi verso la lente stessa, producono ognuno al di là della lente un fascio parallelo (vedi la fig. 14).

Dunque, il punto B viene visto dall'osservatore (posto in F') come se esso si trovasse a distanza infinita; all'occhio dell'osservatore giungono infatti i raggi paralleli BC e DF' che esso interpreta COME SE provenissero da un punto a distanza infinita, sul prolungamento di BC o DF' . Possiamo dire che, sul prolungamento dei raggi come BC , si trova l'immagine virtuale diritta di B , che possiamo indicare con B' (a sinistra, fuori figura)[25].

Finora abbiamo supposto che l'oggetto (OB) si trovi nel primo fuoco della lente convergente, secondo lo schema di fig. 14. Poiché l'immagine virtuale che appare all'occhio (posto in F') si trova a distanza infinita, l'occhio può rimanere rilassato (il muscolo ciliare non si contrae) poiché l'occhio rilassato "mette a fuoco" appunto oggetti a grande distanza. Questo è l'uso corretto di una lente d'ingrandimento.

Ma supponiamo ora di metterci nelle condizioni di fig. 15 (vedi il § 2.7): la coniugata oggetto **a** (OC) è leggermente minore della focale **f** . Si è già detto che, in queste condizioni, si forma un'immagine virtuale O'B' , diritta ed ingrandita, dalla stessa parte dell'oggetto OB . Poiché i raggi (o i loro prolungamenti) che convergono verso ogni punto dell'immagine non sono paralleli, l'immagine virtuale si trova a distanza finita, e l'occhio che la osserva deve **accomodare**, cioè contrarre il muscolo ciliare, come si fa osservando un oggetto vicino. In queste condizioni l'osservazione prolungata produce stanchezza.

Il passaggio dalla condizione di fig. 14 o 19 a quella di fig. 15 è assai facile, specie se la lente è forte: basta un piccolo spostamento della lente rispetto l'oggetto, cioè un ritocco della "messa a fuoco". In conseguenza di questo piccolo spostamento della lente, l'immagine virtuale si sposta dall'infinito a distanza anche piccola e l'occhio deve variare entro limiti assai ampi la sua accomodazione.

4.2 - L' "EFFETTO DEL TUBO"

La condizione di osservazione attraverso una lente d'ingrandimento come schematizzata in fig. 15 è dunque da considerare errata, poiché impone all'occhio un inutile sforzo.

Ma spesso è l'occhio stesso che si pone in quella condizione. Ecco perché: la lente d'ingrandimento, colla sua montatura, rappresenta un oggetto abbastanza piccolo che si avvicina all'occhio; come si è già accennato, e come diremo meglio, anche l'oculare del microscopio si comporta come una lente d'ingrandimento: anch'esso va avvicinato all'occhio ed inoltre esso si trova all'estremità superiore di un "**tubo**" o altra struttura chiusa. In queste condizioni, l'osservatore che si avvicina alla lente o all'oculare si pone incosciamente nelle condizioni di guardare all'interno della lente o del tubo come se sbirciasse in una scatola da un forellino nella parete; questi punti reali o virtuali sono molto vicini all'occhio e pertanto l'occhio, sempre incosciamente, "**accomoda**", cioè si sforza di focalizzare su un punto vicino. Sullo stesso punto l'osservatore tenderà a porre l'immagine finale del microscopio, usando i comandi di messa a fuoco dello strumento.

Questo "**effetto del tubo**" è assolutamente irrazionale e solo un buon auto-controllo e

[25] Il punto B', dal punto di vista visuale, si può considerare a distanza infinita, per cui può giacere sia sulla retta CB sia sulla F'D .

molto senso critico possono evitarlo; e purtroppo, col passare del tempo, l'errata abitudine ad accomodare l'occhio si consolida e, quando l'età porta all'insorgere della presbiopìa, l'osservazione può diventare molto penosa. In questi casi, si sa, la colpa viene sempre data allo strumento che ha il solo torto di obbedire alle leggi dell'ottica invece di assumersi le responsabilità dei nostri errori.

Come metodo per evitare l'effetto del tubo, si può consigliare una forma di auto-suggestione: si guarda nell'oculare con un occhio e con l'altro occhio, magari tramite uno specchietto, si guarda il panorama fuori dalla finestra cercando di concentrare l'attenzione su di esso. Questo occhio dovrebbe così essere forzato a rilassarsi trascinando il compagno, ed in queste condizioni va focalizzato il microscopio.

4.3 - L'INGRANDIMENTO VISUALE

Nelle figg. 11, 12 e 13 (vedi il § 2.6.2) si è visto che una lente convergente può dare un'immagine reale ed in questa immagine è possibile definire dei segmenti come O'B' e calcolare il rapporto fra questi segmenti e quelli corrispondenti nell'oggetto, come OB.

Si è così definito l'ingrandimento lineare trasversale come rapporto di segmenti (vedi le formule (12) e (13)).

Ma, nel caso di immagine virtuale (figg. 14, 15 e 19), si è detto che l'immagine non si può raccogliere su uno schermo e comunque, per una minima variazione della coniugata oggetto, la posizione dell'immagine può variare grandemente e fino ad una distanza infinita; allo stesso modo variano le sue dimensioni. In queste condizioni non è possibile definire e misurare la lunghezza di un certo segmento in essa; così non ha senso parlare di ingrandimento lineare.

Però, nello schema di fig. 19, si è visto che l'oggetto AE, alla distanza "convenzionale", appare sotto un "**angolo visuale**" (α); allo stesso modo, l'immagine virtuale O'B' (fuori figura a sinistra), appare sotto un angolo maggiore (α') . Si può quindi definire un "**ingrandimento visuale**"[26] (V), da non confondersi con l'ingrandimento "angolare" che si applica ad altri concetti, dato da :

$$V = \frac{\alpha'}{\alpha} \qquad (18)$$

cioè dal rapporto fra gli angoli sotto cui l'osservatore vede un certo segmento nell'immagine virtuale ed il corrispondente segmento nell'oggetto.

L'ingrandimento lineare è un rapporto, e pertanto va indicato come **n:1** (es. 40:1 significa che un segmento nell'immagine reale è 40 volte più lungo del corrispondente segmento nell'oggetto). Se vi è riduzione (immagine più piccola dell'oggetto) si indica di solito **1:n**, come si fa nei disegni tecnici o nelle carte topografiche; es. **1:10˙000** significa che un dato elemento lineare sulla carta è 10˙000 volte più piccolo dell'oggetto reale corrispondente.

Nel caso invece dell'ingrandimento visuale, si ha un rapporto di angoli, che si distingue facendolo seguire dal segno × ; un oculare 8 × , ad es., mostra un oggetto sotto un angolo 8 volte più grande di quanto lo si vedrebbe ad occhio nudo (da 250 mm di distanza).

---

[26] L'ingrandimento visuale è detto anche "**convenzionale**" poiché è calcolato in base alla distanza di osservazione "convenzionale", pari a 250 mm.

Ebbene, nella fig. 19, si può immaginare che, per una certa posizione dell'oggetto OB, si abbia un'immagine virtuale AB' alla distanza di 250 mm dall'occhio dell'osservatore (come in fig. 15). È facile dimostrare che i triangoli B'AF' e DCF' sono simili, per cui AF' : CF' = AB' : CD ; sapendo che CD = OB = AE, ed inoltre CF' = f' = f ed AF' = 250 mm, si può scrivere:

$$\frac{250}{f} = \frac{AB'}{AE}$$

$$\text{ma: } \frac{AB'}{AF'} = \text{tg } \alpha' \quad \text{e: } \frac{AE}{AF'} = \text{tg } \alpha$$

per cui :

$$\frac{250}{f} = \frac{AB'}{AE} = \frac{\text{tg } \alpha'}{\text{tg } \alpha}$$

per angoli piccoli si è visto che le tangenti si confondono cogli angoli (espressi in radianti) per cui:

$$V = \frac{\alpha'}{\alpha} \sim \frac{250}{f} \qquad (19)$$

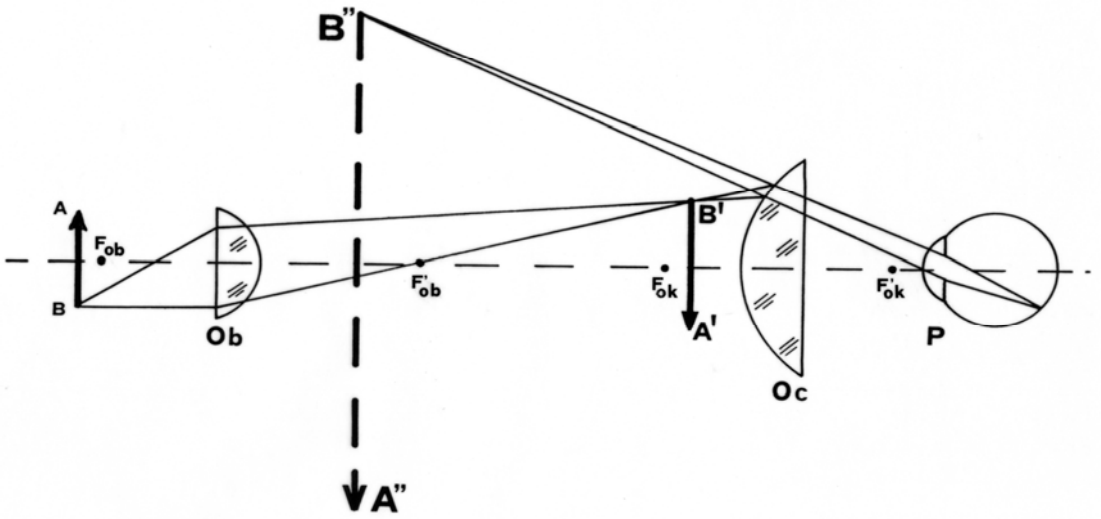


Fig. 20

4.4 - L'OCULARE e L'IMMAGINE INTERMEDIA

Si è già accennato al fatto che un'immagine reale si può comportare in parte come un oggetto, nel senso che i raggi che convergono in essa proseguono al di là di essa come se provenissero da un oggetto.

Osserviamo la fig. 20: AB è un oggetto posto davanti ad un obbiettivo Ob, poco prima del primo fuoco di esso. Secondo lo schema della fig. 13 (§ 2.6.2.4), si forma un'immagine reale rovesciata, ingrandita (A'B' in fig. 20). È questo lo schema di un obbiettivo a coniugata finita.

Ebbene, dopo l'immagine reale A'B', che corrisponde a quella che è stata definita

"immagine intermedia" (vedi il § 3.1), si trova un sistema convergente con funzioni di oculare (Oc). Nella fig. 20 si raffigura un microscopio NON correttamente focalizzato: infatti l'immagine intermedia (A'B') si forma oltre il primo fuoco di Oc (F_{ok}) e l'immagine virtuale A"B" si forma a distanza finita obbligando l'occhio ad accomodare (vedi la fig. 15 nel § 2.7). Ma questo è stato fatto allo scopo di raffigurare l'immagine virtuale A"B" all'interno della figura invece che all'infinito.

L'immagine A"B" si può chiamare **immagine finale** del microscopio, e si constata che essa è rovesciata rispetto l'oggetto, ingrandita e diritta rispetto all'immagine intermedia A'B' , e maggiormente ingrandita rispetto l'oggetto AB.

Allora l'oculare Oc si comporta come una lente d'ingrandimento posta davanti ad un oggetto, ma con questa differenza: da ogni punto dell'immagine intermedia, per es. dal punto B', non emerge un fascio di raggi in tutte le direzioni, come avverrebbe con un oggetto non speculare illuminato dall'esterno, bensì un fascio conico come prolungamento del fascio che ha la base nella lente dell'obbiettivo ed il vertice in B', e si tratta di un cono molto stretto.

Confrontiamo ora la fig. 14 (§ 2.6.2.5), in cui si raffigura un sistema convergente davanti ad un oggetto OB, posto nel suo primo fuoco, colla fig. 21, che rappresenta un oculare correttamente messo a fuoco su un'immagine intermedia (A'B'). L'immagine intermedia è questa volta nel fuoco di Oc (F).

In fig. 14, da ogni punto dell'oggetto emergono raggi in tutte le direzioni; sono indicati quelli che riempiono la superficie utile della lente; ad ogni punto oggetto dunque corrisponde un fascio (divergente prima, parallelo poi) che interessa tutta la superficie della lente.

In fig. 21 invece si vedono le differenze causate dal fatto che l'oggetto per Oc è un'immagine reale, un'immagine intermedia, creata da un obbiettivo come in fig. 20. Il fascio emergente da B' (come da qualunque altro punto extra-assiale) è stretto ed occupa una minima porzione della superficie utile della lente Oc; non solo, ma tale fascio non è diretto verso il centro della lente come in fig. 14, ma verso la periferia. Nel formare l'immagine (finale) di ogni punto oggetto (o almeno di ogni punto non assiale dell'immagine intermedia), l'oculare opera quindi con fasci marginali, e vedremo che ciò favorisce l'insorgenza di aberrazioni come l'astigmatismo. Solo per il punto assiale dell'immagine intermedia (O') viene utilizzato un fascio centrato parassiale.

Ed ancora: ad ogni punto dell'immagine intermedia corrisponde un diverso fascio emergente da Oc , diretto verso P ; poiché tutti questi fasci si originano dal piano focale anteriore di Oc, ognuno di essi, emergendo da Oc, deve essere costituito da raggi paralleli. Ed infatti, in figura, è indicato il prolungamento all'indietro dei raggi provenienti da B' e rifratti da Oc, i quali concorrono a distanza infinita nell'immagine finale (virtuale) B".

Ma consideriamo ora, per ogni fascio parziale che concorre in ogni punto dell'immagine intermedia, il raggio centrale ("**raggio principale**"), cioè quello che passa per il centro dell'obbiettivo (non raffigurato in fig. 21) e per A' oppure B', O' ecc.

Tutti i raggi principali, corrispondenti a tutti i punti dell'immagine intermedia, emergono dal centro dell'obbiettivo e quindi giungono sull'oculare Oc leggermente divergenti fra loro; essi, secondo lo schema di fig. 11 (§ 2.6.2.2), debbono convergere in un punto poco al di là del secondo fuoco di Oc (F'); infatti l'obbiettivo dista sempre da Oc di una distanza molto maggiore del doppio della focale di Oc (f_{oc}). Con la differenza però che tutti i raggi principali emergono dal centro di Ob, cioè da un punto assiale e, dopo l'oculare, convergono in un punto assiale (P in fig. 21), poco al di là di F'. In P vi è dunque l'immagine reale, impiccolita e rovesciata di Ob. Ma Ob non è un punto, bensì un cerchio centrato sull'asse; quindi la sua immagine non può essere un punto, ma un dischetto. E infatti, come è indicato in fig. 21, in P convergono dei fasci cilindrici con sezione non nulla; essi, in un piano perpendicolare all'asse e passante per P , traversano tutti un dischetto (in pratica, di 1 - 4 mm di diametro), che è appunto l'immagine di Ob.

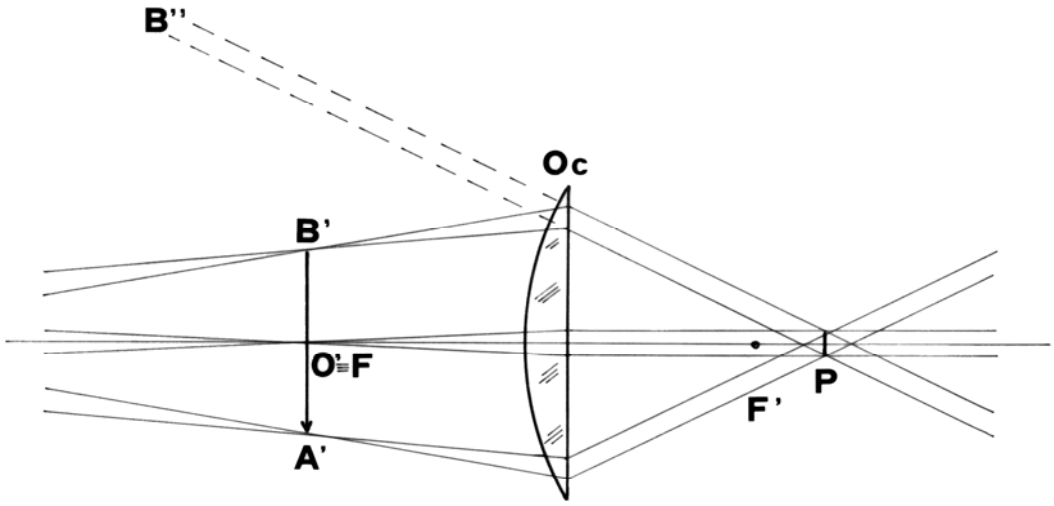


Fig. 21

Questo dischetto è chiamato "disco oculare" o "**disco di Biot**"[27] o "**di Ramsden**"[28] ed è visibile osservando (da qualche decimetro di distanza) l'oculare di un microscopio in funzione. Per il disco di Ramsden passano TUTTI i raggi emergenti dal microscopio, cioè tutti i raggi che formano l'immagine finale. In corrispondenza di esso va posta la pupilla dell'osservatore. Vedremo che esso costituisce la "pupilla d'uscita" dell'oculare e del microscopio (vedi il § 9).

Nella letteratura in lingua inglese, il disco di Ramsden è spesso chiamato "**eyepoint**" (che sarebbe a dire "punto dell'occhio", cioè "punto in cui va posta la pupilla dell'occhio").

A questo punto, dovrebbe risultare chiara la differenza essenziale fra lente d'ingrandimento ed oculare: la lente produce un'immagine ingrandita virtuale di un oggetto reale; l'oculare produce un'immagine virtuale di un'immagine reale, fornita a sua volta da un'altra lente, l'obbiettivo.

27 Jean-Baptiste BIOT (pron. Bió), fisico, matematico ed astronomo francese (1774-1862).

28 Jesse RAMSDEN, tecnico inglese, allievo di J. Dollond (1735-1800).

5 - I DIAFRAMMI

Si chiama diaframma un'apertura, un foro, in uno schermo opaco, il quale si trova in un piano perpendicolare all'asse di un sistema ottico.

Il foro in microscopia è generalmente circolare e centrato sull'asse; in fotografia, cinematografia, ecc. può essere rettangolare, poligonale, ecc., generalmente centrato. Se il diaframma è circolare e di diametro variabile, si parla di "diaframma ad iride" o semplicemente "**iride**" per somiglianza con l'iride dell'occhio umano. La variabilità del diametro dell'"iride" è ottenuta con l'incrocio di sottili lamelle arcuate d'acciaio. Il diaframma ha lo scopo di limitare le dimensioni trasversali del fascio di raggi che lo colpiscono.

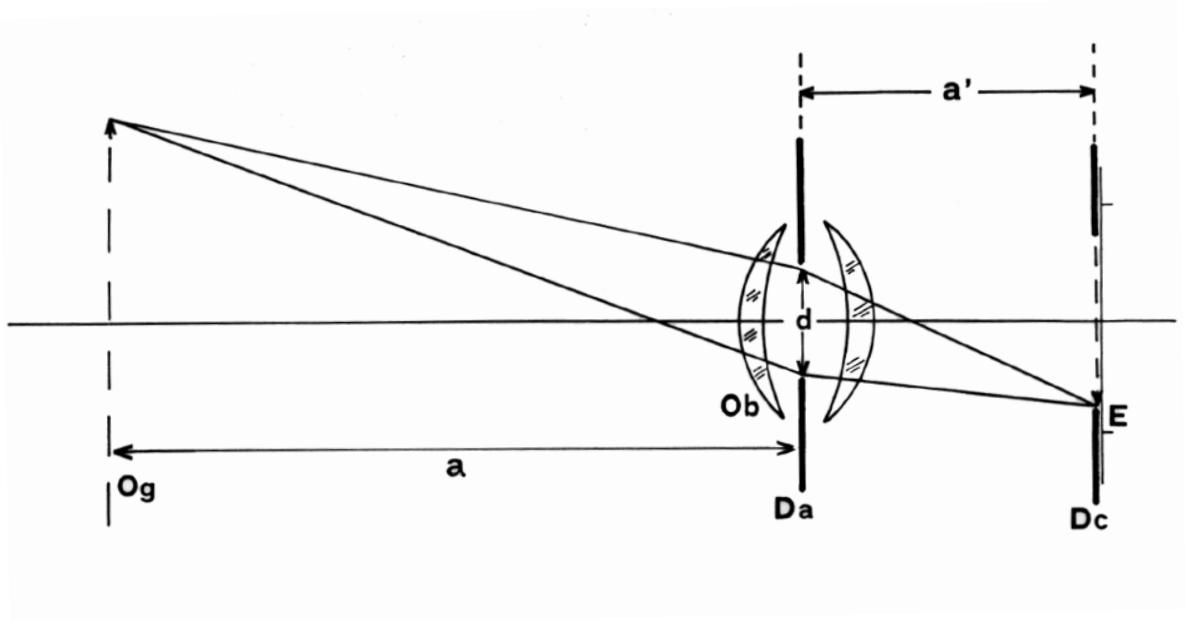


Fig. 22

Consideriamo un sistema ottico generico, come un obbiettivo fotografico, un obbiettivo di binocolo, ecc. (fig. 22). Supponiamo per ora che la lente sia sottile. Abbiamo così tre piani notevoli: il piano oggetto (Og), il piano immagine (E, dove si deve trovare l'emulsione nel caso di un sistema fotografico) ed il piano dell'obbiettivo Ob . Tutti questi piani, nel caso ideale che corrisponde agli strumenti normali, si possono supporre perpendicolari all'asse. I primi due, Og ed E, sono coniugati, nel senso che la loro posizione dipende dalle leggi illustrate nel § 2.6.2.2 (formule (10) o (11)).

5.1 - DIAFRAMMI DI CAMPO

Cominciamo con qualche distinzione.

Finora abbiamo sempre parlato di oggetti ed immagini come piani coniugati perpendicolari all'asse di un sistema ottico, senza mai preoccuparci delle loro dimensioni; ma essi non possono mai essere estesi senza limite: il limite può essere assai vario; per es. può essere dato dai confini della retina dell'occhio (la cosiddetta "ora serrata") nel caso di immagini virtuali, dai margini del formato fotografico per un'immagine reale, ecc.

Nel caso di una macchina fotografica, ad es. (fig. 22), davanti al piano dell'emulsione sensibile E, vi è sempre una lamina opaca che porta un foro rettangolare ("**finestrella**") corrispondente al formato fotografico previsto.

La finestrella così limita le dimensioni dell'immagine, cioè del piano immagine; essa dunque è un "diaframma di campo immagine" o semplicemente un "**diaframma di campo**" (Dc in figura). In genere, per limitare le dimensioni dell'immagine, si pone un simile diaframma nel piano immagine; ma si potrebbe anche limitare il campo oggetto ponendo in esso un corrispondente diaframma, tenuto conto dell'ingrandimento. Tranne rari casi, ciò non è praticabile, almeno quando l'oggetto è lontano. Per es. non sarebbe consigliabile limitare il campo oggetto con degli schermi quando si fotografa un paesaggio.

Il diaframma di campo non influisce sulle caratteristiche dell'immagine, ma solo sulle sue dimensioni; poiché molte aberrazioni ottiche (vedi il § 13) aumentano verso i margini del campo, il progetto di un sistema ottico cerca sempre di ridurre le aberrazioni fino ai margini del campo previsto, lasciando che esse peggiorino (spesso bruscamente) oltre quei margini. Quindi è importante conoscere le dimensioni del campo previsto dal costruttore, e non utilizzare il sistema oltre quelle dimensioni. Torneremo sul concetto di campo nel § 7.

Si vedano ora le figg. 20 o 21 che danno una visione schematica di un oculare; finora si è parlato dell'immagine intermedia, cioè dell'immagine reale fornita dall'obbiettivo Ob (A'B') senza precisarne le dimensioni. Ma, per quanto detto sopra, occorre limitare l'immagine intermedia ed offrire all'osservatore un'immagine limitata da un margine netto. Si ottiene questo ponendo un diaframma di campo nel piano dell'immagine intermedia (piano focale anteriore dell'oculare). La stessa cosa si fa nei binocoli, cannocchiali, telescopi. Questo diaframma si chiama "**diaframma di campo visivo**" (DV) dato che esso limita il campo visuale dell'oculare. DV si trova nel piano immagine dell'obbiettivo e quindi per l'obbiettivo esso funge da diaframma di campo immagine, ma si trova anche nel piano dell'immagine intermedia che è l'oggetto per l'oculare; quindi DV rappresenta anche un esempio di diaframma di campo oggetto (dal punto di vista dell'oculare).

Si tratta di un anello o una lamina forata (quasi sempre un foro circolare) dai bordi affilati (per evitare riflessi da parte dei raggi radenti) che si può trovare in tutti gli oculari. Può accadere che nel piano focale anteriore di un oculare si trovi una lente, con funzioni di lente di campo (vedi oltre); in questi casi il DV può essere invisibile poiché è sostituito nella sua funzione dalla montatura della lente. Comunque, il costruttore evita sempre di porre lenti o lamine nel piano dell'immagine intermedia o nei piani coniugati ad essa poiché ogni graffio o granello di polvere sulle superfici ottiche risulterebbe a fuoco e si vedrebbe nitidamente, sovrapposto all'immagine dell'oggetto.

In un certo senso, il DV limita la regione di oggetto che è vista attraverso l'oculare, cioè

il campo oggetto dell'obbiettivo; si può anche dire che a DV è coniugata la sua immagine reale creata dall'obbiettivo procedendo all'indietro; ovvero, l'obbiettivo crea un'immagine reale impiccolita di DV nel piano dell'oggetto. Sarebbe impossibile limitare il campo oggetto con un diaframma posto all'interno del "vetrino".

5.2 - APERTURA E DIAFRAMMI D'APERTURA

Esaminiamo il termine "apertura" nei suoi significati ottici:

5.2.1 - Superficie o diametro di un foro (normalmente circolare) in uno schermo opaco, genericamente definibile come "diaframma".

5.2.2 - Diametro di un fascio conico o cilindrico di raggi che traversa un diaframma (come sopra definito).

5.2.3 - Angolo di apertura di un cono, cioè l'angolo doppio della semi-apertura (α in fig. 23) che è l'angolo fra l'asse del cono ed una sua generatrice. Il concetto di apertura 2α o di **semi-apertura** α, si applica anche ad un cono di raggi divergenti o convergenti. Si parla anche di "**apertura angolare**".

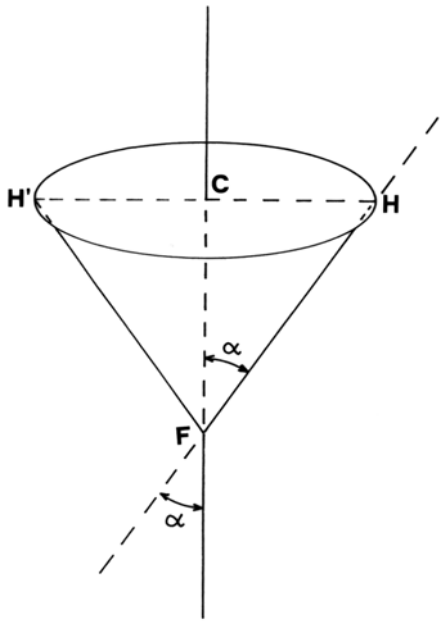


Fig. 23

5.2.4 - Apertura relativa

Sia HH' un diametro di una lente sottile (vedi le figg. 14 e 23) con centro in C; sia F il suo fuoco, nel quale possiamo immaginare una sorgente puntiforme; siano FH ed FH' i limiti del fascio utile accettato dalla lente. Sarà allora FC = f la focale della lente (o in genere la

sua coniugata, poco importa se lato oggetto o lato immagine poiché il concetto di apertura si applica da ambo i lati).

Ebbene, l'apertura "relativa" viene convenzionalmente indicata col rapporto :

$$\frac{FC}{HH'} = \frac{f}{d} \qquad (20)$$

essendo **d** il diametro utile della lente (vedi fig. 22).

Tale valore è simboleggiato nei testi americani o inglesi con $f_{\#}$ (o "f number" o "speed"), in italiano con F o **f** o "numero f", creando confusione col simbolo della focale. Il termine "speed", corrispondente all'italiano "rapidità" (evitare il termine di "luminosità di una lente" per non creare confusione con omonimi concetti fotometrici), si riferisce al fatto che, crescendo il diametro **d** della lente, cresce l'illuminazione sul piano immagine e, in fotografia, può diminuire il tempo di esposizione.

Si noti però che il numero $f_{\#}$ cresce col diminuire dell'apertura angolare (α, vedi sopra); quindi, per esprimere un "aumento di apertura", si usa spesso il valore inverso $1/f_{\#}$ (essendo $f_{\#}$ il rapporto f / d); quando poi, su un obbiettivo qualunque, si trova scritto ad es. f/5 , ciò significa che il suo diametro utile massimo è 1/5 della focale.

Da quanto detto, è chiaro che il concetto di apertura relativa è usato soprattutto per gli obbiettivi fotografici, per i quali l'apertura effettiva dipende dal diametro del "**diaframma d'apertura**" contenuto generalmente all'interno del sistema. Si tratta quasi sempre di un diaframma ad iride che permette di variare l'apertura fra un minimo ed un massimo. La (20) fa capire che un aumento di apertura corrisponde ad una diminuzione di $f_{\#}$, ma la scala dei valori di $f_{\#}$ usata normalmente non è lineare: poiché $f_{\#}$ è una funzione lineare del diametro **d** e la quantità di radiazione che traversa il diaframma è proporzionale alla sua superficie, cioè a $\mathbf{d}^2$, i valori normalizzati di $f_{\#}$ differiscono l'uno dall'altro di un fattore $\sqrt{2} = 1{,}41$ circa:

1,4 - 2 - 2,8 - 4 - 5,6 - 8 - 11 - 16 - 22, ecc.

Aumentando $f_{\#}$ di uno scatto (di "un diaframma") il tempo di esposizione dovrà raddoppiare (e viceversa se si diminuisce $f_{\#}$) se si desidera avere lo stesso annerimento sull'emulsione ("**legge di reciprocità**").

5.2.5 - Apertura numerica (NA = Numerical aperture, per i testi inglesi, ON = Ouverture numerique, per quelli francesi, A = Apertur, per quelli tedeschi).

È una funzione trigonometrica della semi-apertura angolare α :

$$NA = \text{sen } \alpha$$

Questa espressione è necessaria in microscopìa o in pochi altri casi (fibre ottiche, ecc.) a causa degli elevati valori di α . Anzi, poiché certi obbiettivi da microscopio, detti "ad immersione" (vedi il § 16) prevedono la presenza di un liquido fra l'oggetto e la prima lente di essi, occorre introdurre nella formula il fattore **n** (indice di rifrazione del liquido) come si spiegherà meglio più avanti:

$$NA = n \text{ sen } \alpha \qquad (21)$$

Per un obbiettivo normale, immerso in aria (obbiettivi "a secco"), si ha : $n = 1$ e $NA = \text{sen } \alpha$.

Si ricordi che la funzione sen α può assumere al massimo il valore 1 (per $\alpha = 90°$) per cui NA è al massimo pari ad 1 per gli obbiettivi a secco e pari ad **n** per quelli ad immersione.

Si può dimostrare che l'apertura numerica sta in rapporto semplice col numero $f_{\#}$:

$$NA = 1 / (2\ f_{\#}) \qquad (22)$$

Tale relazione è però valida solo per sistemi corretti in cui il piano principale è sferico e concentrico al fuoco.

Si può anche dimostrare che, dato un sistema convergente corretto che produce un'immagine reale (figg. 11, 12, 13 nel § 2.6.2) le aperture dai due lati del sistema stanno nel rapporto inverso delle coniugate, cioè nel rapporto inverso dell'ingrandimento M : se l'immagine è M volte più piccola dell'oggetto, ad es., l'apertura lato immagine è M volte maggiore di quella lato oggetto:

$$\frac{NA}{NA'} = M \qquad (23)$$

5.2.6 - Diaframma d'apertura

Torniamo ora alla fig. 22; il numero $f_{\#}$ di Ob sarà: a'/d.

Ciò che limita e definisce l'apertura di Ob è il diametro **d** del fascio utile che traversa la lente, il quale è determinato dalla montatura della lente (o dalla più piccola delle montature, se sono più di una) o da un diaframma apposito (Da), magari regolabile o "ad iride".

Poiché questo diaframma regola o limita l'apertura (comunque definita) dell'obbiettivo, esso si chiama "**diaframma d'apertura**".

Questo diaframma non limita mai il campo oggetto o immagine, ma ha molti altri effetti :

-- con esso si regola la quantità di radiazione che attraversa l'obbiettivo, quindi l'illuminazione sul piano-immagine; nel caso della fotografia, da ciò dipende il tempo di esposizione. Si è già detto che tale illuminazione è proporzionale (all'incirca) alla superficie del foro del diaframma Da , cioè al quadrato del suo diametro **d** , quindi al quadrato dell'inverso del numero $f_{\#}$. In questo modo, quando si vuole dimezzare il tempo d'esposizione, occorre aumentare **d** (cioè ridurre il numero $f_{\#}$) di $\sqrt{2}$;

-- si regola anche la "profondità di fuoco", che in prima approssimazione è proporzionale al quadrato del numero $f_{\#}$; torneremo sull'argomento al § 14 (formula (37));

-- si influisce anche sulle aberrazioni, cioè sulla "definizione" dell'immagine (vedi il § 13.2). In una lente semplice, l'aberrazione sferica trasversale è inversamente proporzionale al cubo del numero $f_{\#}$; la sferica longitudinale e la coma sono inversamente proporzionali al suo quadrato; la lunghezza delle focali astigmatiche ed il diametro della cromatica assiale sono inversamente proporzionali alla prima potenza del numero $f_{\#}$;

-- nel caso del condensatore del microscopio, si influisce anche sul contrasto (vedi i §§ 17.1.2 e 18.10);

-- si influisce sulla risoluzione legata a fenomeni di diffrazione (vedi il § 18.6).

5.2.7 - Disco di Ramsden

In un microscopio, come in qualunque strumento ottico, vi sono molti diaframmi d'apertura. Ogni sistema trasparente, per lo meno, è diaframmato dalla sua montatura meccanica, ed il diaframma non appare a prima vista.

Nell'oculare abbiamo già trovato un diaframma di campo visivo (DV); ma l'oculare, oltre ad un'immagine ingrandita dell'immagine intermedia, produce (vedi fig. 21, § 4.4) un'immagine impiccolita dell'obbiettivo; in questo caso, DV si comporta come diaframma d'apertura per l'oculare (vedi anche i §§ 5.1 e 9).

In quanto forma un'immagine ingrandita dell'oggetto e dell'immagine intermedia, l'oculare non ha apparentemente un diaframma d'apertura, ma esso esiste virtualmente in quanto si è detto che ogni raggio concorrente nell'immagine finale attraversa una "pupilla" (P in fig. 21) che è il "**disco di Ramsden**" citato nel § 4.4. Questo "disco" è il diaframma d'apertura dell'oculare rispetto l'immagine dell'oggetto.

5.2.8 - Diaframma dell'obbiettivo

In qualunque obbiettivo vi è sempre per lo meno un diaframma d'apertura costituito dalla più piccola delle montature delle lenti; a volte un vero e proprio diaframma sotto forma di lamina forata. Nell'obbiettivo da microscopio si tratta comunque di diaframmi fissi; solo per applicazioni particolari (campo scuro) vi può essere negli obbiettivi più forti un diaframma ad iride regolabile dall'esterno con apposito anello; ciò allo scopo di ridurre l'apertura numerica (§ 19.2.6).

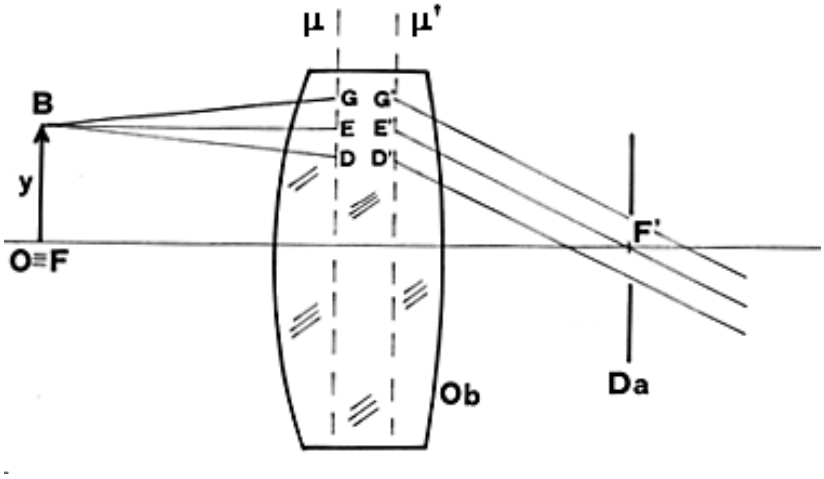


Fig. 24

A questo punto è bene accennare alla posizione che il diaframma d'apertura di un obbiettivo da microscopio può assumere.

In genere, il costruttore dispone tale diaframma in modo da minimizzare le aberrazioni; e tale influenza può essere molto forte. Ma consideriamo due casi particolari:

◊◊ il diaframma d'apertura è disposto a ridosso della lente (se è sottile) o al centro del sistema (se questo è più o meno simmetrico) come in fig. 22. Ciò avviene spesso negli obbiettivi fotografici. Se un sistema ottico è simmetrico rispetto ad un piano perpendicolare all'asse ed il diaframma si trova in questo piano di simmetria, risultano annullate alcune aberrazioni come la coma e la distorsione;

◊◊ il diaframma è posto nel piano focale immagine (il piano focale oggetto nel microscopio è inaccessibile poiché vi si trova il "vetrino"). Vediamo più da vicino questo caso.

Consideriamo il caso di un obbiettivo "a coniugata infinita", per semplicità, ma la situazione è simile a quella della "coniugata finita" (vedi la fig. 24). L'oggetto OB si trova nel primo piano focale dell'obbiettivo Ob di cui **μ** e **μ'** sono i piani principali. Il diaframma Da

si trova nel secondo piano focale, ed è circolare e centrato.

Consideriamo un punto oggetto extra-assiale B , ma il discorso sarebbe identico per ogni altro punto oggetto. Il raggio BE, parallelo all'asse, emerge passando per il fuoco immagine (F'). Il raggio B - E - E' - F' sarà il raggio principale, cioè il raggio centrale del fascio utile che traversa il sistema. I raggi BG e BD , come tutti i raggi emergenti da B , poiché provengono da un punto del piano oggetto, possono emergere dalla lente solo come fascio parallelo. Il diametro di tale fascio è ovviamente limitato da **Da.** Questa situazione è quindi ben diversa da quella di fig. 22 o di fig. 13 (§ 2.6.2.4). Essa è chiamata "**sistema telecentrico"** ed offre vari vantaggi pratici fra cui questo: se l'oggetto viene sfuocato, la sua immagine non cambia dimensioni e questo è prezioso quando si debbono eseguire misure lineari sull'oggetto, nei comparatori, ecc. Inoltre, se l'oggetto ha un certo spessore (supponiamo di osservare un oggetto a forma di cilindro centrato), i punti sui lati dell'oggetto disposti più avanti o più indietro lungo una retta parallela all'asse possono apparire sfocati ma non spostati lateralmente.

Per convincersi di questo basta pensare che, se il punto B (fig. 24) si sposta avanti o indietro lungo la retta BE , il raggio principale E'F' non si sposta e così rimane fissa l'immagine di B. Ciò porta ad una maggiore nitidezza nei bordi degli oggetti fuori asse, come farebbe un aumento di profondità di fuoco.

Vedremo in seguito gli altri diaframmi nel sistema illuminante del microscopio.

Si ricordi che i diaframmi posti lungo un sistema ottico rappresentano degli oggetti di cui le lenti ai rispettivi lati creano delle immagini. Vedremo, nel microscopio, alcuni esempi di immagini coniugate con diaframmi.

5.2.9 – Apertometri (vedi anche il § 31.2.2)

Limitiamoci alla microscopia. Il solo caso che ci interessa veramente è l'apertura dell'obbiettivo e del condensatore.

Per misurare l'apertura dell'obbiettivo si pone davanti ad esso una graduazione incisa sulla superficie piana (**apertometro** di Beck) o cilindrica (apertometro di Abbe, 1870) di un blocco di vetro. Se la distanza fra graduazione ed obbiettivo è di alcune volte la focale dell'obbiettivo e se la graduazione è uniformemente illuminata, presso il piano focale superiore dell'obbiettivo si ha un'immagine impiccolita e rovesciata della graduazione, o almeno di quella parte di essa che corrisponde all'angolo di apertura dell'obbiettivo. Si ha così una lettura diretta del valore di apertura.

Nel caso di un condensatore si può anche fare a meno dell'apertometro: si illumina il condensatore dal basso con una forte lampada a fascio concentrato (può bastare la microlampada); sopra il condensatore si pone un pezzo di carta verticale in modo che l'asse ottico giaccia in esso; su esso si disegnerà il profilo del fascio che emerge dal condensatore. Misurando il diametro del fascio ad una data altezza e con semplici calcoli trigonometrici si ricava $\text{sen}\,\alpha$.

In pratica, queste misure sono raramente necessarie poiché i costruttori moderni dichiarano sempre l'apertura dei loro sistemi ottici. Semmai, una misura diretta è utile per ottenere un valore reale, che può differire da quello nominale.

6 - LE PUPILLE

In una figura come la 22 è rappresentato un sistema ottico dotato di diaframmi, fra cui quello d'apertura (Da) di diametro **d** . Finché si parla di lenti sottili, il piano di Da può coincidere colla lente sottile. Ma se il sistema è "spesso", di spessore non trascurabile, il diaframma o si trova da un lato del sistema o all'interno di esso, ma comunque da uno o da entrambi i lati di Da si trovano una o più lenti spesse i cui piani principali difficilmente possono coincidere col diaframma stesso.

Osservando il Da dal piano oggetto o dal piano immagine non si vede dunque il Da ma la sua immagine (di solito virtuale) data dalle lenti che stanno fra il piano oggetto (o immagine) ed il diaframma stesso.

Ebbene, la "**pupilla d'ingresso**" di un sistema ottico semplice o complesso è il suo diaframma d'apertura visto da un punto qualunque del piano oggetto, oppure l'immagine di tale diaframma formata dalle lenti che stanno fra piano oggetto e diaframma stesso.

Allo stesso modo si definisce la "**pupilla d'uscita**" o "di **egresso**" dal lato immagine.

Quando si disegna uno schema ottico, il "raggio principale" (vedi il § 4.4) di ogni fascio passa per il centro delle pupille che esso attraversa nel suo corso. Poiché in un sistema centrato su un unico asse anche le pupille sono centrate, il punto in cui un raggio principale incontra l'asse è anche il centro di qualche pupilla.

Nel calcolo dell'apertura relativa (formula (20)) o numerica (formula (21)) occorre allora tenere conto di diametri o angoli non relativi al diaframma reale o fisico, ma alla pupilla. E naturalmente il concetto ed il calcolo delle aperture può essere applicato dal lato oggetto o dal lato immagine, basandosi sulle pupille corrispondenti.

6.1 - LA VIGNETTATURA

Si osservi la fig. 25 : è raffigurato un sistema convergente composto di due sottosistemi L_1 ed L_2 e di un diaframma d'apertura **Da**. A sinistra, si suppone un oggetto molto piccolo posto sull'asse ottico e si rappresenta il fascio che, limitato in diametro dal solo diaframma **Da** , attraversa il sistema convergendo nell'immagine **I**. Il diaframma **Da** svolge la sua funzione di limitare l'apertura del sistema.

A destra invece si rappresenta un fascio obliquo proveniente da un punto oggetto extra-assiale, cioè dai margini del campo oggetto.

Può accadere nei sistemi reali ciò che è schematizzato in figura: il fascio utile che il diaframma potrebbe accettare viene limitato da un lato o dall'altro (o da entrambi) dalla montatura delle lenti: tali montature si comportano quindi come altrettanti diaframmi che possono non avere effetto per i fasci poco inclinati (a piccolo campo), ma possono limitare variamente il fascio utile se si considerano punti dell'oggetto molto distanti dall'asse, cioè grandi campi.

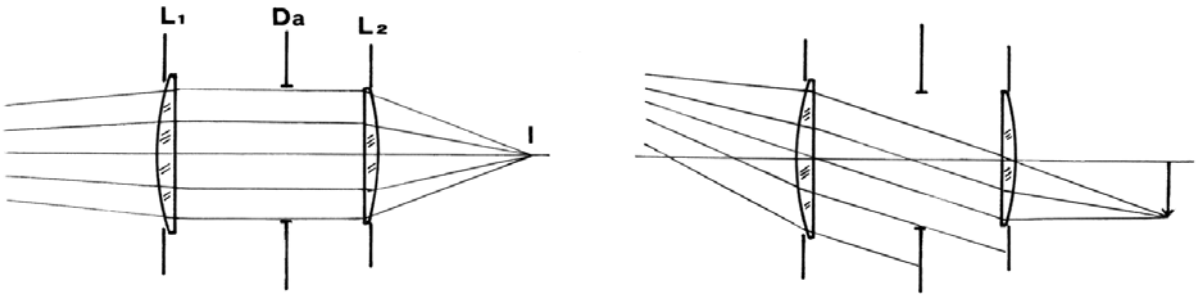


Fig. 25

Questa limitazione (asimmetrica) dell'apertura di un sistema ad opera di qualche montatura meccanica per i fasci inclinati si chiama "**vignettatura"**.

Se il diaframma **Da** è ad iride, come avviene spesso negli obbiettivi fotografici, la vignettatura può non verificarsi quando il diaframma d'apertura è molto chiuso (poiché il fascio utile è più stretto) ma presentarsi a diaframma aperto. In genere, negli obbiettivi fotografici viene tollerato un certo grado di vignettatura con diaframma tutto aperto e per i margini del formato fotografico; ciò allo scopo di ridurre le dimensioni e quindi il costo ed il peso del sistema.

Le conseguenze della vignettatura sono varie (a carico delle aberrazioni, ecc.) ma è ovvio che essa produce una perdita di luminosità dell'immagine ai bordi di essa per via della riduzione dell'apertura utile.

Nel microscopio, le vignettature vengono accuratamente evitate per le gravi conseguenze che esse avrebbero sulla risoluzione, sempre a causa della perdita di apertura (vedi il § 18.6), ma non si possono mai escludere.

7 - I CAMPI

Così come alle pupille è sotteso un angolo che è l'apertura (angolare o altrimenti espressa), così al diaframma di campo oggetto o immagine è sotteso un angolo che è l'"**angolo di campo**" o "**campo angolare"**.

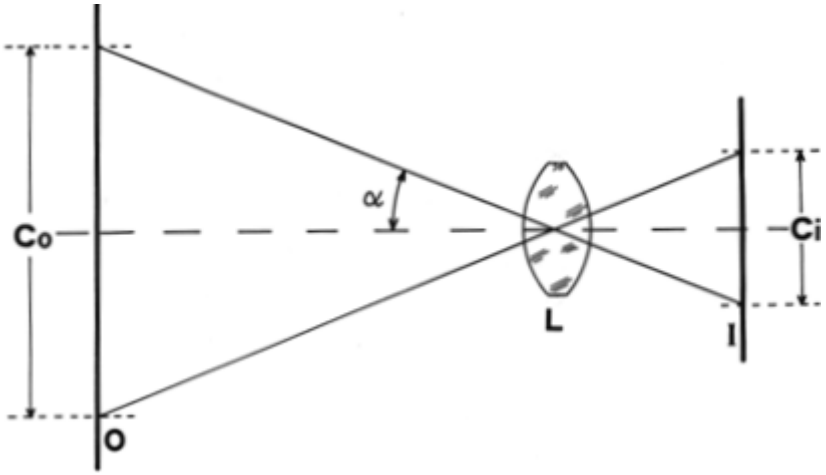


Fig. 26

In fig. 26 è schematizzato un sistema convergente L , ed è indicato il piano oggetto O e quello immagine I . In O o in I (poco importa in quale dei due, trattandosi di piani coniugati) esiste un diaframma di campo che delimita la porzione utile del piano oggetto o del piano immagine. Tale porzione si può così definire "**campo oggetto**" (Co) o "**campo immagine**" lineare (Ci). Poiché i due piani sono coniugati e quindi l'uno è l'immagine dell'altro, è chiaro che fra i diametri dei due campi esiste un rapporto pari all'ingrandimento M definito dalle formule (13), (14) e (15) nel § 2.6.2.2.

È anche chiaro che finora abbiamo parlato delle **dimensioni lineari** trasversali del campo: il diametro (campo circolare) oppure il lato (quadrato) o i due lati (rettangolo) o la diagonale. Si può anche chiamare "campo" la **superficie** del diaframma di campo, ma questo lo si fa raramente; per es., certi binocoli di basso ingrandimento (e di basso valore) vengono offerti come producenti, ad es., "un campo 16 volte maggiore di quello che vedreste ad occhio nudo". Quel numero è un rapporto di superfici, per cui l'ingrandimento normalmente inteso (quello visuale) è in realtà la radice quadrata di esso, in questo caso 4!

In un obbiettivo da microscopio, come si è detto, il campo immagine è limitato dal diaframma di campo visivo DV, il cui diametro si può indicare come **indice di campo**: s' = 2 r, in cui **r** è il raggio, come detto sotto; applicando la (12)(§ 2.6.2.2), si deduce che il campo oggetto dell'obbiettivo avrà un diametro

$$s = s' / M_{ob}$$

Questa formula consente di calcolare rapidamente il diametro del campo oggetto effettivamente visibile nel microscopio partendo dall'ingrandimento dell'obbiettivo, sempre noto, e dall'indice di campo s', di solito dichiarato e misurabile (vedi sotto)[29].

Sia **r** il raggio del diaframma di campo visivo di un oculare con focale **f**, sia α' l'angolo

[29] Nel caso degli oculari negativi (vedi sotto), l'indice di campo non coincide col diametro del diaframma DV; occorre fare una misura indiretta con un reticolo ed un obbiettivo di ingrandimento noto.

sotteso fra l'asse e l'orlo del diaframma stesso, dalla (24)(poco avanti) si ha:

$$r = tg\ \alpha' f$$

ed

$$s' = 2\ r = 2\ tg\ \alpha' f$$

per cui

$$s = \frac{2\ tg\alpha'\ f}{M_{ob}}$$ (in cui **f** è la focale dell'oculare) ;

dalla (58)(§ 18.1.2) si ha:

$$f = 250 / V_{ok}$$

in cui V_{ok} è l'ingrandimento visuale dell'oculare ; dunque:

$$s = \frac{2\ tg\ \alpha' \cdot 250}{V_{ok} \cdot M_{ob}}$$

per la (31)(§ 12.7.1) si ha :

$$V_{ok} \cdot Mob = V_M$$

(trascurando il fattore di tubo F_t) in cui V_M è l'ingrandimento visuale totale del microscopio; si conclude che :

$$s = \frac{500\ tg\alpha'}{V_M}$$

7.1 – CAMPO ANGOLARE ed INDICE di CAMPO

Come si è detto, il campo sottende anche un angolo (α in fig. 26), per cui si può parlare di "**campo angolare**"; in genere si intende con ciò il "**semi-campo**"; come campo intero si avrà allora $2\ \alpha$. L'angolo α è tracciato fra l'asse ottico ed i margini estremi del campo.

Quando il campo è rettangolare, come in fotografia, si assume come "**campo lineare**" (Ci in fig. 26) la diagonale del formato. Per es., in un formato "Leica" (24 × 36 mm) la diagonale è circa 43 mm, e la semi-diagonale circa 21,5 mm; se la focale dell'obbiettivo (la coniugata immagine se l'oggetto è lontano) è per es. 50 mm, il rapporto 21,5 / 50 ci dà la tangente di α ; nel nostro esempio, $tg\ \alpha = 0{,}43$ ed $\alpha = 23{,}3$ ° circa.

Normalmente in fotografia si indica come "campo" o "**angolo di campo**" di un obbiettivo il valore 2α, nel nostro esempio 46,6° circa.

L'indicazione del campo con un angolo è necessaria quando si ha a che fare con immagini virtuali, per es. negli oculari, e non ha senso misurare le dimensioni lineari dell'immagine. Per es. in fig. 19 (§ 4.1) il semi-campo angolare α è l'angolo (indicato con α' in figura) fra l'asse e la retta B' - C (o B' - D) supposto che B' sia un punto sul margine dell'immagine.

Per calcolare α' in un caso come quello di fig. 19 (oculare o lente d'ingrandimento), si immagini un diaframma circolare DV centrato sull'asse, posto nel piano di OB; basta pensare che:

$$\text{tg } \alpha' = \frac{CD}{CF'}$$

Supponiamo ora che OB rappresenti il massimo raggio dell'immagine intermedia, cioè del diaframma di campo visivo DV ; nel costruire la figura si è posto BD parallelo all'asse, quindi OB = CD = **r** , essendo **r** il raggio del diaframma DV. Inoltre CF' = f = focale dell'oculare; ne risulta:

$$\text{tg } \alpha' = \frac{r}{f} \qquad (24)$$

da cui si ricava il semicampo angolare dell'oculare α (vedi la nota [30]).

Per conoscere **f** , in pratica, è meglio ricavarla dalla (19) (§ 4.3) poiché V è sempre dichiarato dal costruttore. Ed **r** come si misura o si calcola?

Abbiamo detto che **r** è il raggio del diaframma di campo visuale DV. Supponiamo che DV sia visibile guardando da sotto l'oculare (se vi è davanti una lente di campo, si ricade nel caso degli oculari negativi; vedi sotto). Se ne può misurare il diametro con un calibro. Ma i migliori costruttori dichiarano tale diametro incidendolo sulla montatura dell'oculare, dopo il valore dell'ingrandimento; per es. 10 × (18) o 10/18 indica: ingrandimento visuale V = 10 × e diametro di DV : s' = 18 mm.

Ebbene, il diametro di DV espresso in mm si indica negli oculari positivi come "**indice di campo**"[31] (**s'**) ; in fondo, **s'** è il campo oggetto lineare dell'oculare ed s' = 2 r.

Conosciuti così **r** ed **f**, con la (24) si calcola α', che è utile per valutare l'ampiezza del campo angolare dell'oculare.

Si ricordi che gli oculari "normali" hanno un campo angolare 2α fino a circa 40° ; per valori superiori di 2α si parla di "**oculari grandangolari**" (vedi anche il § 20.1). Ad es., un oculare 16 × (15) ha una focale:

$$f = \frac{250}{V} = \frac{250}{16} = 15{,}6 \text{ mm};$$

$$r = \frac{s'}{2} = \frac{15}{2} = 7{,}5 \text{ mm};$$

e così :

$$\text{tg } \alpha' = \frac{r}{f} = \frac{7{,}5}{15{,}6} = 0{,}48 \; ; \; \alpha' = 25{,}7° \; ; \; 2\,\alpha' = 51{,}4°$$

Quest'oculare è "grandangolare".

Così, tenendo conto della (24) e della (19) (§ 4.3),

$$V_{ok} = 250 / f_{ok}$$

che si può riscrivere come

$$1/f_{ok} = V_{ok} / 250;$$

si può anche ricavare:

$$\text{tg } \alpha' = r / f = s' / 2\,f = \frac{s' \cdot V_{ok}}{500} \quad \text{(naturalmente, } r = s' / 2 \text{)} .$$

V_{ok} è generalmente noto; **s'** è espresso in millimetri.

---

[30] Di solito, si indica α invece di α', il che sarebbe più corretto, riferendosi all'immagine.

[31] L'indice di campo è espresso da molti autori inglesi con l'acronimo FN (field number).

7.2 – OCULARI NEGATIVI

Quando l'ingrandimento V di un oculare è inferiore ad 8 e l'indice di campo **s'** non superiore a 18, il campo angolare 2 α scende sotto il valore di 32° e ciò non è gradevole (si vede "la luna nel pozzo"). Per aumentare il campo angolare degli oculari deboli si ricorre allora alla cosiddetta "**lente di campo**", cioè ad una lente convergente posta sotto il diaframma di campo visivo DV. Ciò comporta che il primo piano focale dell'oculare si trova in mezzo alle lenti di esso invece che sotto, e quindi non si può usare un simile oculare come lente d'ingrandimento, a meno di rovesciarlo (il secondo fuoco è sempre esterno).

Gli oculari così costruiti si chiamano **negativi**; da molto tempo essi sono considerati unità inscindibili, nel senso che ogni oculare è solidale con una specifica lente di campo; per alcuni secoli però vi furono microscopi contenenti una lente di campo fissa nel tubo, valida per tutti gli oculari, e si sostituiva solo la parte superiore dell'oculare.

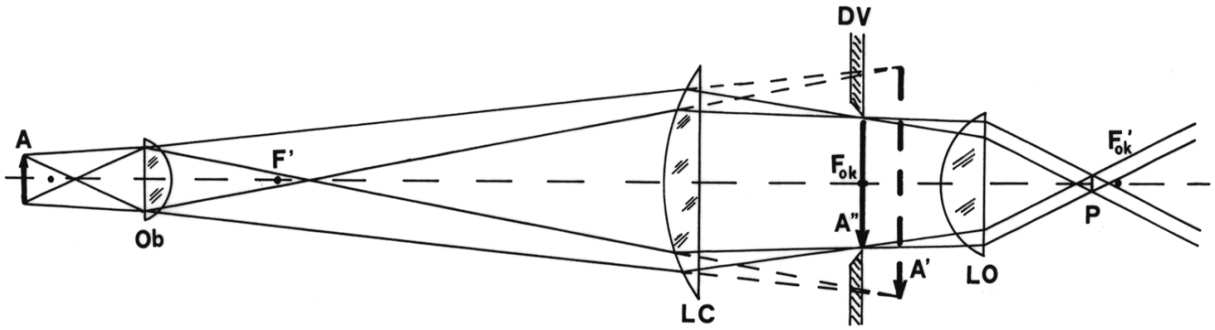


Fig. 27

Ecco il loro funzionamento (fig. 27): come al solito, Ob è l'obbiettivo (a coniugata finita), A è l'oggetto; LC è la lente di campo, LO la lente superiore dell'oculare ("**lente oculare**"). Come si è detto, LC ed LO fanno parte dell'oculare negativo globalmente inteso.

Ebbene, se non vi fosse LC, l'obbiettivo produrrebbe una normale immagine intermedia (A') rovesciata, reale ed ingrandita rispetto ad A, e sul piano di A' dovrebbe trovarsi il diaframma di campo visivo DV ed il primo fuoco di LO. Ma prima dell'immagine intermedia si trova la lente convergente LC ; ogni fascio convergente che concorrerebbe in ogni punto come A' (sono disegnati i fasci estremi dell'immagine intermedia) diventa più convergente come effetto della potenza positiva della LC; in tal modo il suo punto di convergenza si abbassa fino al piano di una nuova immagine intermedia (A"). Naturalmente, nel piano di questa nuova immagine intermedia deve trovarsi il DV nonché il primo fuoco di LO (F_{ok}).

Oltre a questo abbassamento dell'immagine intermedia, si ha un altro effetto della lente di campo LC: l'immagine intermedia diviene più piccola in quanto i singoli fasci parziali divengono meno divergenti fra loro o addirittura convergenti; questa riduzione dell'ingrandimento V aiuta nel progetto degli oculari deboli.

Ma l'effetto più importante di LC è questo: se i singoli fasci che concorrono nei vari punti dell'immagine intermedia divengono meno divergenti fra loro o addirittura convergenti, è chiaro che, attraversando la lente oculare LO , essi divengono più convergenti di quanto non

sarebbero in assenza di LC . Ciò significa che aumenta il campo angolare 2 α dell'oculare e questo era lo scopo da raggiungere. Per convincersi dell'utilità della LC , basta osservare un preparato qualunque con un obbiettivo qualunque ed un oculare negativo. Poi si smonta la LC dell'oculare e si osserva di nuovo: si vedrà un angolo visuale più piccolo e l'ingrandimento risulterà maggiore. Inoltre occorrerà ritoccare la messa a fuoco per compensare lo spostamento assiale dell'immagine intermedia.

Ancora, la LC porta un'altra conseguenza: se i fasci emergenti dalla LO divengono più convergenti fra loro, il loro punto d'incontro ("**disco di Ramsden**", vedi il § 4.4) si abbassa. Infatti gli oculari negativi hanno in genere la "**pupilla bassa**"; ciò è dannoso poiché obbliga l'occhio a stare più vicino all'oculare.

Ma in compenso la presenza di LC può aiutare a ridurre le aberrazioni cromatiche dell'oculare (vedi il § 20.4.1) in quanto essa agisce in un certo senso in opposizione alla LO ed i loro effetti possono compensarsi, almeno sotto questo aspetto.

Si può fare un confronto fra la fig. 27 e la 21 (§ 4.4); in quest'ultima è mostrato un oculare normale ("**positivo**") senza lente di campo, cioè col primo fuoco esterno al sistema di lenti. Si vede che il disco di Ramsden (P) si trova oltre il secondo fuoco nell'oculare positivo di fig. 21, ma prima del secondo fuoco di LO nell'oculare negativo di fig. 27. Si noti anche che l'oculare positivo, anche se molto complesso, si può ricondurre ad una lente semplice, mentre quello negativo è sempre costituito da almeno due lenti con diversa funzione. Inoltre, se la LC ha il massimo diametro consentito dalle dimensioni interne del tubo, essa può ancora sfruttare un'immagine intermedia di dimensioni maggiori, poiché riduce le dimensioni effettive dell'immagine intermedia in virtù di quanto detto sopra.

Infine, quando si definisce l'indice di campo **s'** di un oculare negativo si indica in realtà non il diametro del suo diaframma di campo visivo DV, ma il diametro che l'immagine intermedia avrebbe senza LC, cioè il diametro dell'immagine intermedia effettivamente utilizzata.

8 - L'ILLUMINAZIONE DELL'OGGETTO

Si chiama "**sistema formatore d'immagine**" del microscopio quella parte dello strumento che abbiamo esaminato finora, che porta all'immagine "finale" (§ 4.4) dell'oggetto, e che è costituita nelle parti essenziali da obbiettivo ed oculare, più eventuali parti intermedie ("lenti di tubo", variatori d'ingrandimento, prismi, separatori, ecc.).

Queste parti si trovano alle estremità (obbiettivo ed oculare) o all'interno di una struttura chiusa o "**tubo**" in cui non deve penetrare né luce esterna né polvere.

Su questa parte del microscopio, una volta scelti i sistemi di lenti più opportuni, sono poche le operazioni da compiere: essenzialmente la messa a fuoco, cioè la variazione della distanza fra obbiettivo ed oggetto, o poche altre che riguardano casi particolari.

Invece, prima dell'oggetto, esiste un "**sistema illuminante**" che, nella sua forma più completa, è complicato e richiede di continuo svariate regolazioni. In queste regolazioni è facile commettere errori, i quali impediscono al sistema formatore d'immagine di fornire i migliori risultati: la qualità d'immagine (risoluzione, contrasto, ecc.) peggiora rapidamente al minimo errore.

Le prestazioni fondamentali del sistema illuminante sono tre :

A - Fornire un'illuminazione ragionevolmente uniforme del campo oggetto, comunque grande esso sia. Quel "ragionevolmente" diventa più stringente nel caso della fotografia, specie con pellicole "dure" ed a colori.

B - Il fascio di radiazione che incide sull'oggetto deve avere un'apertura simile a quella del più forte obbiettivo che si prevede di usare. Tale apertura deve potersi ridurre quando si usano gli obbiettivi più deboli.

C - La porzione di oggetto che viene illuminata ("**campo illuminato**") deve sempre essere uguale o di poco superiore al campo oggetto dell'obbiettivo in uso.

La condizione A si spiega da sé. È ovvio che tutto dipende dalla destinazione dell'immagine finale: per una stampa tipografica occorrerà essere assai più intransigenti che per l'osservazione visuale, dove l'occhio si adatta molto bene.

La condizione B è esigita in base a criteri di contrasto e di risoluzione, come si vedrà nel § 18.6, e la si realizza in modo diverso a seconda dello schema del sistema illuminante, come spiegato nel seguito del presente capitolo.

La condizione C ha lo scopo di non illuminare le regioni dell'oggetto che non rientrano nell'immagine finale, sia per non irradiare inutilmente l'oggetto (ridurre la decolorazione dei coloranti organici, non danneggiare oggetti viventi, ecc.) sia per ridurre la "luce diffusa" e non diminuire il contrasto (vedi il § 17.1.1). Quest'ultima esigenza si rivela però non essenziale quando si ha a che fare con oggetti sottili ben colorati e poco diffondenti (sezioni istologiche, strisci, ecc.).

8.1 – DIASCOPÌA E FONDO CHIARO

Nella fig. 20 (§ 4.4), dove si schematizza il sistema formatore d'immagine, tutto parte dall'oggetto come se esso stesso fosse una sorgente di radiazione. Ciò avviene solo in rari casi, come quando si osservano oggetti fluorescenti. Negli altri casi occorre illuminare

l'oggetto o da sopra, quando è opaco ("**episcopìa**") o da sotto quando è trasparente ("**diascopìa**")[32]. Per ora ci occupiamo del caso più generale della diascopia, in cui si prevede una sorgente di radiazione prima dell'oggetto, cioè a sinistra di AB nella fig. 20. Il sistema illuminante con tutti i suoi componenti (sorgenti, lenti, diaframmi, ecc.) si suppone centrato sullo stesso asse dell'obbiettivo (ancorchè ripiegato ad opera di qualche specchio).

Se le tre condizioni citate sono soddisfatte, in assenza di oggetto e guardando nell'oculare si deve vedere un campo (cioè un fondo immagine) uniformemente luminoso. Se vi è un oggetto a fuoco più o meno opaco o comunque in grado di alterare lo stato della radiazione che penetra nell'obbiettivo, si avrà su questo fondo luminoso un'immagine più o meno contrastata dell'oggetto. Si esegue così un'osservazione in "**fondo chiaro**"; allo stesso modo, quando si osserva una diapositiva rivolgendola verso una finestra, si esegue un'osservazione in diascopia in fondo chiaro.

Vedremo che, sia in episcopìa che in diascopìa, è possibile illuminare l'oggetto con raggi obliqui che non penetrano nell'obbiettivo per cui il fondo dell'immagine appare scuro e l'oggetto appare chiaro in virtù della radiazione che esso diffonde e che l'obbiettivo raccoglie ("**fondo nero**" o "**campo scuro**").

8.2 - LE SORGENTI

Senza descrivere le caratteristiche tecniche delle sorgenti interessanti per la microscopia, cosa che faremo nel § 22, chiamiamo per ora "**sorgente**" il sistema in grado di produrre un fascio di radiazione con caratteristiche adatte a formare il "fondo chiaro" dell'immagine finale.

Quando un sistema convergente (vedremo trattarsi del "condensatore") produce nel piano oggetto del microscopio un'immagine di tale sorgente, spesso questa "sorgente" non è un corpo luminoso in senso stretto, ma una lente o un diaframma illuminati dal corpo luminoso stesso (vedi il § 22).

Dal punto di vista geometrico possiamo avere tre tipi di corpi luminosi :

◊◊ ESTESI (il cielo, una parete illuminata, il bulbo di una lampadina elettrica che sia stato smerigliato o reso diffondente con altri mezzi (lampade "**opale**" o "color latte"). Le sorgenti come il cielo o le nuvole, cioè quelle naturali, hanno lo svantaggio di essere incostanti quanto ad intensità e composizione spettrale, ma in compenso sono sempre disponibili "sul campo", in assenza di quelle artificiali. Raramente è possibile usare la radiazione diretta del sole senza particolari accorgimenti, sia per la sua forte intensità, sia per la sua scarsa estensione angolare. Ma di ciò riparleremo.

◊◊ ESTESI ma NON OMOGENEI: è il caso delle lampadine elettriche "a tensione di rete" (di solito 220 V) in cui il filamento incandescente è lungo 1 - 3 cm, di forma arcuata o a zig-zag, ma sempre sottile rispetto alla lunghezza.

◊◊ CONCENTRATI: è il caso delle lampade "ad arco" o di quelle ad incandescenza a bassa tensione, in cui il filamento è corto e raccolto, nel senso che è avvolto in elica serrata con poche spire in modo da formare come una griglia quadrata o rettangolare di pochi mm di lato.

Si può trarre vantaggio da tutti i tipi di corpi luminosi, con opportuni schemi di sistema illuminante, di cui vedremo gli esempi fondamentali nei paragrafi seguenti.

---

[32] Invece di "diascopia" si dice spesso "**luce trasmessa**" o "**illuminazione per trasparenza**".

8.3 - IL PRINCIPIO DEL CONDENSATORE

Si chiama condensatore (una volta si chiamava "concentratore") un sistema convergente semplice o complesso, posto sotto il "tavolino" (donde il nome inglese di "**sub-stage condenser**") cioè sotto il piano oggetto, e centrato sull'asse del microscopio. Se ne parlerà in dettaglio nel § 21.

Il condensatore è la parte essenziale del sistema illuminante. Esso ha focale corta (1 - 5 cm), forte apertura dalla parte dell'oggetto, cioè nel fascio che emerge dal condensatore verso l'alto, pupilla d'ingresso ampia (20 - 33 mm in genere) posta spesso subito sotto le lenti. In genere tale pupilla si trova nel primo piano focale del condensatore poiché qui si trova di solito un diaframma ad iride col quale si regola l'apertura del condensatore stesso. Tale diaframma è chiamato appunto "diaframma d'apertura del condensatore" o, più brevemente, "**diaframma d'apertura**". Trovandosi il diaframma nel piano focale di un sistema convergente, esso rientra nel caso "telecentrico" (§ 5.2.8).

In linea di massima, il condensatore serve a proiettare sul piano oggetto (l'oggetto dell'obbiettivo) un'immagine impiccolita reale di una sorgente posta a distanza molto maggiore della sua focale. Esso funziona quindi sul principio della fig. 11 (§ 2.6.2.2). E si ricordi (§ 5.2.5) che, se l'immagine è più piccola dell'oggetto, l'apertura lato immagine è corrispondentemente maggiore. Notiamo che l'oggetto del condensatore è la sorgente; l'immagine della sorgente si deve trovare molto vicina o coincidere coll'oggetto del microscopio. Quindi, quando vogliamo indicare l'oggetto del condensatore, al fine di evitare confusione, diremo "sorgente"; invece "oggetto" indicherà l'oggetto da osservare, cioè l'oggetto dell'obbiettivo o del microscopio nel suo complesso.

Dunque il condensatore illumina un campo-oggetto piccolo rispetto alla sorgente, e del resto l'oggetto del microscopio è generalmente piccolo; però lo illumina con un fascio di apertura molto maggiore del fascio che esso riceve dalla sorgente. In fig. 11, OB potrebbe indicare la sorgente (o una parte di essa); O'B' è l'immagine della sorgente proiettata sul piano dell'oggetto.

8.4 - ILLUMINAZIONE DIFFUSA SEMPLICE

In fig. 28 è schematizzato un obbiettivo da microscopio con l'oggetto O; è indicata con 2α l'apertura angolare dell'obbiettivo; il fascio illuminante (I) deve avere un'apertura vicina a 2α per obbedire alla condizione B indicata nel § 8.

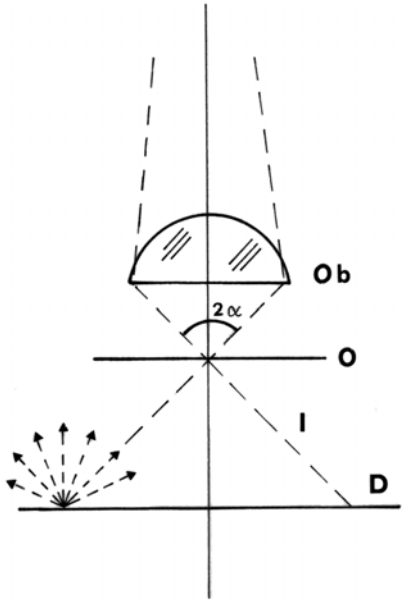


Fig. 28

D è una sorgente estesa (un vetro smerigliato, ad es.), che emette in tutte le direzioni o almeno in un angolo solido abbastanza elevato, con brillanza abbastanza uniforme. Con questa disposizione si può obbedire alla condizione A , ma non alla C; infatti non vi è nulla che limiti il campo oggetto illuminato.

La resa fotometrica sarà in genere bassa poiché buona parte della radiazione emessa dalla sorgente D, essendo diffusa, andrà perduta cadendo fuori del fascio I.

Nella condizione B è previsto anche che l'apertura del fascio illuminante I si possa ridurre; cominciamo col dire che i limiti del fascio I indicati in figura sono i limiti del fascio effettivamente utilizzato dall'obbiettivo, ma la sorgente D, come premesso, irradia in maniera diffusa e quindi con un fascio assai più aperto. Se ora si pone, a qualche millimetro o centimetro sotto l'oggetto, un diaframma ad iride o una serie di diaframmi fissi intercambiabili, si può in qualche modo regolare l'apertura del fascio I.

Ebbene, come è realizzata D , la sorgente ? Si può usare una lampadina elettrica col bulbo smerigliato o, meglio ancora, "color latte" o "opale" posta immediatamente sotto al tavolino. Per ridurre l'effetto del calore prodotto dalla lampada, si può allontanare quest'ultima, a 10 - 20 cm dal microscopio, ma occorrerà ovviamente che sotto al tavolino vi sia uno specchio orientabile, la cui funzione è ovvia (vedi anche il § 22.1). Si badi che lo specchio funziona da diaframma nel senso che esso limita l'apertura del fascio che dalla sorgente giunge all'oggetto. D'altra parte lo specchio di cui sono muniti molti strumenti è piano da un lato e concavo dall'altro. Il lato concavo ha un potere convergente per cui si aumenta la convergenza del fascio che la sorgente invia in direzione dell'oggetto. È questo uno dei rari casi in cui si adopera lo specchio concavo (§ 22.1.4).

Se non si dispone di lampadina elettrica, si può usare il cielo come sorgente, naturalmente con lo specchio, possibilmente concavo. Si ricordi che l'apertura numerica di uno specchio concavo del tipo usuale non supera 0,3 e quindi è adatta solo ad obbiettivi deboli.

Questa soluzione è usata con strumenti molto semplici, in quanto non richiede condensatore. Può dare buoni risultati con obbiettivi deboli ed una lampadina opportuna.

In linea di principio si può regolare anche il campo illuminato con un diaframma centrato posto subito sotto l'oggetto. Una volta si usavano i "diaframmi a cilindro" (cilindretti intercambiabili con un foro di vario diametro) o i "diaframmi a cupola" (diaframmi ad iride

con lamine incurvate verso l'alto); attualmente, nei microscopi giocattolo, vi è un disco girevole con una corona di fori di vario diametro. Ma tali diaframmi non possono ovviamente trovarsi nel piano stesso dell'oggetto; per cui la loro efficacia è modesta.

Se non si vuol esser legati ad una lampadina con bulbo diffondente, si può realizzare la sorgente estesa e diffusa (D in fig. 28) con un filtro smerigliato od opale posto 1 - 3 cm sotto il tavolino; si può così usare una lampadina normale a bulbo trasparente. Molti "illuminatori" economici per microscopio sono costituiti appunto da un involucro fissato al piede dello strumento, contenente una normale lampadina a filamento esteso, a tensione di rete, potenza 15 - 30 W. Verso l'alto, vi è una finestra di 20 - 30 mm di diametro, chiusa da un vetro smerigliato.

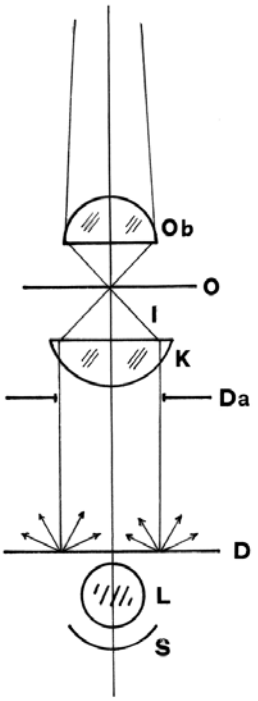


Fig. 29

8.5 - ILLUMINAZIONE DIFFUSA CON CONDENSATORE

Rispetto allo schema della fig. 28, c'è in più un condensatore (K in fig. 29).

Rimane la perdita fotometrica sopra citata, poiché la sorgente D è ancora diffondente e quindi molto del suo flusso va disperso. D può essere ancora (e sarà in genere) un filtro smerigliato con sotto una lampadina elettrica qualunque (L), magari con uno specchio sferico ancora più sotto (S) per rimandare verso l'alto una parte del flusso che altrimenti andrebbe disperso.

Il condensatore K , in linea di massima, può aumentare il flusso che attraversa l'oggetto O in quanto "concentra" il flusso prodotto da D; non è possibile stendere uno schema preciso di ottica geometrica poiché il corpo luminoso (il filamento incandescente) è esteso ed irregolare e c'è di mezzo un diffusore (D). Al massimo, si può dire che il condensatore K produce un'immagine di D vicino all'oggetto O, ma ciò non deve essere rigoroso poiché D

ha una struttura discontinua (la "grana" del vetro smerigliato) e le sue irregolarità non devono trovarsi focalizzate sul piano oggetto.

Il condensatore può portare un diaframma d'apertura (Da) nel suo primo fuoco e questo permette di controllare l'apertura del fascio illuminante I (condizione B citata nel § 8). L'omogeneità del campo illuminato dipenderà dall'efficienza del diffusore D (condizione A).

Un'ulteriore aggiunta può essere quella di una lente convergente di forte potenza, posta subito sotto il diffusore D e che possiamo chiamare "**collettore**". La sua funzione è ancora una volta indefinibile, poiché il diffusore D impedisce la formazione di qualunque immagine. Certamente il collettore concentra su D una parte del flusso del corpo luminoso L ed aumenta la resa fotometrica del sistema. Altri illuminatori economici sono appunto costituiti da una lampadina a filamento esteso, a tensione di rete (eventualmente con specchio sferico sotto), un filtro smerigliato ed una lente convergente fra esso e la lampadina.

Infine è possibile porre presso D un diaframma ad iride, naturalmente centrato, che limita le dimensioni della sorgente (quella che fa da oggetto per il condensatore K). A questo punto si può parlare di formazione di immagine: se la posizione e la potenza di K sono ben scelte, K produce un'immagine del diaframma nel piano dell'oggetto O . Il condensatore svolge quindi appieno la sua funzione, descritta a suo tempo (§ 8.3); se il diaframma è regolabile, è ovvio che varierà anche il diametro della sua immagine formatasi in O , e, poiché tale immagine (reale) può coincidere esattamente col piano oggetto (basta regolare l'altezza di K), si può variare con precisione il campo illuminato (condizione C citata nel § 8). Il diaframma posto presso D si può quindi chiamare "**diaframma di campo illuminato**". Ovviamente, esso va distinto, e svolge una funzione assai diversa, rispetto al diaframma di apertura già citato.

Fra illuminatore e microscopio vi può essere il solito specchio per evitare che l'illuminatore debba essere concentrato in uno spazio ristretto, fra tavolino e piede dello strumento. Ma qui si tratterà sempre di uno specchio piano.

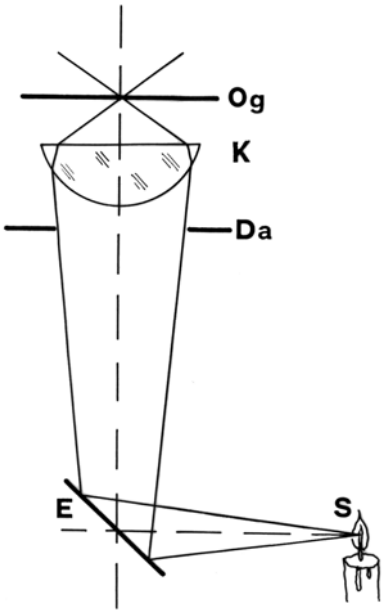


Fig. 30

8.6 – ILLUMINAZIONE CRITICA (Brewster[33], 1832)

Qui abbandoniamo il campo delle sorgenti estese e diffondenti per dedicarci a sorgenti concentrate di forte brillanza.

Vediamo la fig. 30. I simboli Og (oggetto), K (condensatore), Da (diaframma d'apertura) sono noti; E è lo specchio (piano); S il corpo luminoso.

Il principio è semplice: il condensatore K dà un'immagine reale impiccolita di S in Og ; l'apertura del fascio che converge in Og si regola con Da. Ma i problemi sono molti: se il campo oggetto deve essere illuminato uniformemente, anche la brillanza della sorgente deve essere uniforme; ciò era all'incirca realizzato nelle sorgenti a fiamma (a petrolio con stoppino a nastro od a gas, in uso un secolo fa), ma non certo nelle lampade elettriche ad incandescenza attuali.

Inoltre, per avere un campo illuminato di qualche mm di diametro (obbiettivi deboli), occorrono sorgenti di grandi dimensioni, che non esistono nel mercato corrente. Questo schema è quindi valido, e con qualche limitazione, ma solo per forti ingrandimenti.

Non è poi possibile regolare il campo illuminato, poiché non si può porre un diaframma ad iride in S; si può solo cambiare ogni volta il condensatore o la sua focale.

La resa fotometrica è poi modesta, poiché il fascio utile che da S entra in Da è sempre stretto.

Questo schema è stato quindi abbandonato a favore del seguente.

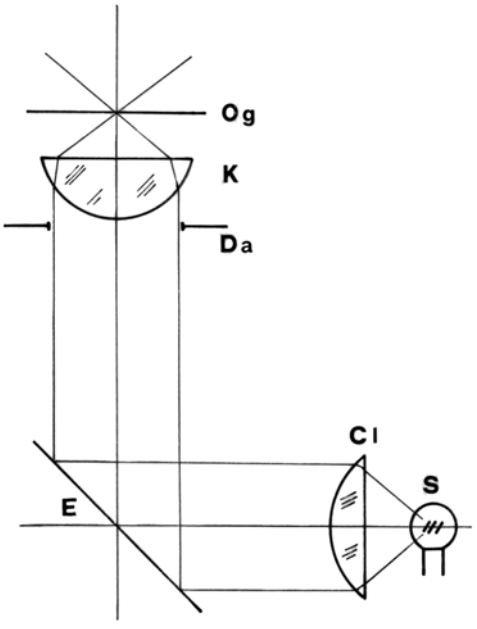


Fig. 31

[33] Sir David BREWSTER (pron. Brùuste), fisico inglese (1781-1868). L'attribuzione è data talvolta anche ad Edward Nelson, pure inglese.

8.7 - ILLUMINAZIONE CRITICA con COLLETTORE (sec. Abbe[34])

Rispetto al caso precedente, si aggiunge un sistema convergente a forte apertura, che possiamo ancora chiamare "**collettore**" (Cl), presso il corpo luminoso S (fig. 31).

Questa volta S si trova nel primo fuoco di Cl che ne produce un'immagine a distanza infinita. Il condensatore K riceve (per ogni punto di S) un fascio parallelo che viene reso convergente nel secondo fuoco di K; qui si trova l'oggetto Og, che viene quindi illuminato da un'immagine reale di S ; le dimensioni di tale immagine, cioè l'ingrandimento del sistema Cl + K, dipendono solo dal rapporto delle due focali (di Cl e di K); ma in genere l'immagine sarà simile ad S , quindi molto piccola; questa soluzione è ancora adatta ai forti ingrandimenti. Anche in questo caso il corpo luminoso S deve avere una brillanza uniforme, a meno di usare il solito vetro smerigliato. Ed anche qui non è possibile variare le dimensioni del campo illuminato.

C'è però un vantaggio: il collettore Cl accetta un angolo solido di radiazione da parte della sorgente S assai più ampio che nel caso precedente; non è difficile fare qualche calcolo in base alle dimensioni essenziali del sistema, ma un'idea intuitiva si può avere dal confronto fra la fig. 30 e la 31. Per questa maggiore resa fotometrica, questo schema trova ancora qualche applicazione ai forti ingrandimenti.

8.8 – ILLUMINAZIONE SECONDO i PRINCÌPI di A. KÖHLER (1893)[35]

Lo sviluppo delle sorgenti a filamento incandescente, con struttura non omogenea, e le esigenze fotometriche della fotografia portarono allo sviluppo, presso gli stabilimenti ZEISS, di questo sistema illuminante, che risponde alle tre condizioni descritte inizialmente (§ 8). Occorre parlarne diffusamente poiché esso costituisce la base della maggioranza dei sistemi illuminanti per microscopio, per proiettori, ecc.

Nella fig. 32 è disegnato lo schema generale di un microscopio con "**illuminatore di Köhler**" e la esamineremo in dettaglio, anche per riassumere quanto detto più indietro. Nella figura, per semplicità, non è indicato lo specchio o gli specchi che normalmente si trovano fra collettore e condensatore; per lo stesso motivo è rappresentato un obbiettivo a coniugata finita, ma ciò non cambia molto poiché un tale obbiettivo svolge la stessa funzione di un obbiettivo a coniugata infinita + lente di tubo (§ 3.2.3). I simboli della fig. 32 dovrebbero essere già tutti noti. Con grosse frecce sono indicati l'oggetto (O) o le sue immagini coniugate; con linea punteggiata sono indicati il corpo luminoso Q e le sue immagini coniugate.

I sistemi di lenti (rappresentati come lenti semplici) sono : Cl = collettore; Ko =

[34] Ernst ABBE, fisico tedesco (1840-1905), primo collaboratore scientifico di C. ZEISS, comproprietario degli stabilimenti Zeiss di Jena, grande innovatore in campo tecnico e sociale. L'ottica moderna gli deve molto.

[35] August KÖHLER (pron. Kööler), fisico tedesco (1866-1948), collaboratore degli stabilimenti Zeiss di Jena.

condensatore; Ob = obbiettivo; LC = lente di campo (l'oculare è negativo); LO = lente oculare. I diaframmi sono: Dc = diaframma di campo illuminato; Da = diaframma d'apertura; PU = diaframma o pupilla d'uscita dell'obbiettivo (posta in genere presso il secondo fuoco di Ob); DV = diaframma di campo visivo; P = pupilla d'uscita dell'oculare o del microscopio (disco di Ramsden, vedi il § 4.4). R è la rètina dell'occhio dell'osservatore.

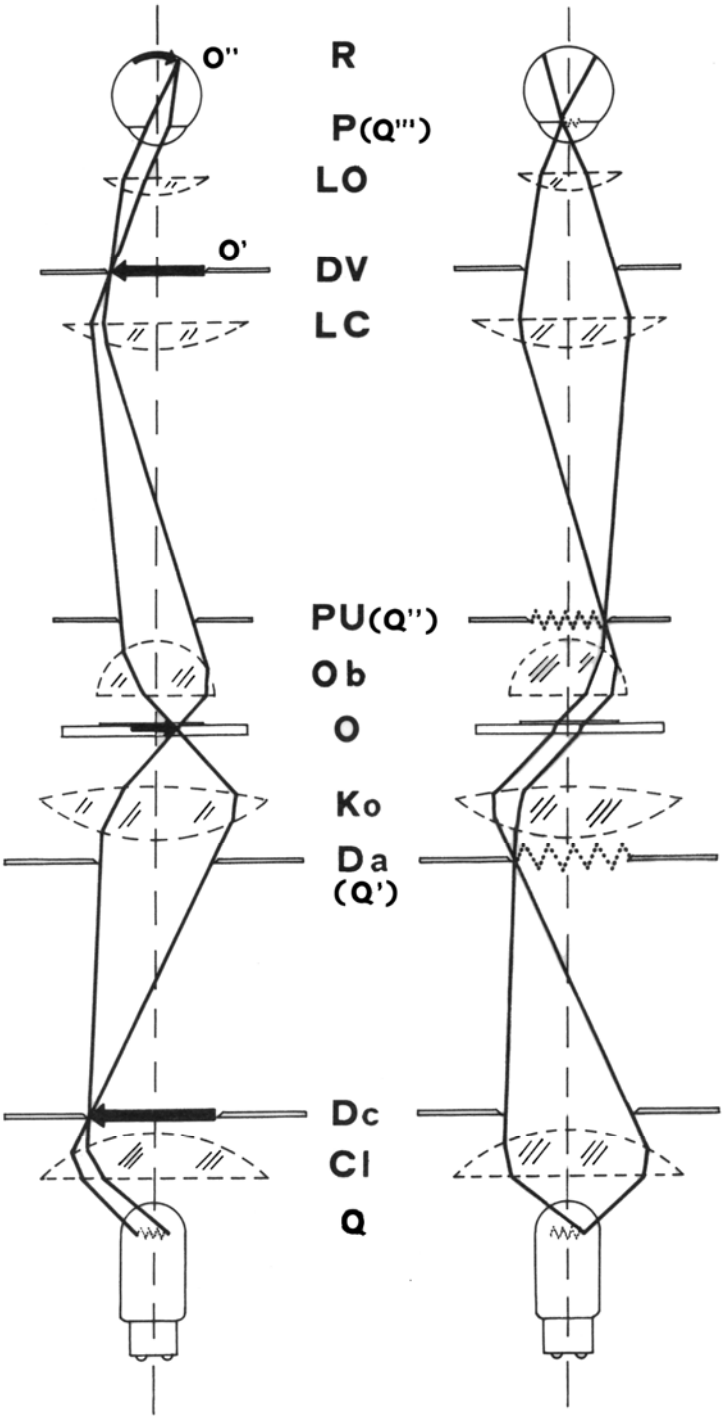


Fig. 32

Nella metà sinistra sono messi in evidenza i piani coniugati dell'oggetto O (indicando un solo fascio che concorre in un solo punto marginale di esso), mentre a destra sono indicati i

piani coniugati di Q . Fra O ed R si trova il sistema formatore d'immagine; fra O e Q il sistema illuminante. Siamo ovviamente in un caso di diascopia in fondo chiaro.

Cominciamo da sinistra.

L'obbiettivo forma un'immagine di O in DV ; si può dire che O è coniugato con DV. In DV si trova quindi una prima immagine (ingrandita, reale, rovesciata) di O, che è l'immagine intermedia. In DV vi è anche il diaframma di campo visivo, il tutto nel piano focale oggetto di LO (cioè dell'oculare). LO dà di DV e dell'immagine intermedia un'immagine virtuale all'infinito. I mezzi rifrangenti dell'occhio danno dell'immagine intermedia un'immagine reale in R (rovesciata rispetto l'immagine intermedia stessa).

Ora, il condensatore Ko produce un'immagine reale impiccolita di Dc in O, oppure un'immagine ingrandita di O in Dc; comunque O e Dc sono coniugati. Se la posizione di Ko è corretta, nel piano di O si vede a fuoco l'immagine (impiccolita) di Dc. In pratica, guardando nell'oculare, si vede l'immagine virtuale di O (cioè dell'immagine intermedia), si vede un'altra immagine virtuale di DV ed infine un'immagine di Dc; o almeno si vedranno gli orli di Dc chiudendo opportunamente questo diaframma. Dunque di Dc si hanno le seguenti immagini:

1) reale impiccolita in O;
2) reale ingrandita in DV (O');
3) virtuale dopo LO;
4) reale impiccolita in R (O").

Vi sono quindi quattro piani coniugati reali ed uno virtuale rispetto ad O od a Dc[36]. Con DV si limita il campo visuale e quindi il campo dell'immagine intermedia ed il campo oggetto. Con Dc si regola il campo illuminato. Si noti che Dc , per il collettore Cl , si comporta come un diaframma d'apertura, mentre per il condensatore Ko esso rappresenta un diaframma di campo (oggetto).

Può accadere che le condizioni meccaniche dello strumento pongano Dc molto lontano da Ko per cui il campo illuminato in O divenga troppo piccolo per gli obbiettivi deboli. In tal caso, uno dei rimedi è porre sotto Da una debole lente convergente ("**lente a grande campo**"); essa funziona dal punto di vista di Ko come una lente d'ingrandimento, nel senso che rinvia al condensatore stesso un'immagine virtuale ingrandita di Cl; tale lente può essere fissa oppure estraibile, nel caso che si usino obbiettivi forti.

Per ottenere campi illuminati grandi si può ricorrere ad altri espedienti, come vedremo nel § 21.1.

Vediamo ora il lato destro della fig. 32.

[36] Si tenga presente questa serie di piani coniugati perché, quando nell'immagine appare un grano di polvere od altra macchia scura sovrapposta all'oggetto, significa che un corpo estraneo si trova sul vetrino o sul collettore o sull'eventuale reticolo presente nell'oculare; più sfumato appare un corpo estraneo sulla lente oculare o altrove. Sempre per ridurre le superfici coniugate con l'oggetto e con l'immagine finale, è bene che il diaframma di campo sia piuttosto lontano dal collettore, proprio perché eventuali corpi estranei su di questo non risultino a fuoco assieme all'oggetto.

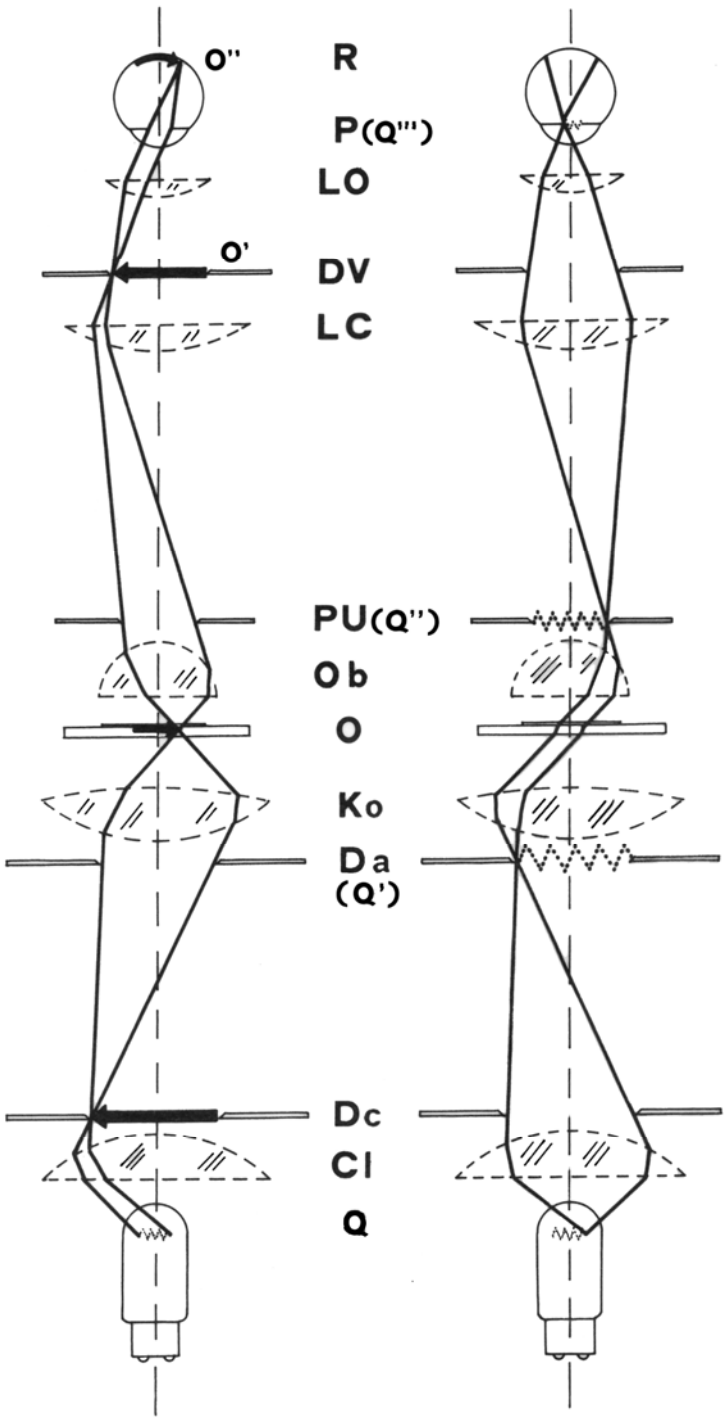


Fig. 32

Partiamo dal corpo luminoso Q (per es. il filamento concentrato di una lampadina elettrica a bassa tensione). Nei suoi confronti, il collettore Cl , che è sempre un sistema convergente a forte apertura e corta focale, si comporta come fa l'obbiettivo nei confronti dell'oggetto, e cioè ne crea un'immagine ingrandita reale Q' (schema di fig. 13); la distanza fra Q e Cl deve essere regolabile, una specie di messa a fuoco, in modo che l'immagine di Q si formi nel piano di Da . L'illuminatore (Q + Cl + Dc) può essere fisso nel piede dello strumento e quindi precentrato da parte del costruttore, oppure esterno ("**micro-lampada**"), collegato più o meno rigidamente al piede. In questo caso la microlampada sarà in genere

montata con supporto snodato e andrà orientata con cura verso lo specchio che sta sotto al condensatore. A sua volta lo specchio andrà orientato in modo che l'immagine di Q formata dal collettore cada esattamente in centro a Da (istruzioni più dettagliate al paragrafo seguente).

Da quanto detto a suo tempo, risulta che l'apertura massima di Da consente al condensatore di fornire un fascio illuminante a livello di O con apertura simile a quella degli obbiettivi forti. Semmai, chiudendo Da , si riduce l'apertura del fascio per adattarla a quella degli obbiettivi deboli. Ma ne consegue allora che l'apertura massima di Da deve essere tutta occupata dall'immagine di Q . Ciò comporta un delicato equilibrio fra dimensioni di Da e di Q ed ingrandimento di Cl (legato alla sua focale ed alle sue coniugate); bisogna prestare grande attenzione a ciò perché capita spesso, anche in strumenti di grande pregio, di vedere un'immagine di Q assai più piccola della massima apertura di Da ; questo corrisponde ad una chiusura di Da medesimo, cioè ad una perdita di apertura del condensatore, con le conseguenze che vedremo.

In certe "**microlampade di Köhler**" si trova un vetro smerigliato fra Q e Cl, oppure una superficie smerigliata nella prima lente di Cl; questo impedisce la formazione di un'immagine nitida di Q , ma ovviamente rende più omogeneo il campo illuminato. La perdita fotometrica del vetro smerigliato è in questo caso molto piccola, poiché Cl accetta un fascio di forte apertura e buona parte della radiazione diffusa dallo smerigliato viene recuperata.

Ma proseguiamo colla parte destra della fig. 32 .

È indicato un fascio parziale che emerge da un punto estremo di Q e traversa un punto estremo di Q'; sappiamo che Da e Q' si trovano nel piano focale di Ko ; quindi il fascio che emerge da un punto qualunque di Q', per es. un punto sull'orlo di Da, e che è divergente, diviene parallelo dopo aver traversato Ko ; ogni punto di Q' produce un simile fascio parallelo; ma se consideriamo i raggi principali di tali fasci paralleli, essi sono variamente inclinati; infatti essi arrivano a Ko leggermente divergenti fra loro e quindi Ko li fa convergere poco oltre il suo secondo fuoco, cioè nel piano di O, dove si trova l'immagine di Dc. Possiamo dire che l'oggetto è traversato da tanti fasci singolarmente paralleli, ma che nel complesso formano un fascio conico a forte apertura. Tale apertura ovviamente si riduce chiudendo Da.

Si può anche dire che Ko coniuga Q' all'infinito, ovvero ne fornisce un'immagine virtuale all'infinito (Q' è nel primo fuoco di Ko).

Ebbene, i singoli fasci paralleli, corrispondenti ai singoli punti di Q', comunque inclinati sull'asse, traversano l'oggetto e poi incidono su Ob che, essendo convergente, li fa convergere uno per uno nel proprio piano focale superiore (PU). Qui si forma allora una seconda immagine reale di Q (Q"); si può dire che Q" è coniugata di Q' e quindi di Q. Q" si trova nel secondo piano focale di Ob e di solito qui si trova il diaframma o la pupilla d'uscita dell'obbiettivo, poiché spesso gli obbiettivi sono quasi telecentrici (§ 5.2.8), ma questa non è una condizione universale. Inoltre Q' giace nel piano di Da; ne consegue che nel piano di PU non si trova solo la Q" ma anche un'immagine rovesciata di Da ; PU è quindi coniugato di Q come di Da.

Guardando dentro il tubo del microscopio, dopo tolto l'oculare, si vede infatti la PU sotto forma di un dischetto illuminato e qui si può riconoscere un'immagine un po' annebbiata del filamento della lampadina (Q) nonché l'orlo di Da; per convincersene, basta manovrare Da e si vedrà il dischetto illuminato che varia di diametro. Si può anche infilare la punta di una matita sotto Da e si vedrà la sua immagine rovesciata in PU .

Sopra PU vi è l'oculare (l'eventuale lente di campo o la lente di tubo non hanno effetto da questo punto di vista) il quale, oltre a produrre l'immagine finale dell'oggetto, come già detto, produce un'immagine impiccolita reale di PU : è il "**disco di Ramsden**", a suo tempo citato, indicato con P in fig. 32 . Si è anche detto che P si trova poco più su del secondo fuoco

dell'oculare (negli oculari positivi) o poco più giù (nei negativi, spesso). Ora possiamo aggiungere che in P , oltre alla prima immagine reale di PU , vi è una seconda immagine reale di Da : manovrando Da si vedrà il disco di Ramsden che varia di diametro; vi è anche una terza immagine reale di Q (Q'''). L'immagine del filamento è però difficilmente visibile in questa sede perché troppo piccola ed affetta da troppe aberrazioni. In P andrà posta la pupilla dell'occhio, altrimenti quest'ultima "diaframma" l'immagine finale, cioè riduce il campo visuale (come dovrebbe essere evidente dalla fig. 33).

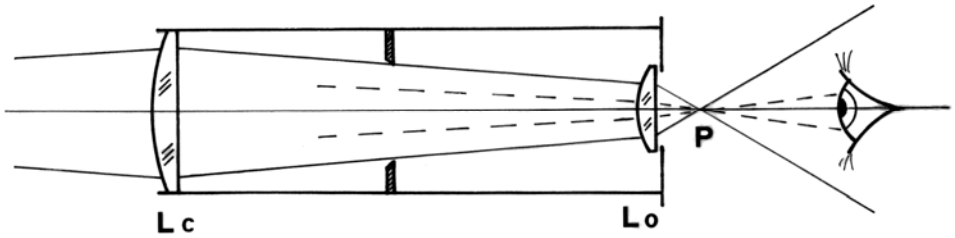


Fig. 33

Abbiamo dunque anche qui quattro immagini reali ed un'immagine virtuale coniugate:

1) Q un po' prima del fuoco di Cl;

2) Q' (in Da = piano focale e pupilla d'ingresso di Ko);

3) Q" in PU, con l'immagine reale di Da, nel piano focale superiore dell'obbiettivo, coincidente spesso con la sua pupilla d'uscita;

4) Q"' in P, assieme alla seconda immagine di Da ed alla prima immagine di PU, il tutto entro la pupilla dell'occhio.

L'immagine virtuale di Q si trova all'infinito (fra Ko ed Ob il fascio è parallelo per ogni punto di Q').

8.9 – ALLINEAMENTO dell' ILLUMINAZIONE sec. A. KÖHLER

Da quanto detto dovrebbe essere chiaro quali sono le operazioni necessarie per l'allineamento del sistema illuminante. Ma vogliamo qui riassumerle, chiarendo subito che le prime operazioni sono superflue quando l'illuminatore è alloggiato nel piede del microscopio o comunque saldamente fissato ad esso.

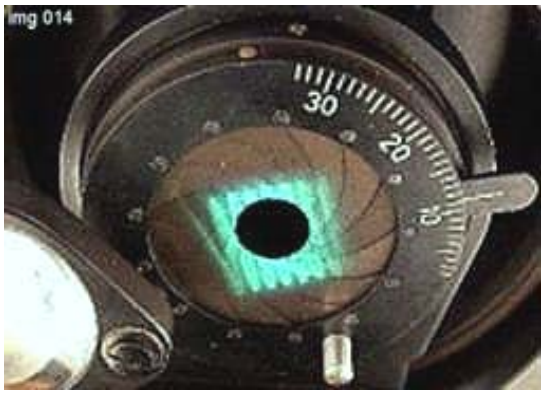
1) Centratura del filamento. Questo è superfluo quando il costruttore fornisce ampolle "precentrate" cioè saldamente fissate ad uno zoccolo da esso aggiunto (§§ 22.7 e 22.8); tale zoccolo è meccanicamente concepito in modo da inserirsi con minima tolleranza in un porta-zoccolo predisposto allo scopo. Gli zoccoli delle lampadine normali presentano dei giochi rispetto al porta-lampada, che sono eccessivi per l'uso in microscopia. Nel precentrare l'ampolla, il costruttore la fissa stabilmente allo zoccolo aggiuntivo in modo da neutralizzare le imprecisioni inevitabili nella posizione reciproca del filamento rispetto allo zoccolo originale.

Se l'ampolla non è precentrata occorre centrarla rispetto all'asse del collettore. Le modalità di questa operazione si debbono dedurre dal § 22.8 oppure dal manuale d'istruzione

dello strumento; infatti le differenze meccaniche da uno stativo all'altro non consentono di dare regole generali.

2) Focalizzazione del filamento. Si deve poter variare la distanza fra corpo luminoso Q e collettore. Anche questa operazione può essere impossibile ed inutile se l'ampolla è precentrata. Quando la focalizzazione è possibile, spostando assialmente l'ampolla o il collettore (anche qui le particolarità meccaniche sono svariatissime), si deve vedere l'immagine del filamento la più nitida possibile nel piano di Da. Se nel collettore vi è una superficie smerigliata, non si vedrà un'immagine nitida e si cercherà la massima illuminazione. Si veda comunque il § 22.7.

3) Se la microlampada (ampolla + collettore + Dc, ecc.) è montata su supporto snodato, occorre orientarla in modo che l'immagine del filamento cada al centro di Da o al centro dello specchio interposto fra Cl e Ko. Vedi anche il § 22.8.



4) Se vi è uno specchio orientabile, anche questo va spostato fino a centrare l'immagine del filamento in Da. Per meglio vedere tale immagine, conviene chiudere del tutto Da. A questo punto, si controlli che l'immagine (Q') riempia tutta l'apertura massima di Da (vedi sopra e confronta col § 22.2 e con la figura a lato: in questo caso si vede che l'immagine del filamento è troppo piccola).

5) Ora si inserisce un preparato qualunque sul tavolino ed un obbiettivo debole. Si guardi nell'oculare e si metta a fuoco approssimativamente il preparato. Dc deve essere più o meno chiuso. Si deve vedere una macchia rotonda luminosa più o meno nitida. In caso contrario, chiudere Dc e/o spostare in altezza il condensatore Ko. Si regoli l'altezza di Ko finché il disco brillante appare a fuoco assieme all'oggetto; è questa la prima immagine reale di Diaframma di campo: questa operazione va ripetuta quando si cambia preparato per tener conto delle variazioni di spessore del porta-oggetto. Si veda anche il § 21.4 .

6) Centratura del campo illuminato. Questa e le seguenti operazioni vanno ripetute ogni volta che si cambia l'obbiettivo (o anche l'oculare). Si deve portare l'immagine di Dc in centro al campo visuale. Questo si può effettuare in vario modo a seconda della struttura meccanica dello strumento; può essere spostabile l'intero illuminatore, o lo specchio interposto, o il condensatore, o una lente intermedia (che può svolgere anche le funzioni di "lente a grande campo"). Anche qui non si possono dare regole generali; vedi comunque i §§ 21.9, 22.1 e 22.9.

L'esigenza di ripetere questa centratura quando si cambia obbiettivo dipende dal fatto che i vari obbiettivi montati sullo strumento, generalmente su un disco girevole detto "**revolver**", non si ritrovano sullo stesso asse a causa di varie tolleranze costruttive: posizione dei vari fori nel revolver, posizione delle tacche d'arresto del revolver, posizione dei sistemi ottici all'interno delle montature, ecc. (vedi il § 19.1.4).

7) Regolazione del diaframma di campo illuminato (Dc in fig. 32). Guardando nell'oculare, si regola (con una leva, una ruota, o altro) l'apertura di Dc fino a veder illuminato tutto il campo visuale, e non di più. Un'apertura eccessiva di Dc porta a perdita di contrasto a causa di luce diffusa all'interno del preparato e dell'obbiettivo (§ 17.1.1). Probabilmente, a questo punto occorrerà ritoccare la centratura del campo illuminato (punto 6) e l'altezza del condensatore (punto 5). In certi casi può apparire nel piano oggetto un'immagine della "grana" di qualche vetro smerigliato presente nell'illuminatore; si deve allora ritoccare l'altezza del condensatore.

La regolazione del diaframma Dc va ripetuta ogni volta che varia il campo oggetto:

cambiamento dell'ingrandimento dell'obbiettivo, dell'indice di campo dell'oculare o di un fattore di tubo.

8) Regolazione del diaframma d'apertura del condensatore (Da in fig. 32). Si tolga l'oculare per osservare la pupilla d'uscita dell'obbiettivo (PU) e l'immagine di Da in essa presente. Nei migliori stativi questa osservazione si esegue più comodamente inserendo fra obbiettivo ed oculare la "**lente di Amici-Bertrand**" oppure sostituendo l'oculare con un "**microscopio ausiliario**" (accessorio di corredo per il contrasto di fase) di cui si riparlerà nel § 19.5.5.

Comunque sia, osservando PU , si regoli Da finché la sua immagine appare un po' più piccola di PU. Può darsi che PU appaia molto buia e non si distinguano i suoi confini: è sufficiente inserire un preparato molto colorato o con strutture diffondenti.

Una chiusura eccessiva di Da , come diremo più avanti, provoca aumento di contrasto e di profondità di fuoco (§ 14.1), ma diminuisce la brillanza dell'immagine e soprattutto la risoluzione. La regolazione di Da va quindi effettuata in relazione alla natura dell'oggetto ed ai risultati che si cercano; ma si ricordi che gli obbiettivi di cattiva qualità, affetti da forti aberrazioni, traggono un miglioramento di definizione da una chiusura del Da al di là di quanto sarebbe richiesto dal valore ottimale per la risoluzione globale. Su questo conflitto fra definizione e risoluzione ritorneremo più avanti (§ 18.10).

8.10 - La RESA FOTOMETRICA del SISTEMA ILLUMINANTE

Come verrà ripetuto parlando della "luminosità" dell'obbiettivo e del condensatore, l'illuminamento nell'immagine finale è proporzionale al quadrato dell'apertura del condensatore[37] (o dell'obbiettivo, se quest'ultima è minore) ed inversamente proporzionale al quadrato dell'ingrandimento totale del microscopio. Inoltre, essa è proporzionale alla trasparenza globale del sistema (perdite per assorbimento, per riflessione sulle superfici, ecc.) ed alla brillanza (o luminanza) della sorgente. Ecco perché, quando si desidera una forte brillanza del fascio che illumina l'oggetto (fluorescenza, proiezione, ecc.), si cercano sorgenti con un corpo luminoso ad elevata brillanza (sorgenti ad arco): la brillanza del tungsteno incandescente (sorgenti ad incandescenza) non può aumentare senza aumentarne la temperatura e quindi vi è un limite dovuto alla temperatura di fusione del metallo.

Per ridurre le perdite per riflessione alla superficie di tutti gli elementi ottici dello strumento, si usano da tempo i "**trattamenti anti-riflettenti**" (vedi il § 17.1) ma questi non sono privi di contro-indicazioni:

-- sono spesso delicati e mal sopportano la pulizia con mezzi meccanici;

-- la loro efficacia dipende dall'angolo di incidenza del fascio che li attraversa, per cui non sono sempre efficaci su tutta la superficie di una lente; ed ovviamente questa perdita di efficacia è maggiore con le lenti più ricurve;

-- nei sistemi che lavorano in UV o IR (fluorescenza, ad es.) non sempre i trattamenti sono efficaci fuori dallo spettro ottico.

Del resto, una valutazione della resa fotometrica di uno strumento presuppone che si tenga conto anche della sensibilità spettrale del recettore, specialmente quando si tratta di sistemi di ripresa elettronici. Molti sistemi (lenti, trattamenti anti-riflettenti, specchi, ecc.) sono in genere ottimizzati per la regione centrale dello spettro ottico, cioè per l'osservazione

[37] Quando si parla di apertura utile del condensatore, s'intende che tutta la sua pupilla d'ingresso (la superficie utile del diaframma d'apertura) sia interamente ed omogeneamente illuminata dall'immagine della sorgente.

visuale, e solo per quella.

Inoltre, si deve tener conto che la trasparenza del sistema può calare col tempo per vari motivi:

-- appannamento delle superfici ottiche per deposito di aerosol (catrame ed altro sospesi nell'aria), polvere od altra sporcizia;

-- opacizzazione dei cementi delle lenti composte;

-- opacizzazione della superficie interna del bulbo della lampadina, specialmente se a tungsteno non "ad alogeni" o ad arco.

La trasparenza totale è il prodotto della trasparenza dei singoli elementi.

Si può anche prevedere un eventuale invecchiamento dei componenti elettrici o elettronici dell'alimentatore della lampada che può ridurre la tensione o la corrente di uscita (ossidazione di contatti, deriva termica o invecchiamento di componenti, ecc.).

9 – LA PUPILLA DELL' OCULARE

Si faccia sempre riferimento alla fig. 32.

A questo punto è chiaro che P , cioè la pupilla d'uscita dell'oculare, oltre che l'immagine della pupilla d'obbiettivo PU, è essa stessa la pupilla d'uscita del microscopio nel suo complesso: come si è detto, tutto il fascio emergente dal microscopio ha come suo punto più ristretto, come suo diaframma, proprio P; del resto, l'immagine intermedia e l'immagine finale sono comunque formate dai raggi che passano da PU; quindi, se PU è pupilla d'uscita dell'obbiettivo, P è pupilla d'uscita dell'oculare; infatti, l'oculare non avrebbe di per sé altro diaframma d'apertura che la montatura della lente oculare; ma ciò che limita il diametro del fascio che traversa quella lente non è un diaframma fisico ma solo l'immagine di PU . E poiché al di sopra dell'oculare, in linea di massima, non vi sono altri sistemi essenziali, la pupilla d'oculare è anche quella del microscopio.

Ma ora un'altra considerazione: in PU (e quindi in P) vi è anche un'immagine di Da; il diametro di PU è fisso (è legato alla struttura dell'obbiettivo), ma il diametro dell'immagine di Da dipende da:

1) regolazione di Da;
2) focale del condensatore (f_k);
3) focale dell'obbiettivo (f_{ob}).

Anzi, fra Da e la sua immagine in PU si può stabilire un rapporto d'ingrandimento :

$$M_D = \frac{f_{ob}}{f_k} \tag{25}$$

Anche se è stabilito il tipo di condensatore e di obbiettivo più adatti ad una certa osservazione, è sempre possibile la regolazione di Da. Dunque, il diametro utile di PU può essere ridotto dalla regolazione di Da ed altrettanto si può dire di P. Fra il diametro di PU e quello di P, ovvero fra i diametri delle immagini di Da che si formano in PU ed in P, è ancora possibile stabilire un rapporto di ingrandimento, anzi di riduzione, visto che sarà sempre minore di 1. Tale rapporto è facilmente calcolabile, nota la focale dell'oculare e la distanza obbiettivo-oculare (vedi la (15) in 2.6.2.2). Si può calcolare anche direttamente il diametro di P ($Ø_P$) dall'apertura dell'obbiettivo (NA) e dall'ingrandimento visuale totale del microscopio (V_M):

$$Ø_P = \frac{500\ NA}{V_M} = \frac{2\ NA\ f_{oc}}{Mob} \tag{26}$$

(si ricordi che: $V_{oc} = 250/f_{oc}$; quindi $f_{oc} = 250/V_{oc}$; inoltre, $V_M = V_{oc} \cdot Mob \cdot$ Allora:

$Ø_P = 2 \cdot 250\ NA/V_{oc} \cdot Mob = 2\ NA \cdot 250/V_{oc} \cdot 1/Mob = 2\ NA\ f_{oc}/Mob$).

Ma è più semplice misurare direttamente il diametro di P, o piuttosto dell'immagine di Da che si forma in P: basta illuminare bene il condensatore, assicurandosi che tutta la pupilla di esso, cioè il massimo diametro di Da, sia illuminato dall'immagine della sorgente e che l'apertura effettiva del condensatore stesso non sia inferiore a quella dell'obbiettivo. Poi si pone un foglio di carta millimetrata sopra l'oculare, cercando di avere sulla carta la più nitida

immagine del cerchio di Ramsden (P). Per ogni terna condensatore-obbiettivo-oculare, supposta l'assenza di altri sistemi intermedi, si potrà misurare un diametro massimo e minimo di P , in seguito alla manovra di Da. Si vedrà che P sarà più piccola con gli obbiettivi e gli oculari più forti; le ragioni di questa affermazione sono da cercare ovviamente nella focale minore dei sistemi più forti.

Ma perché ci interessiamo tanto al diametro di P ($Ø_P$)? In fotografia, infatti, non vi sono in genere limiti. Ma in visione? In P, si è detto, deve porsi la pupilla dell'occhio, poiché altrove non avrebbe senso (fig. 33); non solo, ma bisogna che l'occhio accolga interamente il fascio che converge in P. Dunque bisogna che il diametro della pupilla dell'occhio sia almeno eguale a quello di P. Ora, è noto che la pupilla dell'occhio varia di diametro al variare del flusso di radiazione che riceve ed inoltre vi sono variazioni individuali, accidentali, ecc. Occorre quindi partire da un diametro "medio" convenzionale di 2 mm, che è poi il valore per cui il sistema ottico dell'occhio "medio" ha la miglior risoluzione. È ovvio che $Ø_P$ deve essere sempre minore di 2 mm. In caso contrario, la pupilla dell'occhio "diaframma" P, nel senso che ne limita il diametro utile, e quindi risulta ridotto anche il diametro utile di PU e cioè l'apertura utile dell'obbiettivo. E vedremo che ciò danneggia l'immagine in molti sensi.

Dalla (26) possiamo trarre qualche valore utile. Poniamo il caso di un obbiettivo debole 10 / 0,30 (Mob = 10:1 e NA = 0,30) e di uno forte 100 / 1,25. Supponiamo di usare sempre un oculare assai diffuso: il 10 ×. L'ingrandimento complessivo V_M sarà nei due casi:

$$10 \times 10 = 100 \quad \text{e} \quad 100 \times 10 = 1\,000.$$

Avremo, sempre nei due casi (vedi la (26)):

$$Ø_P = \frac{500 \cdot 0{,}3}{100} = 1{,}5 \text{ mm}$$

e

$$Ø_P = \frac{500 \cdot 1{,}25}{1000} = 0{,}625 \text{ mm}.$$

Come si è già detto, ecco che in genere gli obbiettivi più forti (e gli oculari più forti) forniscono un minor diametro di P, ma anche i più deboli difficilmente fanno superare il diametro convenzionale di 2 mm della pupilla dell'occhio. Se tale valore di $Ø_P$ in particolari condizioni venisse superato, si può comunque trarne vantaggio nella fotografia, poiché non vi è più il limite imposto dall'occhio.

Sembrerebbe in ogni caso che si abbia tutto vantaggio ad avere un piccolo valore di $Ø_P$. Ma, al di sotto di circa 1 mm, nasce un nuovo problema, quello che si presenta quando si guarda il mondo intorno a sé attraverso un cartoncino con un foro di spillo: l'apertura dell'occhio viene ridotta dalla P e risultano più evidenti (nel senso che producono ombre più contrastate) tutte le irregolarità che si trovano nell'occhio o nei piani coniugati: graffi, polvere, ecc. sulla superficie delle lenti, granuli o cellule sospese negli umori dell'occhio, ecc. Questi ultimi si muovono lentamente poiché sono sospesi in un mezzo liquido o gelatinoso e pertanto vengono chiamati "**mosche volanti**". E così l'esperienza dimostra che, con piccoli valori di $Ø_P$ (forti ingrandimenti complessivi V_M , forte chiusura di Da) l'immagine si riempie di macchie scure e la pulizia delle lenti diviene assai più critica.

10 - LA LUNGHEZZA DEL TUBO

Riprendiamo la fig. 20 (§ 4.4). Evitiamo di riprendere la fig. 32 poiché in quest'ultima è rappresentata una lente di campo che complica le cose.

In fig. 20 sono indicati i fuochi di obbiettivo ed oculare; in particolare il secondo fuoco dell'obbiettivo è F'_{ob} ed il primo fuoco dell'oculare è F_{ok} (dove deve trovarsi l'immagine intermedia A'B' se lo strumento è correttamente messo a fuoco).

Ebbene, la distanza F'_{ob} - F_{ok} , indicata con la lettera greca d (delta) maiuscola, cioè con Δ , è chiamata "**lunghezza ottica**" del tubo del microscopio. Essa corrisponde per l'obbiettivo al simbolo **x'** della figura 11 o 13 (§ 2.6.2.2), cioè al "tiraggio" fotografico. Questa grandezza Δ o **x'** è utile per calcolare l'ingrandimento M secondo la formula (14) (sempre nel § 2.6.2.2), ma in pratica essa è difficilmente nota con esattezza, essendo essa legata alla posizione dei fuochi o dei punti principali, che non è mai dichiarata dai costruttori e non si può determinare facilmente. Solo la posizione di F_{ok} si può determinare con mezzi semplici (un calibro ad es.) negli oculari positivi poiché F_{ok} giace nel piano del diaframma di campo visivo DV che è accessibile dall'estremità inferiore dell'oculare.

La posizione di F_{ok} all'interno del tubo, per uno stesso costruttore, dovrebbe essere la stessa per tutti gli oculari; da un costruttore all'altro, quella posizione, cioè la distanza di F_{ok} dall'orlo superiore del tubo porta-oculari, varia da 10 a 20 mm circa, anche se la tendenza è per un valore standard di 10 mm. È questa la posizione nominale dell'immagine intermedia (si potrebbe chiamarla "altezza dell'immagine intermedia").

Parliamo ora della "**lunghezza meccanica**" del tubo del microscopio, indicata con **Lm**, che è una grandezza meccanica: in ogni "tubo" di microscopio vi è un foro inferiore con un orlo su cui si appoggia un'apposita "**battuta**" dell'obbiettivo quando lo si avvita, e vi è un orlo superiore, su cui appoggia un orlo sporgente dell'oculare (anche questo definibile come "**battuta**") quando quest'ultimo è infilato nel tubo.

In un tubo semplice e diritto, senza sistemi interposti, né lenti, né prismi, la distanza fra quei due orli è la lunghezza meccanica **Lm**.

Nei microscopi con obbiettivi a coniugata finita, il valore di Lm varia di solito da 160 (il valore più diffuso) a 170 (Leitz, Meopta vecchi modelli, Stiassnie, ecc.) o 185, 210, 240, 250 (certi metallografici), ecc.

Va ben chiarito che spesso, all'interno del tubo, vi sono parti ottiche intermedie che modificano il percorso dei raggi e spostano l'immagine intermedia, cioè obbligano a variare la posizione di F_{ok} e la lunghezza geometrica del tubo senza però variare la coniugata (virtuale) dell'obbiettivo e quindi la lunghezza equivalente del tubo Lm. Basta pensare al TELAN, descritto nel § 3.2.2. In pratica, specie con i tubi piegati, "a gomito", bioculari, ecc. è quasi impossibile misurare la Lm , ma il costruttore la dichiara sempre, quando è serio. Infatti, in assenza dei dati di progetto, bisognerebbe tener conto del cammino ottico all'interno dei prismi, quindi dell'avanzamento d'immagine che è legato all'indice del vetro, ecc.

Normalmente la Lm è fissa. Può essere variabile in tre casi:

1) strumenti di vecchia costruzione;

2) casi molto particolari;

3) tubi bioculari di un certo tipo; di questi parleremo più avanti (§ 24.1.3).

Comunque, si tenga presente che una variazione della lunghezza meccanica **Lm** equivale ad uno spostamento della posizione del fuoco F_{ok} dell'oculare e ad una variazione delle

coniugate dell'obbiettivo. Tutto ciò è da evitare, perché produce alcuni effetti negativi: perdita di parfocalità degli obbiettivi (§ 19.1.2); variazione dell'ingrandimento; insorgenza di aberrazioni (§ 13.2.3). Per questo, occorre fare bene attenzione nell'uso di certi strumenti bioculari o nella sostituzione degli oculari per evitare variazioni di Lm (vedi anche il § 19.1.2). È chiaro che un costruttore serio provvede affinché, qualunque sia la composizione di uno strumento, che è sempre più o meno modulare, e qualunque accessorio previsto dal progetto venga inserito fra obbiettivo ed oculare, la Lm equivalente non cambi mai; tutti gli accessori debbono quindi essere parfocali fra loro[38] e non debbono mai alterare la parfocalità fra gli obbiettivi (§ 19.1.2) né l'ingrandimento. In certi casi, invero, è previsto un cambiamento d'ingrandimento con vari mezzi, ma mai una perdita di messa a fuoco.

Per gli obbiettivi a coniugata infinita, il tubo non può essere più corto della focale della lente di tubo, che tradizionalmente era di 250 mm e modernamente è ridotta da parte di molti costruttori. Ma, in questo caso, la distanza meccanica reale o equivalente fra obbiettivo ed oculare può variare entro ampi limiti senza alterare sostanzialmente il funzionamento del sistema, in quanto, come si è detto al § 3.2.3, non è definita la distanza fra obbiettivo e lente di tubo. Quindi, negli strumenti "a coniugata infinita" la lunghezza ottica del tubo va concepita solo come distanza fra lente di tubo ed F_{ok}, che deve essere eguale alla focale della lente di tubo stessa. Il concetto di lunghezza meccanica perde di senso.

Se poi si vuole misurare la lunghezza meccanica Lm di uno strumento sconosciuto a coniugata finita, il procedimento è semplice: si usi un oculare positivo − si misuri il diametro del diaframma di campo visivo (cioè s') con un calibro (non fidarsi dei dati nominali) − si metta in funzione lo strumento con quell'oculare e si metta a fuoco un micrometro oggetto (§ 12.1) con un obbiettivo di cui sia nota la lunghezza **Lm** nominale − si misuri la lunghezza della graduazione del micrometro che è compresa nel diametro del campo visivo (s') − dal rapporto delle due grandezze si ricava l'ingrandimento effettivo di quell'obbiettivo sul tubo sconosciuto.

Si confronti tale valore con quello nominale e dallo scarto fra i due valori si ricava il rapporto fra la **Lm** dell'obbiettivo usato per la prova (che è nota) e quella dello strumento sconosciuto.

Se si vuole una precisione maggiore (i valori nominali dell'ingrandimento sono soggetti ad una tolleranza che può arrivare al 5%), si ripeta la misura con tutti gli obbiettivi a disposizione e si faccia la media dei valori ottenuti.

[38] Intendiamo in questo contesto che tutti gli accessori debbono essere equipollenti dal punto di vista della messa a fuoco, dell'ingrandimento, ecc. Una perdita di messa a fuoco quando si toglie o si inserisce un tubo intermedio o qualunque altra cosa (prevista dal progetto) fra obbiettivo ed oculare è indice di errore di progetto o di montaggio (o di semplice trascuratezza del progettista o del costruttore).

11 – I PRISMI

Abbiamo già chiarito che la gran maggioranza delle lenti (o sistemi di lenti) di un microscopio è data da lenti convergenti, e comunque da lenti sferiche centrate su un asse comune.

Lenti divergenti si riscontrano solo in certi obbiettivi planari, in certi sistemi intermedi (TELAN, variatori d'ingrandimento, ecc.), in rarissimi oculari forti ed in certi oculari fotografici, oggi in disuso (gli "Homal" di Zeiss, per es.). Lenti asferiche si trovano solo in certi condensatori o collettori (vedi oltre).

Quando invece si debbono deviare dei fasci di raggi, senza mutarne la convergenza, si usano superfici piane, raramente specchi (nel sistema illuminante), più spesso prismi a riflessione totale.

Si è detto nel § 2.3.2 come opera la riflessione totale e si è calcolato che, per un normale vetro leggero, una incidenza di 45° per un raggio che si propaga in vetro porta proprio alla riflessione totale.

A questo punto, è chiaro come opera un prisma come quello rappresentato in sezione in fig. 34 A ; un fascio di modesta apertura incide perpendicolarmente su una delle facce-cateto del prisma, la cui sezione è un triangolo rettangolo isoscele. Il fascio incide a 45° sulla faccia ipotenusa ed incide ancora a 0° sull'altra faccia cateto.

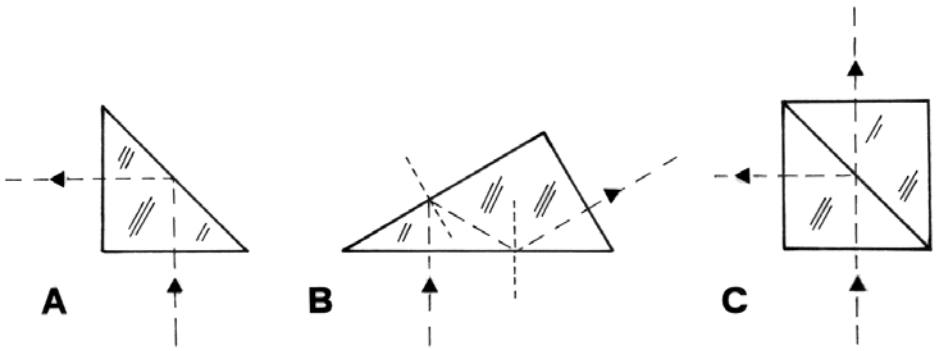


Fig. 34

In tutto questo, il fascio non viene né deviato né disperso. Il prisma si comporta come uno specchio, con qualche vantaggio pratico (vedi sotto).

In 34 B è lo schema di un prisma che, con due riflessioni interne, inclina la direzione di un fascio, come è richiesto nei tubi inclinati "a gomito" (§ 24)[39]. Qui la prima superficie non opera in riflessione totale e va argentata o alluminata. Perché si usi un prisma a due riflessioni invece di un semplice specchio è spiegato nel § 24.

Un prisma come quello di fig. 34 C è un cubo diviso in due metà uguali da una faccia diagonale a 45° sulle facce del cubo. Su tale faccia può esser depositato uno strato metallico sottilissimo o una serie di strati interferenziali che funzionano da specchio semi-riflettente. Una parte del fascio prosegue indisturbata uscendo dalla faccia opposta del cubo, l'altra parte

[39] Questo prisma è a volte attribuito a J.J. von Littrow, astronomo boemo (1781 - 1840).

viene deviata. In sostanza, il fascio viene sdoppiato in due metà geometricamente identiche, e fotometricamente uguali o diverse.

Questi **semi-riflettenti** o "separatori" sono spesso usati in microscopia per avere due immagini intermedie identiche da destinare a due distinti oculari o ad usi diversi, per es. visione-fotografia, oppure fotografia-esposimetria, oppure visione-canale TV, ecc. Essi vanno anche sotto il nome inglese di "**splitter**" o "**beam splitter**".

Gli splitter possono anche servire, con un senso inverso di propagazione dei fasci, per sovrapporre due fasci diversi, come nei "tubi da disegno" (§ 27.7.2): una specie di "mixer ottico". Vi sono poi combinazioni di prismi oppure prismi complessi che servono al raddrizzamento delle immagini, come nei microscopi stereoscopici (§ 29.2), nei mirini fotografici e così via.

Purtroppo, gli specchi ed i prismi alterano lo stato della radiazione polarizzata che essi riflettono. Pertanto, gli organi contenenti specchi o prismi (tubi porta-oculari, tubi intermedi, ecc.) non sono utilizzabili nei microscopi polarizzatori senza particolari accorgimenti.

I vantaggi del prisma a riflessione totale sullo specchio sono:

1) la riflessione è "totale" (100 %, senza perdite, a meno che la superficie riflettente venga metallizzata, come si fa talvolta per evitare la necessità di pulizia periodica; in questo caso, la metallizzazione viene protetta con una qualunque vernice opaca);

2) non vi sono riflessioni spurie, come avviene negli specchi "posteriori", in cui viene metallizzata la superficie posteriore di una lamina di vetro (specchi normali); guardando la figura 91 nel § 22.1.1, si comprende che le riflessioni multiple possono sovrapporsi e non essere notate quando l'incidenza è normale, ma si separano quando l'incidenza aumenta.; in altre parole, uno specchio normale con incidenza 45° crea, accanto al riflesso principale, una serie di riflessi più deboli dovuti alla prima superficie, non metallizzata, della lamina in vetro;

3) si può eliminare il problema dei riflessi spuri metallizzando la superficie anteriore della lamina di vetro di uno specchio normale ("specchi di superficie", § 22.1), ma lo strato metallizzato è delicatissimo e non sopporta una pulizia per sfregamento; anche una protezione con uno strato di monossido di silicio evaporato sotto vuoto ("quarzatura") non aiuta molto; le superfici di un prisma invece, essendo di vetro, possono essere pulite con mezzi normali.

12 – LA MISURA DELL' INGRANDIMENTO

Nei capitoli precedenti si sono viste le formule per il calcolo dell'ingrandimento, sia nel caso di immagini reali che di immagini virtuali.

Vediamo come è possibile effettuare questo calcolo in base a dati noti o a misure.

L'utilità del conoscere l'ingrandimento di un microscopio con una buona precisione si presenta quando si eseguono misure geometriche sugli oggetti osservati, quando si eseguono conteggi di particelle su una data superficie dell'oggetto, ecc. I dati forniti da molti costruttori moderni non sono precisi (vedi il § 12.8) e vi sono sensibili differenze fra diversi sistemi ottici, anche se dello stesso costruttore e con lo stesso ingrandimento nominale; del resto sappiamo già (vedi la (13), la (14), ecc.) come l'ingrandimento dipenda dalla lunghezza del tubo e da altri parametri geometrici che, nel singolo strumento, sono affetti sempre da qualche "tolleranza" di costruzione. Occorre quindi eseguire misure apposite sui singoli obbiettivi, oculari, ecc. montati su un dato stativo con dati accessori.

12.1 – I MICROMETRI ED I VETRINI

I micrometri sono graduazioni o scale graduate incise su una lastrina di vetro a facce piane e parallele.

Se la graduazione va osservata attraverso l'intero microscopio, essa va posta sul "tavolino" e quindi viene incisa su un normale "**vetrino porta-oggetto**", delle dimensioni standard di 25 × 75 × 1 mm = 1"× 3" circa (28 × 48 mm in campo petrografico); tali vetrini rappresentano il supporto normalmente usato per gli oggetti destinati all'osservazione in diascopia al microscopio. La graduazione diviene così un normale "preparato" e si chiama quindi "**micrometro-oggetto**". In genere, l'oggetto per il microscopio viene protetto da una sottile lamina di vetro detta "**lamella**" o "**vetrino copri-oggetto**" che è più piccola del porta-oggetto e che ha vari scopi: proteggere l'oggetto da agenti meccanici, dal disseccamento, dall'ossidazione; creare verso l'obbiettivo una "finestra" di osservazione otticamente piana e parallela al porta-oggetto, ecc. Anche il micrometro-oggetto sarà in genere protetto da una lamella. Vedremo nel § 13.2.3.3 l'importanza ottica della lamella e del suo spessore.

In altri casi, la graduazione va osservata attraverso l'oculare; essa andrà posta quindi nel piano dell'immagine intermedia, cioè del diaframma di campo visivo, all'interno dell'oculare. Tale graduazione andrà deposta su un dischetto di vetro, di diametro opportuno (fra 16 e 26,5 mm nella maggioranza dei casi); normalmente non sarà coperta da una lamella, ma può essere racchiusa fra due vetrini di spessore non trascurabile (1 - 2 mm), non tanto come protezione, ma per tenere la inevitabile polvere fuori dal piano focale dell'oculare, e quindi evitare che essa venga vista a fuoco attraverso l'oculare stesso (struttura "a sandwich").

Si parla in questo caso di "**micrometro oculare**".

La graduazione di un micrometro oggetto è costituita in genere da trattini opachi paralleli (come in un normale righello) di lunghezza anche inferiore ad 1 mm, larghi pochi micron; il "**passo**", cioè la distanza fra i trattini, è in genere di 10 μ; la graduazione è lunga 1 o 2 mm.

Questa configurazione si indica 1/100 o (rispettivamente) 2/200 (uno o due mm divisi in 100 o 200 parti, in modo che ogni intervallo misuri 10 μ).

Questo tipo di micrometro oggetto, assai diffuso, è troppo corto per gli obbiettivi deboli. Meglio usare quelli lunghi 5 mm, spesso graduati con passo 10 μ solo nell'ultimo tratto e con passo 100 μ nella parte rimanente. Quest'ultimo modello è difficilmente reperibile sul mercato.

La precisione di queste graduazioni è generalmente elevatissima (errore globale inferiore ad uno o pochi μ).

I micrometri oculare sono costituiti spesso da una graduazione di 5 o 10 mm divisi in cento parti (5/100 o 10/100) con un passo di 50 o 100 μ. Per usi particolari, che vedremo, si usano delle graduazioni particolari o disegni speciali, quadrettature, fili in croce, ecc.; tutti questi sistemi di linee opache su fondo trasparente, comunque adoperati, vanno sotto il nome generico di "**reticoli**".

Se il micrometro oculare è posto nel fuoco oggetto dell'oculare, l'immagine virtuale di esso è all'infinito e viene vista nitidamente da un occhio normale (emmetrope) non accomodato. Se però l'osservatore è affetto da un difetto di convergenza, cioè da un'ametropìa sferica (miopìa o ipermetropìa), è bene disporre di un'immagine finale a distanza finita (positiva o negativa, cioè sopra o sotto l'oculare), e per far ciò occorre che il micrometro stia un po' davanti o un po' dietro il fuoco dell'oculare e quindi deve variare la distanza fra la lente oculare (negli oculari negativi) o il gruppo lenti (nei positivi) ed il micrometro stesso. In pratica, si costruiscono degli "**oculari micrometrici**" in cui la lente oculare è regolabile ("**oculari regolabili**") nel senso che la sua montatura è a vite e si sposta assialmente ruotandola. In genere, un riferimento indica la posizione normale in cui l'immagine finale si forma a distanza infinita. Nella messa a fuoco degli oculari micrometrici conviene sempre partire dalla posizione "tutto fuori" (o completamente svitata) della lente oculare e poi, lentamente, avvitarla mentre si osserva la graduazione; appena questa appare nitida, arrestare immediatamente il movimento. Ciò facilita il rilassamento dell'occhio, poiché si evita di partire da un'immagine finale virtuale a distanza ravvicinata, che stimolerebbe l'accomodazione, e non viene evocato l' "effetto del tubo" (§ 4.2).

È chiaro che l'oculare micrometrico deve prevedere per il micrometro oculare una sede apposita, in cui il micrometro stesso è trattenuto in genere da un anello metallico a vite o a molla[40].

12.2 - L'INGRANDIMENTO dell'OBBIETTIVO

Nel § 3.2.3 si è visto come si calcola l'ingrandimento di un obbiettivo a coniugata infinita (formula (17)).

Però la formula relativa presuppone la conoscenza della focale dell'obbiettivo f_{ob}, normalmente non dichiarata dal costruttore e difficilmente misurabile.

Per quanto riguarda gli obbiettivi a coniugata finita, la formula (15) al § 2.6.2.2 permette ancora di calcolare facilmente l'ingrandimento (lineare trasversale) dell'obbiettivo: $M = f / x$. Ma, come si è appena detto, la focale **f** non è generalmente dichiarata dal costruttore; la grandezza **x** (tiraggio) è difficilmente misurabile anch'essa non essendo nota la posizione dei

[40] Per l'esattezza, l'introduzione del micrometro oculare provoca un leggero avanzamento dell'immagine intermedia (vedi il § 3.2).

fuochi.

La formula (14) : M = x' / f soffre degli stessi inconvenienti poiché, come detto al § 10, la grandezza **x'** è la "**lunghezza ottica**" del microscopio (Δ) e non è generalmente nota, e del resto varia da un obbiettivo all'altro.

Restano le formule (12) e (13):

$$M = \frac{a'}{a} = \frac{y'}{y}$$

Le coniugate **a** ed **a'** non sono note poiché vanno calcolate dai punti principali, di cui non è facile misurare la posizione. Non resta che misurare **y** ed **y'**.

Ecco la procedura, valida ovviamente anche per gli obbiettivi a coniugata infinita: si pone sul tavolino un micrometro oggetto; si infila nel tubo un oculare micrometrico positivo, del tipo previsto dal costruttore (quello che conta è la posizione del primo fuoco dell'oculare che influisce sul valore di **a'**). Se il tubo porta-oculari è regolabile (per i motivi illustrati ai §§ 10, 19.1.2 e 24.1.3), accertarsi che la graduazione relativa sia in posizione "0" e la lunghezza meccanica del tubo sia quella nominale. Per lo stesso motivo, è bene evitare i tubi bioculari, anche se il loro fattore di tubo nominale è pari ad 1, e specialmente quelli in cui la regolazione inter-pupillare è ottenuta con una slitta trasversale (antico sistema Zeiss e molti prodotti di medio livello) poichè tale regolazione influisce sulla lunghezza del tubo (§ 24.1.3). Si mette a fuoco il micrometro oculare come detto sopra (partire dalla lente oculare tutta svitata) e poi il micrometro oggetto. Orientare i due reticoli finché le loro immagini si sovrappongono. A questo punto nell'oculare si vede (ingrandito) il micrometro oculare posto nel piano dell'immagine intermedia ed un'immagine ingrandita del micrometro oggetto nello stesso piano. Il rapporto dimensionale fra le due immagini è evidentemente il rapporto M relativo a quell'obbiettivo ed a quel tubo. L'oculare osserva simultaneamente il reticolo oculare e l'immagine del reticolo oggetto formata dall'obbiettivo. I due reticoli hanno una dimensione nota e non resta che fare il rapporto delle lunghezze corrispondenti. In pratica: si considera la porzione centrale del reticolo oculare (non tutto, per ridurre gli effetti della distorsione), per es. dal 2° al 7° decimo. Nel caso di un reticolo 10/100 si osserva il tratto, per es., da 2 a 7 = 5 mm = 5˙000 μ; poi si osserva attentamente a quanti tratti del reticolo oggetto ciò corrisponde e si fa il confronto delle due lunghezze. Per es., se il tratto 2 - 7 nell'oculare corrisponde ad un tratto di 12,8 intervalli nell'oggetto, cioè a 128 μ, l'ingrandimento M dell'obbiettivo sarà 5˙000:128 = 39,06 : 1 (valore nominale 40:1, si suppone).

Tutto questo discorso vale se l'oculare è positivo, cioè non vi è la lente di campo a restringere l'immagine intermedia. Gli oculari micrometrici negativi, molto usati in passato, servono solo per misure sull'oggetto, come detto qui sotto.

Si noti che la misura dell'ingrandimento (e del "valore micrometrico" sotto descritto) si può eseguire su obbiettivi ad immersione (vedi il § 16) anche senza olio: l'immagine risulterà poco definita ed occorrerà chiudere molto il diaframma d'apertura del condensatore per ridurre le aberrazioni provocate dall'omissione dell'olio, ma l'ingrandimento non cambia.

12.3 - Le MISURE GEOMETRICHE al MICROSCOPIO

Gli oculari micrometrici, di qualunque tipo, hanno come scopo principale di eseguire misure geometriche sull'oggetto al microscopio.

In realtà, si misurano le immagini degli oggetti, non gli oggetti stessi, ma un'opportuna

calibrazione permette di trasferire le misure sull'oggetto reale.

Cominciamo dalle **misure lineari**, cioè di lunghezze. Per la calibrazione si adopera un micrometro oculare come quello descritto ed un micrometro oggetto. Si osservano nell'oculare i due reticoli e si pongono paralleli fra loro. Si procede così: si considera un tratto centrale del micrometro oculare (per es. dal 2° al 7° decimo) al fine di ridurre l'effetto della distorsione e si cerca, con opportune interpolazioni e mediando fra misure ripetute, di calcolare a quanti tratti del micrometro oggetto corrisponde quel tratto del micrometro oculare. Per es., se il tratto scelto nell'oculare corrisponde a 50 trattini e ricopre 85,5 trattini del micrometro oggetto pari a 855 μ, possiamo dire che ogni trattino nell'oculare corrisponde, in condizioni di miglior fuoco, a 855 / 50 = 17,1 μ nel piano oggetto. Questo valore, che segna l'equivalente di ogni trattino visibile nell'oculare riportato al piano oggetto, rappresenta da questo momento l'unità di misura del micrometro oculare, che diviene come un doppio decimetro sovrapposto all'oggetto. Tale unità di misura si chiama "**valore micrometrico**" o "**equivalente micrometrico**" di quel certo oculare contenente quel certo reticolo ed utilizzato con quella certa configurazione strumentale e con quel certo obbiettivo. È ovvio che il valore micrometrico di un certo oculare varia se si modifica l'immagine intermedia: cambiamento dell'obbiettivo, di sistemi intermedi, della lunghezza del tubo (come in certi tubi porta-oculari regolabili od in certi tubi bioculari), ecc. Occorre quindi, prima di iniziare una misura, procurarsi il valore micrometrico di ogni corredo previsto (obbiettivo, lenti, filtri e prismi intermedi, ecc.) e controllare la lunghezza del tubo. Solo certi tubi monoculari e bioculari hanno una lunghezza fissa oppure possiedono un meccanismo interno di compensazione; la lunghezza è variabile nei tubi monoculari telescopici ed in certi tubi bioculari che muovono gli oculari lungo una doppia slitta perpendicolare all'asse ottico oppure che possiedono una regolazione a vite su ognuno dei tubi porta-oculari; la calibrazione va fatta in questi casi con una data distanza inter-pupillare e con una data regolazione delle boccole porta-oculari e la misura è esatta solo riproducendo quelle condizioni. Vedi anche il § 24.1.3, punto 1 .

Quando è noto il valore micrometrico, basta sovrapporre la dimensione dell'oggetto da misurare (per es. il diametro) al reticolo oculare, osservare quanti trattini corrispondono a quella dimensione e moltiplicare il loro numero per il valore micrometrico stesso.

Per le **misure di superficie** di oggetti di forma regolare, si possono misurare certe dimensioni lineari come sopra detto, ed arrivarci col calcolo. Se l'oggetto è irregolare, si usano reticoli costituiti da una quadrettatura ortogonale (per es. 10 × 10 mm divisi in 20 × 20 parti). Col solito metodo si misura l'equivalente micrometrico del lato di ogni quadretto elementare e si calcola la superficie equivalente facendone il quadrato. Si ha così il "valore micrometrico" di superficie, relativo alla maglia elementare del reticolo. Poi si contano quanti quadretti ricoprono la figura da misurare, escludendo i quadratini ricoperti per meno di metà ed includendo quelli ricoperti per più di metà. Si moltiplica infine il numero di quadretti ricoperti per il valore micrometrico di superficie.

Le **misure di angoli** si eseguono a mezzo di reticoli circolari, graduati spesso in gradi. In genere esiste anche un indice girevole attorno al centro del campo visuale. Il cerchio graduato è pure centrato. L'angolo da misurare si dispone col vertice al centro e si osserva dove i suoi lati tagliano il cerchio. In questo modo, la distorsione dell'obbiettivo (§ 13.1.2) non influisce sulla misura poiché l'errore che essa provoca consiste in uno spostamento dei punti-immagine diretto radialmente. È anche ovvio che qui non vi è bisogno di calibrazione o di valore micrometrico.

Le **misure di spessori** dell'oggetto, cioè di lunghezze parallele all'asse, si basano normalmente su mezzi meccanici. Si usano obbiettivi con la massima apertura possibile, quindi con la minima profondità di fuoco, per rendere più critica e quindi più precisa la messa a fuoco. Per lo stesso motivo conviene aprire tutto il diaframma d'apertura del condensatore.

Si mette a fuoco l'estremo inferiore dell'oggetto di cui si vuol misurare lo spessore, poi l'estremo superiore. La variazione della distanza fra obbiettivo ed oggetto in queste due posizioni esprime lo spessore dell'oggetto, salvo la correzione sotto descritta.

Per misurare quella variazione si può usare un micrometro a palpatore poggiato sulla parte mobile dello strumento (tavolino o obbiettivo); ve ne sono con risoluzione di 1 μ o meno. Per precisioni non elevate, ci si può basare sul movimento fine di messa a fuoco o "**vite micrometrica**" (§ 27.2.2), che è generalmente graduato, con risoluzione di 1 – 5 μ. In altre parole, si legge la graduazione nelle due posizioni della messa a fuoco e si fa la differenza delle due letture. Per evitare errori dovuti ai "giochi" ed all'isteresi (§§ 26.5.2 e 26.5.3) del movimento micrometrico, è bene arrivare alla posizione di miglior fuoco sempre dalla stessa parte, cioè ruotando la manopola nello stesso senso.

C'è però, nelle misure di profondità, una correzione da apportare quando l'oggetto è immerso in un mezzo trasparente liquido o solido (come nei comuni "vetrini" con lamella) o quando esso stesso è trasparente e l'osservazione avviene attraverso di esso. Il valore di spessore misurato va moltiplicato per l'indice **n** dell'oggetto o del mezzo trasparente in cui è immerso (se i due indici sono uguali). Ciò per tener conto della rifrazione: si tratta però di un procedimento soggetto ad errori. Per l'esattezza, non ha influenza l'indice del coprioggetto ma solo del mezzo che include l'oggetto. Se poi l'obbiettivo è ad immersione (vedi il § 16), si tiene conto anche dell'indice del liquido che si trova fra lamella ed obbiettivo (**n'**). Così la profondità vera (Z) risulta:

$$Z = Z' \frac{n}{n'} \qquad (27)$$

in cui Z' è la misura ricavata alla graduazione della vite micrometrica o dal palpatore, ed **n** l'indice del mezzo che circonda l'oggetto (se l'oggetto è piccolo) o, meglio ancora, dell'oggetto stesso.

Quando si hanno cellule o sezioni sottili di tessuti "montati" in un liquido qualunque o in resina, si può supporre che, al termine della preparazione, il materiale biologico sia completamente impregnato del liquido o della resina e quindi abbia un indice molto simile a quel mezzo di montaggio.

12.4 - L'INGRANDIMENTO LONGITUDINALE o ASSIALE

Finora si è parlato di ingrandimento lineare trasversale, inteso come rapporto fra segmenti corrispondenti nei due piani immagine ed oggetto, entrambi perpendicolari all'asse. Ma si può considerare un **ingrandimento longitudinale** o **assiale** fra segmenti paralleli all'asse. In altre parole, se un oggetto è allungato in direzione dell'asse, esso avrà almeno due punti A e B, uno più vicino e l'altro più lontano dalla lente; quello più vicino (A) produrrà un'immagine più lontana (ovviamente stiamo parlando di immagini reali) e viceversa. Ad un segmento oggetto AB parallelo all'asse corrisponde così un segmento immagine A'B' pure parallelo all'asse, supponendo di ignorare le distorsioni. Il rapporto A'B'/AB definisce così un ingrandimento assiale **m**.

Il calcolo di **m** può essere molto complesso, ma per i casi più usuali si può usare la formula semplificata[41]:

[41] La formula esatta è : $m = M^2 / (1 – M \Delta s / f)$ in cui Δ**s** è la lunghezza del segmento AB ed **f** è la focale della lente.

$$m = M^2 = \frac{A'B'}{AB} \quad e \quad AB = \frac{A'B'}{M^2} \tag{28}$$

valida quando l'ingrandimento trasversale M non è troppo elevato e l'oggetto è immerso in aria (altrimenti, applicare anche la (27)).

Questo significa che un sistema capace di dare immagini ingrandite di un oggetto (collettore della microlampada, obbiettivo, ecc.), lo ingrandisce molto di più in direzione assiale. Per es., un filamento concentrato di lampadina elettrica, della forma ad elica di 2×2 mm, che un collettore ingrandisce (trasversalmente) di 12 volte, in modo da formare un'immagine nel diaframma d'apertura di $2 \times 12 = 24$ mm, risulta ingrandito longitudinalmente di $12^2 = 144$ volte. La sua immagine sarà quindi estesa in direzione dell'asse per $2 \times 144 = 288$ mm. Ciò spiega perché l'immagine del filamento, che noi abbiamo supposto formarsi "nella pupilla d'ingresso del condensatore", cioè nel piano del diaframma d'apertura, si forma in realtà in uno spazio assai esteso assialmente: essa si vedrà più o meno a fuoco anche dove non dovrebbe, vale a dire nel piano del preparato. Ciò spiega anche il largo uso di superfici smerigliate che si constata nelle microlampade.

12.5 - L'INGRANDIMENTO VISUALE DELL'OCULARE

Nel § 12.8 si farà cenno ai valori normalizzati adottati da molti costruttori per la scelta dei valori d'ingrandimento nominale degli oculari.

Nel § 4.3 (richiamo alle figg. 15 e 19, formula (19)) si è definito e calcolato l'ingrandimento "convenzionale" di una lente d'ingrandimento o di un oculare, e si è detto che la (19) è approssimata. Inoltre la (19) si basa sul valore della focale dell'oculare che non è mai dichiarata dal costruttore e che non è facilmente misurabile.

Per fortuna, è dichiarato in genere il valore dell'ingrandimento V; del resto l'esatto valore di V raramente serve, poiché nelle misure col micrometro oculare il micrometro sta PRIMA dell'oculare e quindi le caratteristiche di quest'ultimo non influiscono sulla misura: un dato micrometro oculare, montato in qualunque oculare (purché positivo) fornisce sempre lo stesso valore micrometrico, supposto che sia costante la posizione dell'immagine intermedia.

Ma certi oculari di vecchia costruzione portano solo un numero di riferimento che non ha un rapporto diretto con l'ingrandimento, e può essere necessaria una misura, almeno approssimata. Ecco come si procede.

12.6 - L'INGRANDIMENTO LINEARE DELL'OCULARE

Si supponga un microscopio correttamente a fuoco, cioè con l'immagine intermedia nel primo fuoco dell'oculare F_{ok} ; l'immagine finale è all'infinito.

Si sollevi di qualche mm l'oculare in modo che l'immagine intermedia si formi poco

prima di F_{ok} ; ora l'oculare si comporta come un obbiettivo a coniugata finita (fig. 13 nel § 2.6.2.4) e fornisce un'immagine reale ingrandita rovesciata dell'immagine intermedia ad una distanza superiore al doppio della propria focale (f_{ok}). Supponiamo di conoscere la posizione del secondo fuoco (F'_{ok}) dell'oculare: esso è assai vicino al "disco di Ramsden" (vedi i §§ 4.4 e 9) che si localizza ponendo un pezzo di carta a 5 - 20 mm sopra l'oculare e spostandolo fino ad avere la più nitida immagine del disco. Ebbene, a questo punto si ponga il foglio di carta a 250 mm sopra l'oculare, più precisamente a 250 mm da F'_{ok}, in pratica dal disco di Ramsden. Si muova leggermente l'oculare in direzione assiale in modo da vedere a fuoco l'immagine intermedia ingrandita (nel frattempo, si suppone conservata la corretta focalizzazione).

In queste condizioni l'oculare, come mezzo ingrandente dell'immagine intermedia, avrà un ingrandimento lineare M_{ok} dato per es. dalla (14) nel § 2.6.2.2:

$$M = x' / f \tag{14}$$

Ora, la **x'** è stata fissata in 250 mm ed allora :

$$M_{ok} = 250 / f_{ok} \tag{29}$$

Ma questa è la stessa espressione dell'ingrandimento visuale dato dalla (19) nel § 4.3; quindi possiamo dire che, in quelle condizioni:

$$M_{ok} = V_{ok} \tag{30}$$

Basta allora misurare M_{ok} . Si inserisce un obbiettivo di cui si conosca con precisione l'ingrandimento Mob, e si è visto come lo si misura nel § 12.2. Si pone sul tavolino un micrometro oggetto e lo si mette a fuoco con l'oculare in posizione normale. Poi si solleva l'oculare per avere a fuoco l'immagine del reticolo su uno schermo a 250 mm sopra il disco di Ramsden. Si misura la lunghezza di una porzione dell'immagine corrispondente a circa metà del campo dell'oculare. Per es., 20 trattini al passo di 10 μ = 200 μ , potranno apparire distanti 80 mm. Se l'obbiettivo ha un ingrandimento di 40 (noto o misurato con precisione), quei 20 trattini corrispondono nell'immagine intermedia a $200 \times 40 = 8'000\ \mu = 8$ mm. Se quei medesimi trattini appaiono distanti 80 mm nell'immagine finale, l'ingrandimento dell'oculare è: $M_{ok} = V_{ok} = 80/8 = 10\times$.

In altre parole, si usa come oggetto per l'oculare l'immagine intermedia creata da un obbiettivo noto, in modo da conoscere le dimensioni di tale oggetto. Poi si misura la lunghezza dell'immagine finale e si fa il rapporto (vedi la (12), § 2.6.2.2).

La disposizione che abbiamo appena descritto per la misura di M_{ok} è dunque quella che permette di ottenere dall'oculare e dal microscopio un'immagine reale, invece di una virtuale come è richiesta dall'osservazione visuale. L'immagine reale invece è necessaria quando la si deve proiettare su uno schermo (micro-proiezione) o su un'emulsione fotografica, su un recettore televisivo, ecc. È quindi, quella descritta, la disposizione di base per la foto-micrografia ed altre tecniche analoghe.

Nel caso generale però la distanza fra oculare (suo fuoco superiore) ed immagine, cioè **x'** , non è sempre pari a 250 mm; può essere anche di molti metri nel caso della micro-proiezione. In queso caso non vale più la (29) né la (30), ma si calcola M_{ok} dalla (14) introducendo il valore effettivo di **x'** (distanza oculare-schermo). È ovvio che **x'** ed f_{ok} vanno espresse con la stessa unità di misura.

12.7 - L'INGRANDIMENTO GLOBALE del MICROSCOPIO

12.7.1 - Ingrandimento visuale

Consideriamo dapprima il caso dell'osservazione visuale, con formazione di un'immagine finale virtuale.

Si può ripetere quanto si disse a proposito dell'oculare: bisogna considerare un "**ingrandimento visuale**" dato da un rapporto di angoli (vedi la (18) nel § 4.3) e lo chiameremo V_M .

Si potrebbero fare molte considerazioni sulla focale equivalente complessiva del microscopio o cose simili; ma in pratica è sufficiente conoscere l'ingrandimento dell'obbiettivo e dell'oculare e farne il prodotto:

$$V_M = M_{ob} \times V_{ok} \times F_t \qquad (31)$$

in cui V_M è l'ingrandimento visuale globale del microscopio ed $\mathbf{F_t}$ tiene conto di eventuali sistemi interposti fra obbiettivo ed oculare (tubi, variatori d'ingrandimento, prismi, ecc.; vedi il § 12.7.3); gli altri due termini sono generalmente incisi direttamente sulla montatura dell'obbiettivo o dell'oculare o si misurano come appena detto.

Si ricordi che i valori nominali per $\mathbf{F_t}$, M_{ob} e V_{ok} non sono sempre precisi. Se si vuole una misura precisa di V_M , si usi la stessa tecnica usata per misurare V_{ok} ed M_{ok} , descritta al paragrafo precedente. Naturalmente, il rapporto si farà fra l'immagine finale reale formata a 250 mm dall'oculare (dal disco di Ramsden) e l'oggetto (il solito micrometro). In queste condizioni, $V_M = M_M$, essendo M_M l'ingrandimento lineare del microscopio con immagine finale a 250 mm di distanza dal fuoco superiore dell'oculare.

Si noti che, quando si dice che un microscopio "ingrandisce" ad es. 400 volte, non significa necessariamente che in qualche punto fuori o dentro lo strumento esista un'immagine (reale) dell'oggetto 400 volte più grande dell'oggetto stesso. Significa solo che il microscopio può mostrare un'immagine (virtuale) dell'oggetto sotto un angolo 400 volte più grande di quanto non si avrebbe osservandolo da 250 mm di distanza.

12.7.2 - Ingrandimento lineare

Se il microscopio è focalizzato in modo da produrre un'immagine finale reale (per la fotografia, la proiezione, ecc.), allora si può parlare di **ingrandimento lineare** M_M , ed ancora una volta si avrà:

$$M_M = M_{ob} \times M_{ok} \times F_t \qquad (32)$$

in cui $\mathbf{M_{ok}}$ ed $\mathbf{F_t}$ sono già stati definiti. Poiché sappiamo già misurare M_{ok}, allo stesso modo si misura M_M e V_M, sempre confrontando l'immagine finale di un micrometro oggetto (formata a 250 mm dal disco di Ramsden) con il micrometro stesso.

Se l'immagine finale è proiettata ad una distanza diversa da 250 mm, si può sempre misurare M_M dal confronto di un micrometro oggetto colla sua immagine; semplicemente, questo valore non sarà più uguale a V_M . Se si rinuncia alla misura precisa, si può calcolare M_M dai valori nominali di M_{ob} e V_{ok} (formula (31)) aggiungendo però il fattore **d/250** , essendo **d** la distanza di proiezione (dall'oculare allo schermo) espressa in mm.

12.7.3 - Fattore di tubo

In molti casi, fra obbiettivo ed oculare, vi sono uno o più sistemi intermedi che possono introdurre una variazione dell'ingrandimento finale, cioè possiedono un "**fattore d'ingrandimento**" diverso da 1. Nei buoni costruttori, ognuno di questi sistemi intermedi porta inciso il "**fattore di tubo**" (per es. 1,25 × , 1,6 × , ecc.) e tale fattore ($\mathbf{F_t}$) va introdotto nelle formule (31) o (32) per il calcolo dell'ingrandimento totale.

Ma non sempre il fattore di tubo è indicato o, se indicato, non sempre è esatto. Per un controllo, si misura M_M, cioè l'ingrandimento totale del microscopio con immagine finale reale, come descritto sopra, senza sistema o tubo intermedio; poi si ripete la misura con il tubo intermedio e si fa il rapporto dei due risultati. Questo è il fattore proprio di quel "tubo". Sarà opportuno eseguire le due misure di M_M con immagine finale alla stessa distanza dall'oculare (2 m ad es.) e rifocheggiando ogni volta; un costruttore accorto, come già detto, farà in modo che l'introduzione dei sistemi intermedi non alteri la messa a fuoco, ma qualche differenza è inevitabile a causa delle tolleranze di lavorazione.

12.8 - L'INGRANDIMENTO NOMINALE

Come già precisato, l'ingrandimento nominale dichiarato dal costruttore non è sempre preciso, donde l'utilità dei metodi di misura descritti.

Per quantificare la discrepanza fra valore nominale e valore reale dell'ingrandimento, riportiamo alcuni dati, pubblicati dalla casa Zeiss (una delle poche che li rende noti):

Obbiettivi acromatici	
Ingrand. nominale Mob	Ingrandim. reale
10	10,2
40	40,8
40 HI (ad immersione)	40,0
40 HI - LD (a forte distanza di lavoro)	39,2
40 WI (immers. in acqua)	40,4
100 HI	98,8

Altre case ammettono nel valore di M una generica tolleranza di ± 5 % e sui fattori di tubo una tolleranza di ± 2 %.

Per quanto riguarda i valori nominali dell'ingrandimento, non vi sono regole generali, ma i costruttori più seri seguono criteri universali, applicati anche in altri campi (come le norme DIN 323). Per distanziare in maniera razionale certe serie di valori, come le caratteristiche di componenti meccanici, elettronici, ecc., si usano spesso le serie decimali geometriche o "serie

R". Ecco di cosa si tratta.

Una serie di valori si può dividere in "decadi"; una "**decade**" è la serie di valori compresi fra una potenza di 10 e la successiva (per es. fra 1 e 10 oppure fra 10 e 100 e così via). I valori all'interno di una decade sono distanziati fra loro in "serie geometrica", per far sì che il rapporto fra ogni valore ed il precedente sia costante, a parte gli arrotondamenti. Se si desidera avere 6 valori all'interno di ogni decade, come si fa coi componenti elettronici quando la tolleranza ammessa è di ± 20%, si ha la cosiddetta "serie R 6" in cui il rapporto fra due qualunque valori contigui è pari alla radice sesta di 10 = 1,4678 e la serie R 6 tipo è data da (sempre in valori arrotondati):

10 - 15 - 22 - 33 - 47 - 68 --- 100 - 150 - 220 - 330 – 470 ecc.

Per avere 12 valori ogni decade, si usa la serie R 12 , e si ha ricoprimento fra valori contigui quando la tolleranza è ± 10 % ; il fattore di moltiplicazione è ora la radice dodicesima di 10 = 1,211 e la serie tipo è:

10 - 12 - 15 - 18 - 22 - 27 - 33 - 39 - 47 - 56 - 68 - 82

Così si ha le serie R 24 (radice ventiquattresima di 10 = 1,1007) per valori affetti da tolleranza di ± 5%, ecc.

Per gli ingrandimenti in ottica (norme DIN 58 886) si usa la serie R 10 (radice decima di 10 = 1,2589) con i valori tipo (dieci valori per decade):

10 - 12,5 - 16 - 20 - 25 - 32 - 40 - 50 - 63 - 80

oppure la R 5 con i valori : 10 - 16 - 25 - 40 - 63 , in cui il fattore di moltiplicazione è la radice quinta di 10 = 1,585, oppure serie ancora più accorciate (non normalizzate), con 5 valori ogni due decadi :

2,5 - 6,3 - 16 - 40 - 100 o serie irregolari: 2,5 - 10 - 40 - 100 oppure: 4 - 10 - 40 – 100 .

Se le serie di valori normalizzati sono utilizzate sia per gli obbiettivi sia per gli oculari, si può dimostrare che anche gli ingrandimenti totali del microscopio, ottenuti da essi, vengono a trovarsi lungo una serie normalizzata.

In metallografia, sono entrati nell'uso dei valori particolari di ingrandimento totale pari a:

50 - 100 - 200 - 500 - 1˙000 ×

Per ottenerli, molti costruttori introducono serie di obbiettivi con valori nella serie quasi-normalizzata: 4 - 8 - 16 - 40 – 80

e poi un sistema intermedio con un fattore d'ingrandimento proprio di 1,25 ×, per cui, con un normale oculare 10 × , si ha : 4 × 10 × 1,25 = 50 , oppure: 8 × 10 × 1,25 = 100, ecc.

Per gli oculari, una serie completa di valori può essere (R 10):

(4 × - 5 ×) - 6,3 × - 8 × - 10 × - 12,5 × - 16 × - 20 × - 25 ×- 32 × .

In pratica : (4 ×) - 6,3 × - 10 × - 16 × - 25 × (R 5) o simili.

Alcuni costruttori usano contrassegnare gli obbiettivi con anelli di diverso colore a seconda dell'ingrandimento secondo la seguente tabella, che però non è di uso universale:

1 - 1,5 = nero; 1,6 = grigio; 2 - 3 = bruno; 4 - 5 = rosso; 6,3 = arancio; 10 = giallo;

16 = verde chiaro; 25 - 32 = verde scuro o turchese; 40 - 50 = celeste; 60 - 63 = blu;

100 - 200 = bianco.

Sotto l'anello per l'ingrandimento, vi può essere un secondo anello (con possibilità di confusione) per indicare il tipo di immersione:

Nero o bianco = in olio; Bianco = in acqua; Arancio = in glicerina; Rosso = indifferente.

Un terzo anello in alto (altra confusione) può indicare il tipo: Nero = standard; Rosso = Pol e DIC (contrasto interferenziale); Verde = contrasto di fase. Questi ultimi tre colori possono essere anche usati, col medesimo significato, per le normali notazioni in lettere o cifre.

13 - L'OTTICA NON GAUSSIANA - LE ABERRAZIONI

Tutto quanto si è detto finora presupponeva che fossero verificate le condizioni dell'"ottica parassiale" di Gauss, valida per le "lenti sottili" (§ 2.5.1).

Si possono riassumere quelle condizioni dicendo che si tratta di sistemi ottici ideali, centrati su un asse comune, con elementi semplici limitati da superfici piane o sferiche, con campi angolari ed aperture limitati alla zona parassiale, cioè prossima all'asse ottico, con spessori trascurabili delle lenti e degli oggetti, usati con radiazione monocromatica[42].

Il risultato di quelle supposizioni è che le immagini godono anch'esse di proprietà ideali:

1) L'immagine di un oggetto esteso, piano e perpendicolare all'asse è geometricamente simile all'oggetto ed ancora piana, perpendicolare all'asse.

2) L'immagine di un oggetto senza dimensioni, cioè di un punto, è ancora un punto.

3) I valori dell'ingrandimento e della focale nonché la posizione dei punti principali sono indipendenti dalle dimensioni dell'oggetto (cioè dai valori del campo), dall'inclinazione dei raggi sull'asse (quindi dall'apertura), dalle lunghezze d'onda interessate, dalla posizione del diaframma.

4) Il contrasto nell'immagine sarebbe uguale a quello nell'oggetto.

In una parola, si avrebbero immagini piane non deformate e con risoluzione infinita, in quanto ogni punto dell'oggetto avrebbe il suo corrispondente nell'immagine, e si potrebbero ritrovare in quest'ultima strutture e dettagli dell'oggetto piccoli quanto si vuole, con contrasto immutato.

Ma a questo stato ideale si oppongono tre cause principali di deviazione:

1) Cause tecniche (irregolarità nella lavorazione delle superfici, difetti nell'omogeneità dei materiali trasparenti, luce diffusa per riflessioni sulle pareti laterali o sulle montature delle lenti, luce parassita per riflessioni alla superficie degli elementi trasparenti, difetti di montaggio e centratura, ecc.). Vi sono anche difetti legati all'utilizzazione (errori di messa a fuoco, di pulizia, ecc.). In linea di principio, si tratta di "difetti" eliminabili con opportuni accorgimenti tecnici, generalmente con un certo aggravio di costi di produzione e manutenzione.

2) Cause fisiche, legate alla natura ondulatoria della radiazione ottica ed a ciò che ne consegue, soprattutto alla diffrazione. Ne parleremo nel § 18.

3) Cause geometriche, legate alla rifrazione alle superfici aria-vetro o vetro-vetro[43], analizzabili in base al concetto di "raggio" (§ 2.3) ed alle leggi della rifrazione (§§ da 2.3 a 2.6).

Ebbene, queste ultime deviazioni dalle condizioni ideali dell'ottica di Gauss, queste cause "geometriche" legate alla rifrazione, sono importanti quando si considerano sistemi reali di lenti spesse, con angoli di campo e di apertura non trascurabili, con radiazione non monocromatica. Esse provocano deviazioni dall'immagine ideale sopra descritta, chiamate globalmente "**aberrazioni"**.

---

[42] cioè con radiazione di un unico valore di λ .

[43] o, in genere, alla superficie di contatto fra mezzi trasparenti con diverse caratteristiche ottiche ("immersione" ecc…)

13.1 – Le ABERRAZIONI del PIANO

Consideriamo ancora un oggetto esteso, piano, senza spessore, perpendicolare all'asse di un sistema ottico reale formato da lenti sferiche spesse centrate su un asse comune con apertura e campo non trascurabili.

Le aberrazioni del piano riguardano la forma dell'immagine di un tale oggetto.

13.1.1 - La curvatura di campo

A causa di quest'aberrazione, l'immagine di un oggetto piano non è piana, ma curva, e la curva rappresenta una figura solida di rivoluzione, con un asse di simmetria di rotazione che coincide coll'asse ottico del sistema.

Non si tratterà in genere di una calotta sferica. In una lente semplice convergente, la superficie dell'immagine reale curva sarà concava verso la lente. Ciò si spiega guardando la fig. 35 in cui il punto B dell'oggetto, lontano dall'asse, dista dal centro C della lente più del punto assiale O; quindi l'immagine B' dovrà distare da C meno di O' e nel complesso il campo immagine è curvo.

Questa semplice considerazione geometrica, che ignora l'astigmatismo (§ 13.2.5), porta alla considerazione di una superficie immagine ideale ricurva, detta "**superficie di Petzval**"[44].

La misura della curvatura dell'immagine, esprimibile come distanza assiale fra un punto immagine (B') e quello che si dovrebbe avere se l'immagine fosse piana e tangente sull'asse alla superficie reale (B" in fig. 35), è in linea di massima proporzionale al quadrato del "campo", cioè della distanza fra punto immagine ed asse.

In queste condizioni, si può dire che tale obbiettivo fornisce un'immagine piana a condizione che l'oggetto, cioè la "**superficie di miglior fuoco**", sia curvo: occorre considerare una superficie oggetto che garantisca il "miglior fuoco" (cioè un'immagine[45] piana) ma che è di per sé curva.

In microscopia l'oggetto può avere uno spessore non trascurabile (sezioni di tessuti, strati liquidi di culture, ecc.) e quindi la superficie curva di miglior fuoco può trovarsi interamente contenuta nello spessore dell'oggetto; in questo caso la curvatura di campo non nuoce ed è inutile cercare gli obbiettivi speciali "**planari**" in cui quella aberrazione è corretta (§ 19.2.3.2).

---

[44] Joseph PETZVAL (pron. Pèzval), matematico austriaco (1807-1891).

[45] immagine intermedia, nel caso del microscopio

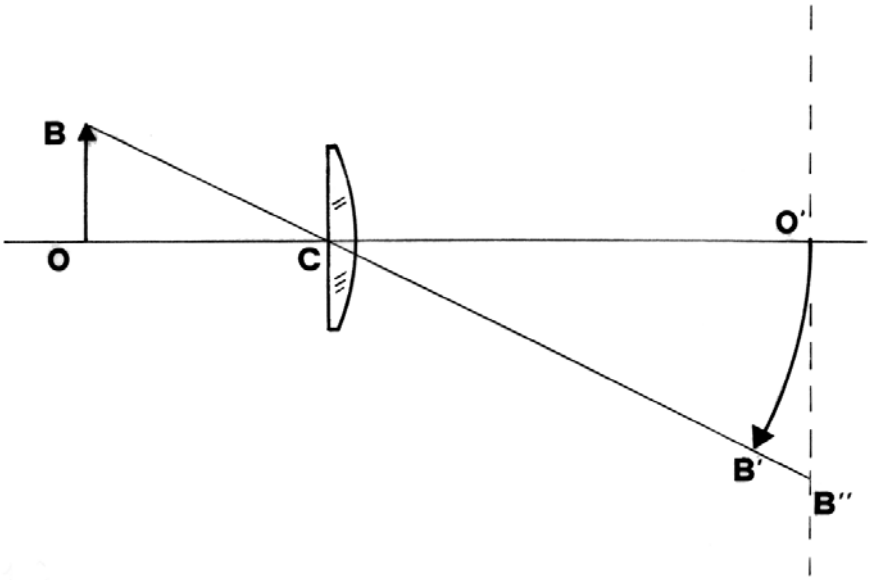


Fig. 35

Se invece l'oggetto è molto sottile (striscio di sangue, cellule o batteri; superficie levigata di provini metallografici o rocce, ecc.), allora la curvatura nuoce molto: si vedrà a fuoco solo il centro del campo, o il suo orlo o qualche "zona" intermedia a forma di anello centrato, mentre il resto del campo è sfuocato. La situazione è però alleggerita dalla "**profondità di fuoco**" (vedi il § 14) la quale fa sì che non si veda a fuoco solo una superficie oggetto (piana o curva), ma un leggero spessore di oggetto sopra e sotto il "miglior fuoco"; ciò conferisce alla "zona" a fuoco dell'immagine, data da un obbiettivo non planare per un oggetto piano, una larghezza non trascurabile, generalmente almeno metà del raggio del campo immagine. Impareremo a calcolare e misurare la profondità di campo, ma dalla fig 36 si chiarisce quanto detto.

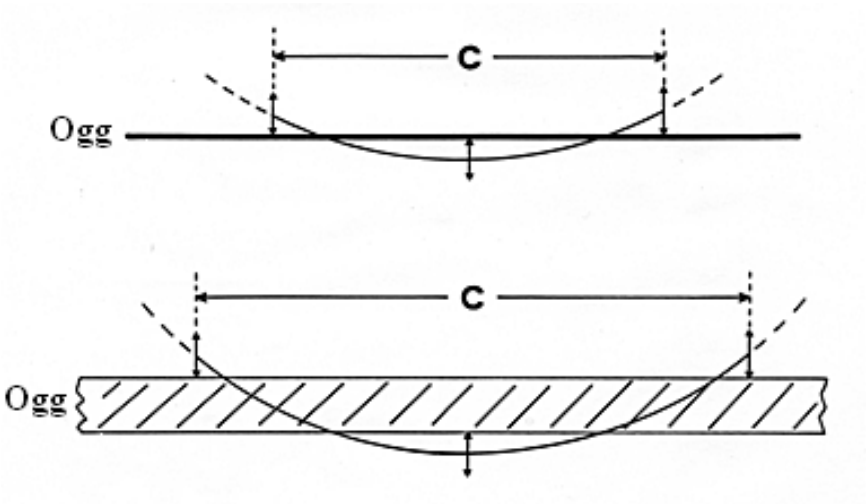


Fig. 36

In alto è indicato in sezione un oggetto senza spessore (Ogg); l'asse del sistema è verticale e passa nel piano e per il centro della figura. La curva indica la sezione mediana della "superficie di miglior fuoco", che interseca il piano oggetto lungo un cerchio. Con tre frecce doppie è indicata la profondità di fuoco, cioè lo spazio sopra e sotto il miglior fuoco

entro cui l'immagine si può ancora considerare focalizzata. Operando con la messa a fuoco, si può far sì che nel punto più basso della superficie di miglior fuoco l'oggetto disti da essa non più della profondità di fuoco, per cui si ha un fuoco accettabile per tutta la porzione inferiore della superficie di miglior fuoco. Quando quest'ultima passa sopra il piano oggetto, si vede ancora a fuoco finché le due superfici non distano più della profondità di fuoco. In questo modo, tutta la porzione di campo-oggetto indicata con C risulta contemporaneamente a fuoco, nonostante la curvatura di campo dell'obbiettivo.

Nella parte inferiore della fig. 36 si vede la stessa situazione, ma l'oggetto ha uno spessore non trascurabile. Finché la superficie di miglior fuoco è compresa nello spessore dell'oggetto, il fuoco è assicurato; fuori dalle due superfici dell'oggetto è ancora possibile sfruttare la profondità di fuoco e, nelle condizioni della figura, si ha ancora un campo interamente a fuoco (C), più largo del caso precedente per via dello spessore dell'oggetto.

La curvatura di campo è indipendente dalle altre aberrazioni, almeno concettualmente, tranne che dall'astigmatismo (vedi il § 13.2.5) di cui essa rappresenta un caso particolare.

Le lenti divergenti semplici hanno una curvatura di campo di segno inverso di quelle convergenti; ciò offre al progettista un metodo di correzione. Anche negli obbiettivi planari, come vedremo, si usano lenti divergenti per la correzione della curvatura, a volte più di una.

Sono stati fabbricati in passato degli oculari divergenti (gli "Homal" di Zeiss, per es) in grado di compensare la curvatura dell'obbiettivo, ma essi avevano applicazione solo in fotografia (§ 20.6).

In pratica, vi sono due modi di ottenere una misura della curvatura di campo:

◊◊ Per una data combinazione obbiettivo-oculare-sistemi intermedi, si osserva un oggetto molto sottile (striscio di sangue, micrometro oggetto) e si mette a fuoco il centro dell'immagine badando al senso di rotazione della manopola prima di raggiungere il fuoco. A questo punto si legge la posizione della manopola, che di solito è graduata ogni μ oppure ogni 2 o 5μ. Poi si mette a fuoco l'orlo dell'immagine, arrivando al fuoco con una rotazione nello stesso senso; si legge di nuovo la posizione della manopola e si fa la differenza fra le due letture. Si ha così la freccia di curvatura della superficie di miglior fuoco, espressa in unità di lunghezza assolute.

Questo dato però non è significativo, poiché va rapportato alla dimensione del campo ed alla profondità di fuoco, che dipende dall'apertura dell'obbiettivo; esso è quindi solo utile per confrontare due diversi obbiettivi di pari ingrandimento ed apertura molto simile.

Allo stesso modo, si può approssimare la superficie di miglior fuoco ad una sfera e calcolarne il raggio di curvatura (nota la freccia ed il diametro del campo oggetto); e si troverà che, in un obbiettivo non planare, tale raggio è simile alla focale di esso. Ma anche qui occorre rapportare la curvatura del campo alle sue dimensioni ed alla profondità di fuoco.

◊◊ Più immediato è osservare quanta parte di un oggetto sottile e piano è possibile vedere a fuoco simultaneamente, cercando il miglior compromesso. Si troveranno valori di 40 - 60% negli obbiettivi non corretti, e di 60 -100% in quelli planari. Però a questo punto occorre definire il margine che separa la zona a fuoco da quella sfocata ed il fattore soggettivo diventa preponderante: quando si può dire che un punto è "appena ancora a fuoco" o "appena sfocato"?

Una valutazione quantitativa della curvatura di campo è comunque utile per definire uno dei parametri funzionali dell'obbiettivo, e contribuisce allo studio comparativo di obbiettivi diversi.

Anche l'oculare può essere affetto da curvatura di campo, ma sempre in misura minore dell'obbiettivo a causa della minor potenza delle lenti. Gli oculari negativi hanno curvatura più forte di quelli positivi. In tutti gli oculari, la curvatura si somma algebricamente con quella dell'obbiettivo.

13.1.2 - La distorsione

Ora non ci occupiamo della *curvatura* del piano immagine ma della *forma* dell'immagine e della sua similitudine coll'oggetto.

Due figure piane sono simili quando gli angoli corrispondenti sono uguali ed il rapporto fra segmenti corrispondenti (cioè l'ingrandimento lineare trasversale) è costante. La distorsione, indipendentemente da tutte le altre aberrazioni, consiste proprio in una variazione dell'ingrandimento al crescere del campo, cioè della distanza di un punto (oggetto o immagine) dall'asse. Se l'ingrandimento cresce col campo, l'oggetto sembra dilatarsi verso la periferia: un quadrato diviene un cuscinetto e si parla di distorsione positiva o "**a cuscinetto**" (vedi fig. 37, a destra); se l'ingrandimento diminuisce col crescere del campo, l'oggetto sembra contrarsi e si parla di distorsione negativa o "**a barilotto**" (fig. 37, a sinistra).

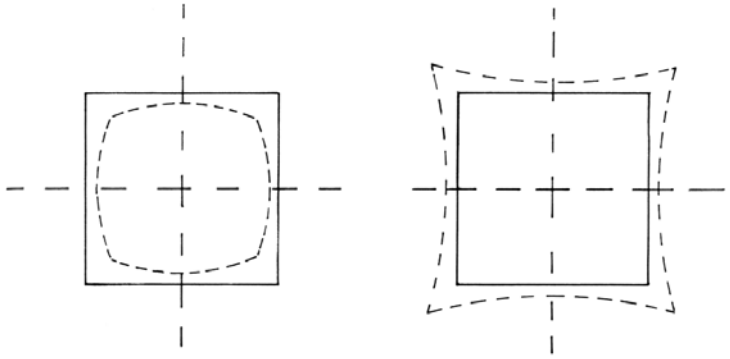


Fig. 37 – A linea intera l'oggetto; in tratteggio l'immagine (non in scala)

In una lente sottile, la distorsione dipende dalla posizione del diaframma, e si annulla quando il diaframma coincide colla lente. In un sistema complesso, si può annullare la distorsione, per es., quando il sistema è simmetrico rispetto ad un piano mediano perpendicolare all'asse, il diaframma si trova in quel piano e l'ingrandimento è vicino ad 1.

La distorsione di una lente sottile è in genere trascurabile, ma è sensibile nelle lenti spesse; una lente spessa convergente tende a mostrare una distorsione positiva; se divergente, negativa. Se però il diafamma non coincide colla lente, la distorsione è positiva ("a cuscinetto") in una lente convergente se il diaframma è posto dopo la lente (dalla parte dell'immagine), negativa se il diaframma è posto fa oggetto e lente.

In microscopia, la distorsione nuoce solo quando si debbono eseguire misure di superficie o di lunghezza sull'oggetto, ma in genere essa è assai contenuta. La si può misurare agevolmente osservando un oggetto contenente una sottile retta lontana dall'asse (un micrometro oggetto o l'orlo di una lamella, per es.) con un oculare contenente un micrometro oculare, meglio se del tipo quadrettato. Spostando l'oggetto, si potrà misurare la freccia di curvatura della sua immagine in diverse posizioni del campo.

La distorsione, espressa come spostamento effettivo di un punto immagine rispetto alla sua posizione ideale, è proporzionale al cubo del campo (inteso come distanza del punto dall'asse). Facendo il rapporto con il valore del campo, essa può essere espressa in percentuale. In una lente non corretta, la distorsione può arrivare a 5 o 10 %.

Si può esprimere la distorsione anche come rapporto $\Delta_M = (M_i - M) / M$ in cui M è

l'ingrandimento lineare sull'asse ed M_i è l'ingrandimento ai margini del campo.

In un normale microscopio, la distorsione è dovuta in prevalenza all'oculare; quella dell'obbiettivo non supera in genere 1%.

Un sistema corretto da distorsione e curvatura di campo si dice "retto-lineare" o "**ortoscopico**".

13.2 - Le ABERRAZIONI del PUNTO – La DEFINIZIONE

Le aberrazioni del piano alterano la forma di un'immagine estesa ma non l'immagine di dettagli fini e quindi non nuocciono alla risoluzione.

Adesso ci occupiamo invece delle aberrazioni capaci di deformare l'immagine di un punto oggetto, nel senso che rendono tale immagine mai puntiforme. Vedremo più avanti (§ 18) che vi sono altri fattori che allargano l'immagine di un punto oggetto, ma per ora limitiamoci alle aberrazioni, legate all'ottica geometrica. Nel complesso, tali aberrazioni allargano l'immagine ideale di un oggetto senza dimensioni fino a farla diventare una macchia di forma e di profilo fotometrico assai variabile, che si può chiamare genericamente "**cerchio di confusione**" (considerato nelle condizioni di miglior fuoco).

Ebbene, tale "cerchio" è certamente un fattore limitante della risoluzione. Supponiamo per semplicità che il "cerchio" sia effettivamente circolare e che abbia bordi netti ed una illuminazione uniforme. Consideriamo nella fig. 38 due di tali "cerchi di confusione" ideali, corrispondenti all'immagine di due punti oggetto in un sistema ottico affetto da aberrazioni del punto.

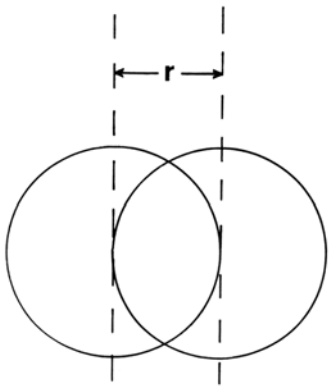


Fig. 38

Supponiamo anche che tali punti siano risolti quando le loro immagini, cioè i due cerchi, distano di una distanza **d** pari ad almeno il raggio **r** dei cerchi stessi. Torneremo su questo criterio, che è ovviamente convenzionale, ma si può dire che esso è molto utile in pratica. Dunque, il limite della risoluzione è **r**, vale a dire che due punti immagine sono considerati distinguibili quando la loro distanza **d** non è inferiore al raggio **r** del loro cerchio di confusione. E allora la risoluzione diminuisce quando il cerchio si allarga a causa delle aberrazioni. Ma non è solo un problema di risoluzione.

In fotografia, si chiama "**microcontrasto**" l'andamento fotometrico dell'immagine di un oggetto in cui una zona buia ed una luminosa sono separate da una linea netta, senza

transizioni. Se il "cerchio" avesse raggio nullo, anche nell'immagine si avrebbe una separazione netta fra zona scura e chiara; ma su questa linea netta si sovrappone il cerchio di confusione, che la fa diventare "sfumata", indecisa; si può anche dire che i punti chiari più vicini alla linea di separazione invadono la zona scura con una parte del loro cerchio di confusione, e viceversa per i punti scuri. A questo punto, nell'immagine il passaggio chiaro-scuro non è più rappresentabile con una curva a gradino, ma con una pendenza più o meno regolare. Ebbene, questo orlo sfumato abbassa la "**nitidezza**" o "**definizione**" dell'immagine, nel senso che i contorni delle varie parti dell'immagine non sono netti o "definiti".

La definizione si può dunque pensare come espressione e misura dell'inverso del raggio del cerchio di confusione: l'una è maggiore quanto più l'altro è piccolo; e questa diviene anche la misura del complesso delle aberrazioni del punto.

Vediamo quali sono le cause di quelle aberrazioni e quali i rimedi disponibili.

13.2.1 - L'aberrazione cromatica longitudinale o assiale.

Questa aberrazione, come la successiva, è legata alla lunghezza d'onda della radiazione e non esisterebbe con radiazione a lunghezza d'onda unica, cioè "**monocromatica**". Si è visto infatti, parlando della rifrazione e del prisma, il fenomeno della **dispersione** dell'indice e della diversa deviazione dei raggi di diversa lunghezza d'onda λ (vedi i §§ 2.3.1 e 2.4). Se dunque si usa nella formazione dell'immagine la radiazione "bianca" fornita dalla maggior parte delle sorgenti usuali, avremo un'intero spettro continuo di radiazioni entro i limiti dello spettro ottico, cioè un numero infinito di lunghezze d'onda fra 400 ed 800 nm circa (vedi il § 1.1). Per ognuna di esse avremo un diverso valore dell'indice e quindi della potenza e della focale di ogni lente. Questa variazione della focale al variare di λ provoca una variazione della coniugata immagine, e questa è appunto la "**cromatica assiale**": in altre parole, un oggetto che emette o è attraversato da "luce bianca" fornisce di sé stesso una serie infinita di immagini di diverso colore, a diversa distanza dalla lente; la distanza massima si avrà per le lunghezze d'onda maggiori ("rosso") poiché l'indice è minore e la focale maggiore; l'inverso per l'altro estremo dello spettro ottico.

Si ha dunque una successione di immagini corrispondenti ai valori di lunghezza d'onda presenti, e tale successione si chiama "**spettro primario**". L'immagine appare circondata da aloni colorati nel senso che si può mettere a fuoco l'immagine "nel blu" e rimane un alone rosso (immagine sfocata) o si mette a fuoco l'immagine "nel verde" e rimane un alone porpora (rosso + blu), ecc. (vedi fig. 76 , § 19.5.4).

Le immagini corrispondenti ai valori estremi di lunghezza d'onda distano fra loro, in direzione parallela all'asse, di una lunghezza che può servire di misura dell'aberrazione. Ma in microscopia ciò che conta è il diametro minimo del cerchio di confusione, quale si ottiene ottimizzando la messa a fuoco. Tale diametro si può anche misurare, a mezzo dello "star test" e di un micrometro oculare (vedi il § 18.4); comunque esso, per un dato sistema ed un dato stato dell'aberrazione, è proporzionale all'apertura ed indipendente dal campo, nel senso che l'aberrazione è la stessa in tutto il campo.

La fig. 39 dà un'idea del fenomeno.

Per ridurre l'aberrazione cromatica si sfrutta la differenza esistente fra i vari vetri ottici nella curva di dispersione. Se si traccia un diagramma cartesiano con l'indice **n** in ordinata e λ in ascissa, e relativo ad un dato vetro, si vedrà una curva inclinata con i minimi valori di **n** per i massimi di λ . Tale curva illustra la legge della dispersione, cioè la funzione $\mathbf{n_\lambda}$, per quel materiale. Ora, per diversi materiali trasparenti, la curva ha forma ed inclinazione differenti.

Per esprimere sinteticamente l'andamento della curva, si adopera la grandezza "**numero di Abbe**" o "inverso del potere dispersivo", indicata con la lettera greca "nu" (ν) o **n** minuscola: $\nu = (n_D - 1) / (n_F - n_C)$ in cui compaiono tre diversi valori dell'indice, per diversi valori di λ corrispondenti a certe "righe" dello spettro solare : riga C = 656 nm (rosso); riga D = 589 nm (giallo); riga F = 486 nm (blu).

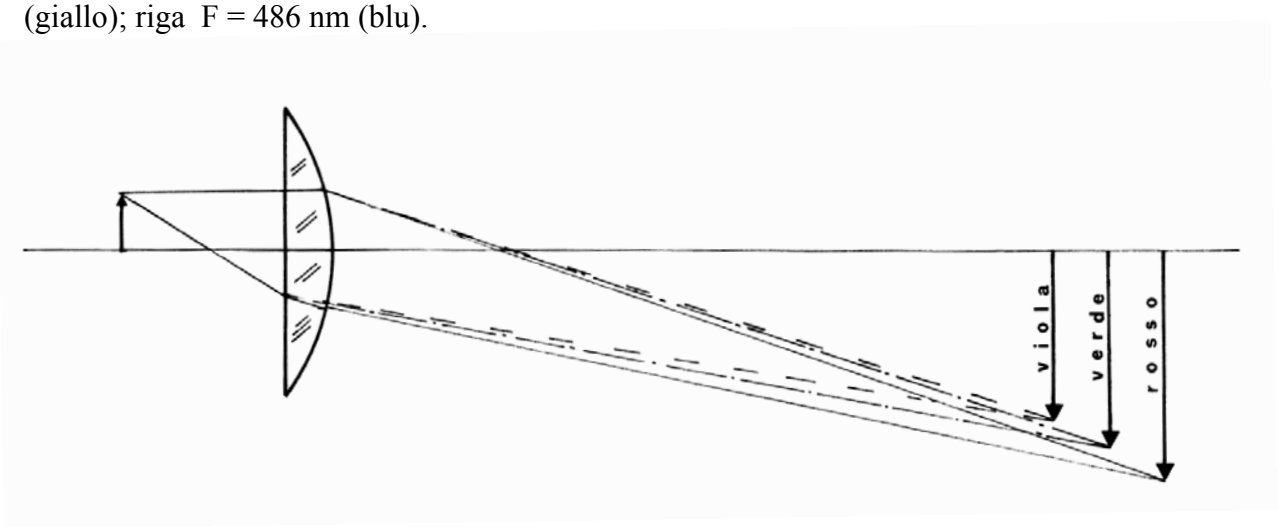


Fig. 39 – NB: i termini "viola", "verde", ecc. sono solo indicativi e non corrispondono a valori definiti di lunghezza d'onda.

Per i vetri ottici usuali, ν varia da 30 a 60; i valori minori corrispondono ai vetri più dispersivi, più pesanti ("**Flint**"); i valori maggiori ai normali vetri leggeri boro-silicati ("**Crown**").

Ebbene, combinando vetri con diverso potere dispersivo, è possibile ottenere sistemi convergenti o divergenti in cui la cromatica è ridotta, nel senso che i valori di focale e di coniugata coincidono per due lunghezze d'onda agli estremi dello spettro ottico (nella regione del "rosso" e del "blu")[46].

Se costruiamo una curva avente in ascissa il valore di coniugata immagine **a'** (cioè la posizione di un punto immagine assiale) ed in ordinata la λ , otteniamo una curva come quella di fig. 40 in cui le rette verticali indicano valori di riferimento per **a'**, e si vede che **a'** varia al variare di λ. In A si vede la curva relativa ad una lente semplice, non corretta: la coniugata **a'** aumenta col crescere di λ; la dispersione della coniugata immagine **a'** nell'ambito dello spettro ottico produce il già citato "spettro primario", che rappresenta la successione delle immagini dovute alle varie lunghezze d'onda. Ebbene, combinando anche solo due lenti, una di vetro crown (convergente) ed una di vetro flint (divergente)[47] è possibile "ripiegare" la curva nel senso che la **a'** è minima per il centro dello spettro ottico (regione del "verde") e cresce sia verso un estremo che verso l'altro dello spettro; in tal modo, si possono trovare infinite coppie di valori di λ per cui la coniugata coincide. In pratica, si cerca la messa a fuoco in modo da far coincidere le immagini corrispondenti ai colori più vivi (blu e rosso), ed allora l'immagine appare circondata da un alone verde (coniugata più corta) ed uno viola (più lunga). Esiste ancora uno spettro residuo, ma ovviamente più ristretto, detto "**spettro secondario**" (fig. 40 B). Questo tipo di correzione della cromatica assiale è detto "**acromatismo**" ed è adottato negli obbiettivi da microscopio (o da binocolo, ecc.) classificati come "**acromatici**" (vedi il § 19.3) che compaiono sul mercato nei primi decenni del 1800 (Lister, 1829), poco dopo l'introduzione, in Inghilterra, degli obbiettivi acromatici da

[46] In realtà la cosa è più complessa poiché debbono coincidere anche i punti principali.

[47] Questa combinazione di due lenti in vetro flint e crown è detta "doppietto acromatico" e può essere incollata o "scollata".

cannocchiale (Dollond, Londra, 1757)[48].

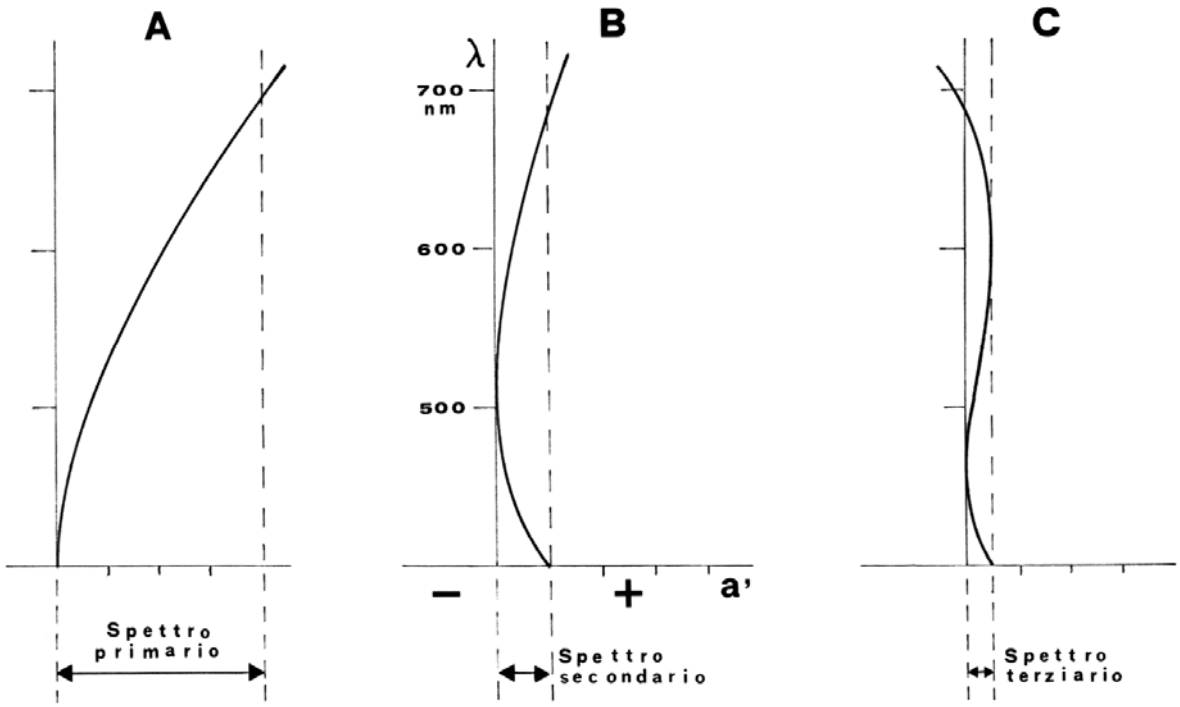


Fig. 40

Usando vetri speciali ed anche materiali naturali come la fluorite (fluoruro di calcio, CaF_2 , dotato di dispersione minima e basso indice) è possibile ridurre molto lo spettro secondario. È quanto si fa negli obbiettivi "**semi-apocromatici**" o "a fluorite" (vedi il § 19.3) progettati e costruiti dalla casa milanese F.lli Koristka alla fine del 1800, e poi largamente imitati.

Con ulteriore complessità del sistema, e con largo uso di fluorite (che fortunatamente si ottiene oggi anche sinteticamente) e vetri speciali, si possono migliorare le cose ripiegando ulteriormente la curva in modo che è possibile far coincidere la posizione dell'immagine per tre diversi valori di λ (fig. 40 C). Lo spettro che rimane ("**spettro terziario**") è molto ridotto.

Questo tipo di correzione è detto "**apocromatico**" e viene usato negli obbiettivi "apocromatici" (§ 19.3) progettati negli stabilimenti Zeiss di Jena nel 1886 a cura di Ernst Abbe. Esso non può essere ottenuto da un semplice "doppietto" come la correzione acromatica.

Recentemente, l'introduzione di sempre nuovi tipi di vetro ottico e nuovi strumenti di calcolo elettronico consentono a certi costruttori di ripiegare ancora la curva di dispersione in modo da far coincidere la posizione dell'immagine per quattro diversi valori di lunghezza d'onda all'interno dello spettro ottico.

Vedremo come è trattata l'aberrazione cromatica negli oculari.

[48] La priorità di Dollond è stata invero contestata da alcuni artigiani inglesi suoi contemporanei. L'inglese J.J. LISTER (1786-1869), forse per primo, usò combinazioni di doppietti per correggere simultaneamente la cromatica e la sferica nel microscopio (1829).

13.2.2 - L'aberrazione cromatica laterale o trasversale

Supponiamo di ignorare (o di avere corretto) la cromatica assiale, nel senso che la posizione dell'immagine sia unica per tutto lo spettro; ciò nonostante, la dispersione dell'indice e della focale porterebbe ad un diverso ingrandimento per ogni valore di λ. Questo significa, sempre operando in luce bianca, che le infinite immagini possono anche giacere sullo stesso piano, ma hanno diverse dimensioni.

È questa la "**cromatica laterale**". Sull'asse ovviamente tutte le immagini coincidono, ma andando verso i margini del campo, e considerando un singolo punto oggetto, si ha una serie di punti immagine di diverso colore sempre più lontani fra loro via via che ci si allontana dall'asse, cioè via via che aumenta il campo; questa successione di punti immagine di diverso colore (corrispondenti a tutti i valori di λ presenti nella radiazione utilizzata) rappresenta un piccolo spettro e fa sì che i margini dell'immagine appaiano ancora circondati da aloni colorati. Ma con questa differenza: gli aloni non esistono al centro del campo e crescono di larghezza all'aumentare della distanza dall'asse, cioè del campo; essi sono inoltre simmetrici rispetto all'asse. La cromatica laterale, espressa come lunghezza dello spettro, cioè come larghezza degli aloni colorati, è proporzionale al campo, ma indipendente dall'apertura. Essa può essere misurata a mezzo di un micrometro oculare. In una lente non corretta, la posizione di un punto-immagine nel "blu" (436 nm) può differire dalla posizione dello stesso punto nel "rosso" (630 nm) di una lunghezza pari fino a 1,5 % del campo.

Questa aberrazione si dice sottocorretta o positiva quando l'immagine appare più grande alla lunghezza d'onda minore (un oggetto chiaro su fondo scuro appare bordato di viola verso l'esterno del campo).

La fig. 39 schematizzava l'effetto combinato dei due tipi di aberrazione cromatica. La fig. 76, § 19.5.4, mostra l'effetto pratico di essi.

Vedremo più avanti come la cromatica laterale venga corretta nei vari tipi di obbiettivo e di oculare da microscopio (§ 19.3.1).

13.2.3 - L'aberrazione sferica o di sfericità

Finora si sono considerate le variazioni di alcune caratteristiche di una lente (focale, posizione dei punti principali e quindi posizione e dimensione delle immagini) in relazione alla lunghezza d'onda λ. Non per nulla si è parlato di "**aberrazioni cromatiche**".

Ora vogliamo invece parlare di aberrazioni del punto "**acromatiche**", cioè che si presentano anche in radiazione monocromatica, pur essendo il loro andamento legato al valore di λ.

L'aberrazione sferica è una variazione della focale e quindi della posizione dell'immagine al variare dell'apertura. La fig. 41 illustra il fenomeno: per uno stesso punto oggetto (a distanza infinita nella figura, ma questo è solo un caso particolare), si hanno diverse immagini a diversa distanza dalla lente al variare dell'apertura, cioè dell'inclinazione, degli infiniti raggi convergenti nell'immagine. Possiamo distinguere un fuoco "**parassiale**" P formato alla minima apertura, un fuoco "**marginale**" M (alla massima apertura) ed uno "**zonale**" Z, formato da raggi appartenenti ad una "zona" intermedia.[49]

[49] Si chiama "**zona**" in ottica una regione anulare centrata di una qualunque figura dotata di un asse di simmetria di rotazione.

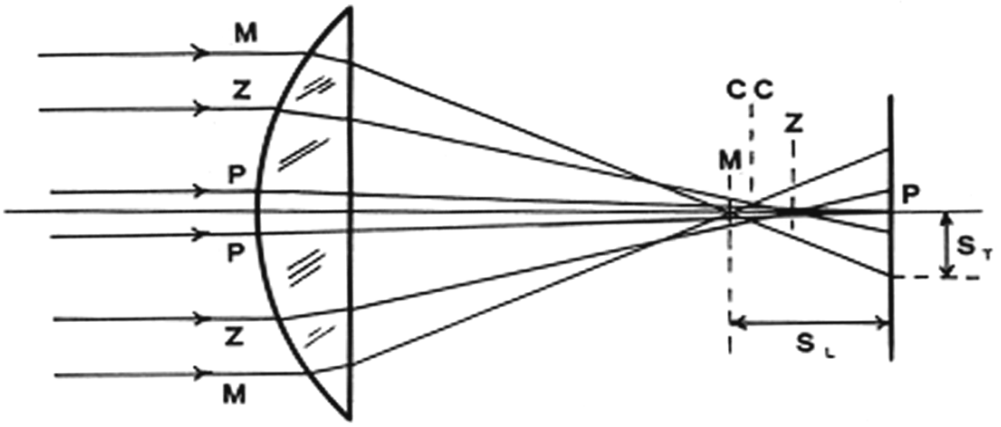


Fig. 41

È ovvio che, qualunque dei "fuochi" sopra citati si scelga come migliore immagine, esso sarà sempre circondato da un alone dovuto ai raggi che convergono in un fuoco più vicino o più lontano. Questo alone è sempre presente, si può solo cercare di minimizzarlo. Anzi, guardando la fig. 41, si può immaginare che l'inviluppo di tutti i raggi appartenenti a tutte le zone della lente venga a costituire una figura caratteristica a forma all'incirca di doppio cono con il vertice comune ed un arrotondamento della superficie nei pressi del vertice. Tale figura si chiama "**caustica**" in riferimento alla figura formata dalle lenti o dagli specchi concavi usati per concentrare i raggi solari ed accendere il fuoco.

La caustica, sezionata con un piano perpendicolare all'asse, mostra sempre una figura circolare, mai un punto. Questa figura si può dunque minimizzare cercando il miglior fuoco, mai annullare; essa rappresenta il "cerchio di confusione" dovuto alla sferica e si cercherà sempre il "**cerchio di minima confusione**" (CC in fig. 41). Tale cerchio ovviamente danneggia la risoluzione per i motivi già detti nel § 13.2 ed allo stesso modo il microcontrasto; si può misurarne il diametro ($2S_T$ in fig. 41) per avere una misura quantitativa della sferica, ma questo metodo non è semplice per il sovrapporsi di altri fenomeni. Vedremo in seguito un metodo assai migliore.

La sferica, espressa come diametro del cerchio di confusione, è indipendente dal campo, ma è proporzionale al cubo dell'apertura. Essa cresce quindi assai rapidamente nei sistemi forti. Si può esprimere la sferica anche come distanza assiale (S_L in fig. 41) fra fuoco marginale[50] e parassiale (P), ma ciò non serve in microscopia.

Il termine "sferica" si riferisce al fatto che tale aberrazione è legata alla forma sferica delle superfici delle lenti usuali, e si potrebbe eliminare dando alle superfici una forma asferica particolare. Data la difficoltà di costruire superfici asferiche con le dovute tolleranze, tali superfici vengono usate solo nei collettori e condensatori, dove le tolleranze sono più larghe, o in certi obbiettivi fotografici. La sferica invece si corregge nei microscopi con la combinazione di lenti sferiche di forma ed indice diversi.

Un sistema corretto di sferica si chiama "**aplanatico**". Ma si ricordi che la coincidenza dei fuochi parassiale e marginale non comporta necessariamente anche la coincidenza con essi degli altri (infiniti) fuochi "zonali". Un sistema aplanatico può quindi comportare un "**residuo**" **di sferica zonale**. Inoltre l'aplanatismo può essere verificato per uno o più valori di λ, ma non per altri ("**sferocromatismo**").

Quest'aberrazione è quasi l'unica che può essere seriamente peggiorata da un errato uso dello strumento e poiché essa è una delle maggiori cause di perdita di definizione nel microscopio, è bene esaminare in dettaglio le cause del suo peggioramento.

[50] Fuoco marginale come punto di convergenza dei raggi che traversano la zona marginale della lente − **M** in figura.

13.2.3.1 - La lunghezza del tubo

Qui parliamo genericamente della distanza fra obbiettivo ed oculare, così come è prevista dal costruttore, senza fare distinzione fra "lunghezza ottica" o "meccanica" (§ 10).

Tale distanza influisce sulla coniugata immagine (e sull'ingrandimento) dell'obbiettivo e quindi sulle sue condizioni di lavoro ed influisce sull'ammontare della sferica. Essa è fissata in sede di progetto in quanto costituisce uno dei parametri del sistema.

La lunghezza del tubo era variabile in molti modelli di microscopio fino a circa il 1950, specialmente se monoculari. Si trattava di **tubi** "**telescopici**", formati da 2 o 3 parti scorrevoli una nell'altra; la variazione del "**tiraggio**", cioè della loro lunghezza, aveva come scopo principale di modificare con continuità l'ingrandimento dell'obbiettivo in modo da arrotondare i "valori micrometrici" degli obbiettivi (§ 12.3). Ma la stessa variazione, in più o in meno, introduce un residuo di sferica nell'obbiettivo, sempre in più o in meno. Spieghiamo cosa intendiamo con "più o meno".

Una lente semplice si comporta come descritto (fig. 41) e si può considerare "**sottocorretta**". Se si fanno coincidere il fuoco marginale e quello parassiale, diciamo che è corretta (a parte i residui zonali); ma può essere "**sovracorretta**" se l'aberrazione ha un andamento inverso, cioè se il fuoco marginale è più lungo (più lontano dalla lente) di quello parassiale. Partendo da un sistema corretto, l'aggiunta di un residuo di sferica, causato da una variazione Δ_t della lunghezza del tubo, può portare quindi ad una leggera sovracorrezione o sottocorrezione. Viceversa, se l'obbiettivo è affetto, per motivi di progetto o di montaggio, da un residuo di sferica di un certo segno, ecco che il tubo telescopico può fornire un rimedio, aggiungendo un residuo di segno opposto.

Tanto per quantificare, un obbiettivo debole con apertura NA = 0,25 tollera una variazione Δ_t di lunghezza del tubo di ± 30 mm circa; con apertura di 0,65 (un classico acromatico 40:1) si ha $\Delta_t = \pm 10$ mm; con apertura di 1,3 , $\Delta_t = \pm 6$ mm.

Nella maggioranza degli stativi moderni, il tubo non è telescopico, ma nei modelli bioculari almeno uno dei due tubi porta-oculari è di solito regolabile in lunghezza (vedremo perché); una errata regolazione quindi è sempre possibile. Inoltre, la variazione della distanza interpupillare, cioè della distanza fra gli assi degli oculari, in certi casi, porta pure ad una variazione di lunghezza del tubo (§ 24.1.3).

In altri casi, una variazione di questa lunghezza può essere introdotta da certi "tubi intermedi" o accessori interposti fra obbiettivo ed oculare che svolgono varie funzioni (§ 25).

13.2.3.2 - La distanza fra le lenti

La sferica è anche sensibilissima ad una variazione di distanza fra le lenti dell'obbiettivo, in particolare fra la frontale (la lente inferiore, generalmente la più forte) e le altre. Su questo parametro l'utilizzatore non ha mezzo di influire, tranne il caso degli "**obbiettivi a correzione**" (A. Ross, 1838[51]) in cui un anello graduato esterno consente di variare la distanza fra le lenti. Tale anello permette quindi di ottimizzare la correzione della sferica dell'obbiettivo e di compensare i residui dovuti ad un errato valore di lunghezza del tubo o di spessore della lamella (vedi sotto). Spesso, anzi quasi sempre, la regolazione del collare comporta una leggera alterazione della messa a fuoco.

In tutti gli obbiettivi che lo contengono, il collare consente anche di neutralizzare (in parte) un errato valore dell'indice di rifrazione dell'eventuale olio da immersione, o

[51] Andrew ROSS (1798 - 1859), costruttore di microscopi londinese, socio di J.J. Lister.

addirittura di usare liquidi diversi (acqua, glicerina, ecc.). Così si compensa anche un anomalo indice dell'oggetto, se di forte spessore.

Si noti che questi obbiettivi a correzione sono solo quelli molto forti, in genere a secco, con apertura NA > 0,7 , poiché si è visto che la sferica è proporzionale al cubo dell'apertura. Negli obbiettivi forti senza correzione, il costruttore adatta stabilmente la distanza fra le lenti alla lunghezza del tubo ed allo spessore nominale della lamella. In sede di assemblaggio, questo parametro viene ottimizzato per tentativi o con ritocchi alla lavorazione delle parti meccaniche o inserendo fra le montature delle varie lenti ("barilotti") degli appositi anelli distanziali in metallo o in plastica. Tali anelli sono sottilissimi, a volte fabbricati in plastica trasparente quasi invisibile, e durante lo smontaggio degli obbiettivi vanno facilmente deformati o perduti. Ecco un'altra cura da prendersi quando si deve smontare un obbiettivo forte.

13.2.3.3 - Lo spessore della lamella

Si è detto (§ 12.1) che in molti casi l'oggetto del microscopio è steso su un vetrino porta-oggetti ed è coperto da un "copri-oggetto" o "**lamella**".

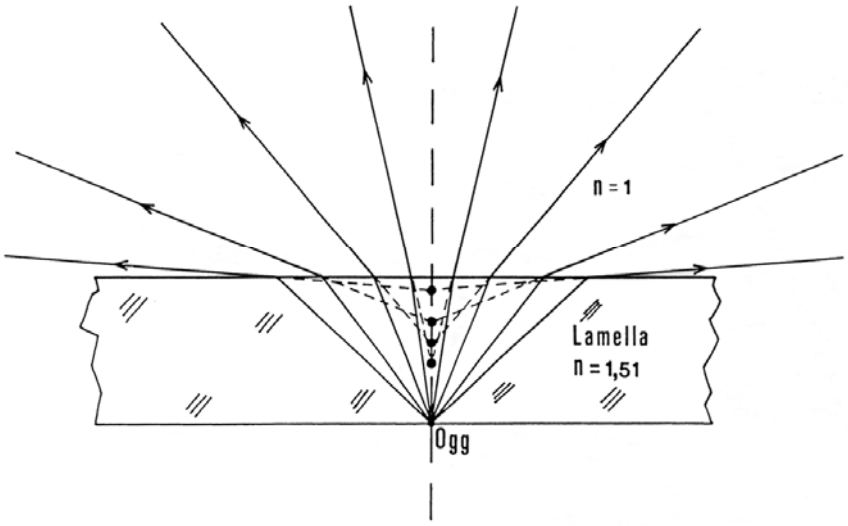


Fig. 42

Vediamo quale influenza ha la lamella sulla formazione dell'immagine da parte dell'obbiettivo (a secco). Si consideri la fig. 42, in cui è schematizzata la sezione di una lamella; alla sua superficie inferiore aderisce l'oggetto di cui consideriamo il punto assiale (Ogg). Da questo emerge un fascio di raggi divergenti che traversano lo spessore della lamella; alla superficie superiore di questa, entrando in aria, i raggi divergono allontanandosi dall'asse, secondo la legge di Snell. Ma, se si fanno i conti esatti e si traccia all'indietro il prolungamento dei raggi rifratti, si constata che, col crescere dell'apertura, il loro punto d'incontro si sposta sempre più in alto. Si può dire che, guardando da sopra l'oggetto attraverso la lamella come fa l'obbiettivo (non rappresentato), non si vede l'oggetto ma una serie di immagini virtuali di esso, una per ogni valore di apertura considerato, a diversa altezza. In questo modo, se l'obbiettivo fosse del tutto corretto da sferica in sé stesso, dovendo creare un'immagine reale da una serie di immagini virtuali a diversa altezza, produrrebbe a sua volta una serie di immagini reali a diversa distanza da se stesso: i raggi marginali produrrebbero un'immagine a maggior distanza e l'obbiettivo risulterebbe sovracorretto. Diciamo pure che la lamella diviene parte integrante del sistema formatore d'immagine, allo

stesso titolo delle lenti dell'obbiettivo. Quindi, per il progetto dell'obbiettivo e per la correzione della sferica (e di altre aberrazioni, in minor misura) lo spessore della lamella deve essere determinato e rispettato con una certa tolleranza, e così il suo indice di rifrazione e la sua dispersione.

In pratica, non è difficile standardizzare indice e dispersione della lamella utilizzando vetri leggeri di composizione semplice. Molto più difficile è avere una certa precisione nello spessore **d** della lamella. La tolleranza ammissibile su **d** (Δd) varia ovviamente con l'apertura:

Fino a NA = 0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Δd ± > 50 mm	± 5 mm	± 0,7	± 0,2	± 70 μ	± 25 μ	± 15 μ	± 8 μ	± 4 μ

Il valore nominale di **d** è normalmente di 0,17 mm, salvo casi particolari[52]. Negli obbiettivi progettati per l'uso con tavolini riscaldanti o micro-fornaci, si prevede una lamina di copertura più spessa, come è previsto nella costruzione del tavolino stesso, per es. di 2 mm, e non di vetro normale, ma di silice o altro materiale resistente ad un'ampia gamma di temperature. Lo stesso vale per gli strumenti rovesciati per diascopìa (per l'osservazione dal basso di oggetti liquidi in cuvette, vaschette o micro-acquari: vedi il § 27.1.5 e la fig. 108).

Quando si osservano preparati non coperti da lamella (leghe metalliche, rocce, ecc. dove l'illuminazione è episcopica, cioè da sopra, e la lamella creerebbe dannosi riflessi: § 30.1) si possono usare appositi obbiettivi calcolati per una correzione ottimale in assenza di lamella (d = 0) (vedi il § 19.2.5). Ma nei casi normali occorre confezionare i "vetrini" con lamelle in cui **d** rientri nelle tolleranze sopra indicate.

Come verificare lo spessore **d** delle lamelle?

Prima di tutto acquistare lamelle in cui lo spessore è dichiarato dal fabbricante. A volte, lo spessore è simboleggiato da un numero : 1 – 1,5 – 2, ecc. In questo caso, solo il numero 1 oppure 1,5 (o 1½) corrisponde (circa) allo spessore di 0,17; i numeri seguenti corrispondono a spessori maggiori, accettabili solo in casi particolari [53]. Ma non basta.

All'interno della stessa scatola o addirittura da un punto all'altro dello stesso vetrino vi possono essere differenze eccessive. A questo punto non resta che misurare le lamelle una per una con un micrometro centesimale ("Palmer"). Non volendo far ciò, si ricordi che gli obbiettivi più sensibili al valore di **d** sono i più forti, e questi ultimi sono spesso forniti del "collare di correzione", come detto sopra. Il collare è sempre direttamente graduato in valori di **d** (normalmente la graduazione va da 0,1 a 0,23 mm).

Sono ora in fabbricazione degli obbiettivi a correzione in cui la regolazione consente variazioni dello spessore di lamella fra 0 e 2 mm; ciò in vista dell'uso sopra accennato in stativi rovesciati in cui l'oggetto (in genere culture di cellule o microrganismi) è osservato attraverso il fondo di una cella in vetro o resine sintetiche il cui spessore può essere molto variabile.

Riassumendo, abbiamo allora tre fattori a disposizione dell'utilizzatore, che influiscono sulla sferica:

◊◊ lunghezza del tubo; questa però andrebbe tenuta sul valore nominale, anche quando è variabile, per evitare altri problemi (parfocalità, ecc.);

◊◊ spessore **d** della lamella, che supponiamo incognito;

◊◊ regolazione dell'eventuale "collare di correzione".

Su quest'ultimo punto, ecco come si procede. Supponendo incognito **d** , la graduazione sull'obbiettivo è inutile. Occorre allora usare il collare di correzione per tentativi fino ad ottenere la massima definizione. Ciò si apprezza meglio scegliendo nel preparato una zona ben contrastata, a bordi netti, oppure fini granulazioni ben colorate, ecc. Cambiando vetrino,

---

[52] Secondo le norme DIN 58878/ISO 8255/1, il valore reale di **d** deve essere d = 0,17 + 0/- 0,02

[53] # 1 = 0,13 – 0,17; # 1 ½ = 0,16 – 0,19; # 2 = 0,17 – 0,25 mm.

occorre rifare la regolazione. Comunque, può essere utile questa regola pratica: *la sferica è sottocorretta quando la lamella è troppo sottile o il tubo troppo corto o la distanza fra le prime lenti dell'obbiettivo è insufficiente. È sovracorretta nei casi inversi. La correzione della sferica è dunque un fatto globale*[54].

Il contributo dell'oculare alla sferica nell'immagine finale è trascurabile.

13.2.4 - La coma

Il termine coma ha la stessa radice etimologica di "chioma" o "cometa" per l'aspetto caratteristico che presenta l'immagine di un oggetto molto piccolo.

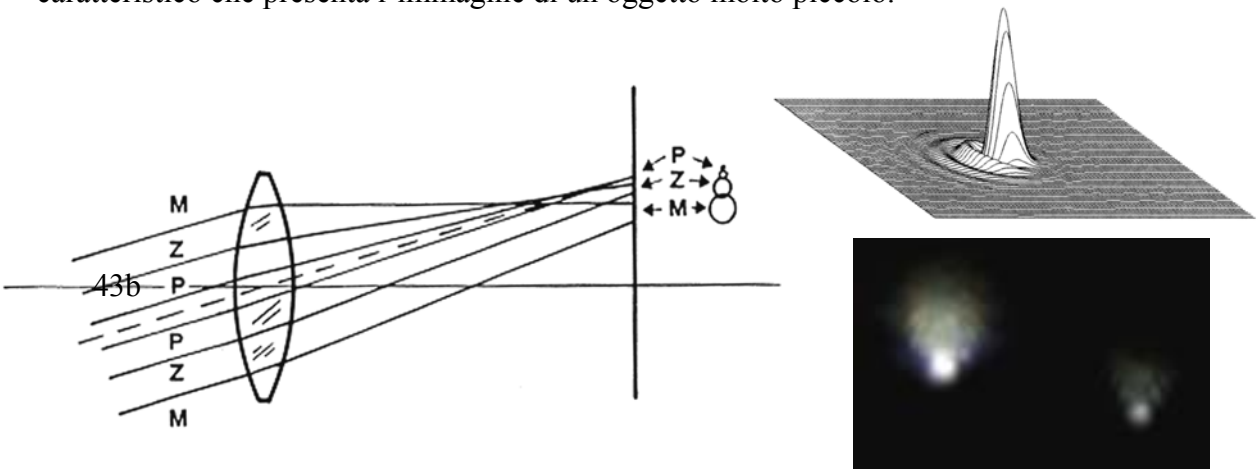


Fig. 43 – La coma, come schema della variazione nella posizione del fuoco al variare dell'apertura (a sinistra) e come schema assonomerico (l'altezza della curva indica l'intensità dell'immagine di un punto in un piano perpendicolare all'asse passante per il "miglior fuoco"). A destra in basso: un caso pratico (star test).

Questa aberrazione è "extra-assiale" (come la cromatica laterale) nel senso che non esiste sull'asse di un sistema centrato e cresce coll'aumentare del campo: in conseguenza di questa asimmetria, il cerchio di confusione derivante dalla coma non può essere circolare; esso è infatti allungato in senso radiale e presenta un punto molto luminoso che sfuma gradatamente in una coda allargata: vedi la fig. 43 che indica il percorso di raggi parassiali (P), marginali (M) e zonali (Z). È possibile valutare la coma misurando la lunghezza e la larghezza della "coda", ma dato l'aspetto sfumato di essa occorre eseguire una misura fotometrica punto per punto e questo in microscopia è difficile. Comunque, in una lente semplice la coma è proporzionale al quadrato dell'apertura. Essa si corregge scegliendo opportunamente la posizione del diaframma e la forma delle lenti. La coma è assente in un sistema simmetrico col diaframma al centro e comunque può essere corretta solo rispettando la "condizione dei seni" di Abbe (vedi il § 19.3.1 e la formula (68)).

Da quanto detto, risulta ovvio che la coma in asse non può esistere. Se al centro del campo di un microscopio si osserva un residuo di coma, la causa è spesso una sola: una o più lenti dell'obbiettivo non sono centrate sull'asse comune. Vedremo come si rivela un tale residuo di coma; ma intanto possiamo dire che i costruttori, data l'estrema criticità della centratura dell'obbiettivo, assegnano di solito una posizione fissa a tutte le lenti

[54] Esiste un rapporto fra errore nello spessore **d** della lamella (Δ_d, in centesimi di mm), ingrandimento dell'obbiettivo (Mob) e variazione di lunghezza del tubo (Δ_t , espressa in mm, come differenza fra lunghezza nominale del tubo e lunghezza occorrente per compensare l'errore Δ_d) : $\Delta_t = \Delta_d \cdot Mob^2 / 250$. Vedi anche la (87) nel § 31.2.4.

dell'obbiettivo tranne una, la seconda o la terza dal basso, che viene lasciata fluttuante consentendo un certo gioco fra il barilotto della lente e la sua sede. A tale "**lente flottante**" corrispondono di solito nella montatura generale dell'obbiettivo tre o quattro fori; in fase di assemblaggio o di manutenzione, tali fori permettono di spingere sulla lente flottante e spostarla. In questo modo, se vi è un residuo di scentratura nelle altre lenti, la lente flottante permette di ottenere una compensazione globale e di minimizzare la coma sull'asse (vedi il § 19.5.2).

La figura della coma può mostrare il punto più luminoso diretto verso l'asse (coma centrifuga o positiva) o verso la periferia (coma centripeta o negativa), come in fig. 43.

13.2.5 - L'astigmatismo

Variando la messa a fuoco, la figura della coma, visibile nell'immagine di un punto oggetto, si può allargare, ma conserva la sua forma e la "coda" rimane diretta radialmente.

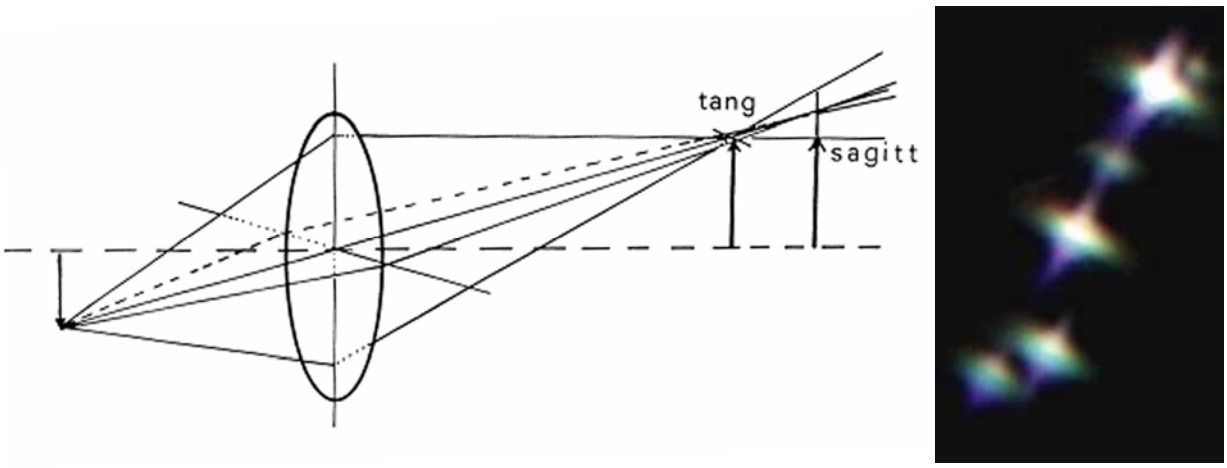


Fig. 44 – A destra, un caso pratico (star test nel miglior fuoco: appaiono entrambe le focaline).

Questo carattere distingue la coma dall'astigmatismo, il quale presenta un'immagine sdoppiata e deformata, ben riconoscibile, di ogni punto oggetto. In particolare, il fascio di raggi che convergono nell'immagine di un punto oggetto non si raccoglie attorno ad una zona di forma circolare, bensì attorno ad un segmentino (detto "**focale astigmatica**" o "**focalina**") diretto tangenzialmente, almeno in una lente semplice. Dopo questa focalina, il fascio assume una sezione di forma ovale, poi circolare ("cerchio di minima confusione"); più avanti il fascio torna a sezione ovale, ma con l'asse maggiore diretto radialmente, ed infine "si appoggia" su una nuova focalina, cioè su un segmento, ora radiale. Infine si allarga di nuovo e ritorna circolare. Ciò è schematizzato in fig. 44.

Queste caratteristiche dell'astigmatismo permettono di riconoscerlo facilmente al microscopio o in altri strumenti: osservando un oggetto molto piccolo, come una stella in un cannocchiale o telescopio, o lo "star test" (vedi oltre) al microscopio, e modificando la messa a fuoco, si vede che l'immagine si allunga in direzione da radiale a tangenziale o viceversa, mentre la sferica fornisce un'immagine circolare e la coma una figura sempre allungata radialmente.

Anche l'astigmatismo è nullo sull'asse e cresce col campo, come la coma; sia la lunghezza delle focaline che la loro distanza reciproca crescono col quadrato del campo; la distanza è indipendente dall'apertura, mentre la lunghezza delle focali è direttamente proporzionale all'apertura.

L'astigmatismo può insorgere per l'introduzione nel cammino ottico di una lamina trasparente a facce piane e parallele (prismi, ecc.). Per fortuna, in pratica questa evenienza è improbabile nello spazio oggetto-obbiettivo, a meno che si introducano valori molto anomali nello spessore della lamella, ma allora si avrebbe una sferica tanto forte da nascondere l'astigmatismo. Più comune è l'introduzione di prismi fra obbiettivo ed oculare (separatori d'immagine, tubi bioculari, ecc.), ma anche qui c'è un vantaggio: di trattare con fasci di modesta apertura e piccolo campo, per cui il loro effetto è modesto.

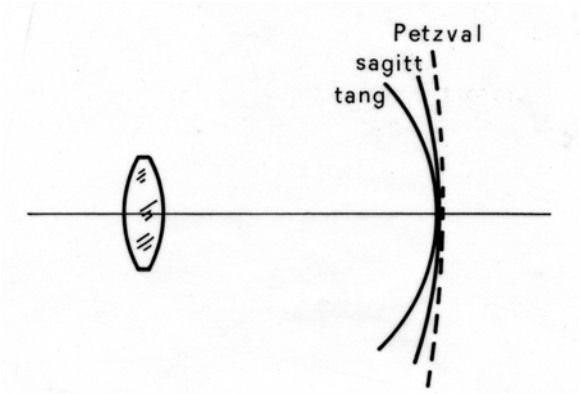


Fig. 45

Abbiamo detto che per ogni punto oggetto si ha una coppia di focaline nello spazio immagine; se si tracciano due superfici contenenti rispettivamente tutte le focaline tangenziali e tutte le sagittali, si hanno due superfici concave verso la lente (almeno se la lente è semplice) chiamate "**nappe**" ("nappa tangenziale" e "sagittale") come è schematizzato in fig. 45. Poiché l'astigmatismo non esiste sull'asse, le nappe si toccano sull'asse e divergono via via che aumenta il campo (col quadrato del campo). In fig. 45 è indicata in sezione anche la superficie curva dovuta alla curvatura di campo ("di **Petzval**"), che non coincide colle nappe in una lente semplice: l'astigmatismo consiste proprio nella non coincidenza delle tre superfici. Se le nappe sono concave verso la lente, l'astigmatismo è negativo o sottocorretto; è positivo o sovracorretto in caso opposto. Il compito del progettista è proprio quello di diminuire il più possibile la distanza fra le tre superfici, se possibile con le due nappe da parti opposte della superficie di Petzval (§ 13.1.1).

Poiché l'astigmatismo si presenta solo ai margini del campo, viene spesso trascurato nei progetti più economici; esso è normale negli obbiettivi acromatici, ma anche costruttori di grido non lo correggono del tutto in obbiettivi apocromatici. Inoltre, esso diviene difficile da correggere quando si cerca la spianatura del campo (**obbiettivi** "**planari**", vedi il § 19.2.3.2) per cui gli obbiettivi planari vanno sempre controllati riguardo ai residui di astigmatismo. È comunque possibile correggere l'astigmatismo, anche negli obbiettivi planari, aggiungendo altri elementi al sistema; e ciò spiega l'alto costo degli obbiettivi più corretti, in particolare di quelli planari.

Se nell'uso pratico si riscontra astigmatismo anche al centro del campo, la causa può essere varia: inclinazione di qualche prisma o di qualche lente rispetto all'asse, errore di centratura, errore nella forma di qualche lente. Se l'astigmatismo si presenta in asse solo con un dato obbiettivo, si può essere quasi certi che una delle lenti di esso è montata con inclinazione scorretta. Se si presenta con tutti gli obbiettivi e con uguale andamento, la causa si trova in una parte esterna all'obbiettivo (sistemi intermedi, tubi porta-oculari, inclinazione errata del revolver o altri supporti meccanici, ecc.).

Un sistema corretto da astigmatismo si chiama genericamente "**anastigmatico**"; se è corretto anche da curvatura di campo si chiama "**planètico**" o "**planèico**". Sull'astigmatismo, più che la forma delle lenti, influisce la posizione del diaframma e, inoltre, una lente

divergente mostra un astigmatismo di segno opposto di una convergente, da cui l'utilità di aumentare il numero delle lenti, con tutte le controindicazioni del caso (§ 17).

Non è difficile avere una misura approssimata dell'astigmatismo, apprezzando la lunghezza delle focaline a mezzo di un micrometro oculare. Si partirà dall'osservazione di una centrica collo star test (§ 18.4).

13.3 - CONSIDERAZIONI GENERALI sulle ABERRAZIONI del PUNTO

Abbiamo classificato tali aberrazioni in due gruppi:

1) Cromatiche (longitudinale e laterale) dipendenti dalla lunghezza d'onda, e

2) Acromatiche, che si presentano anche con radiazione monocromatica (sferica, coma, astigmatismo) ma che possono variare a seconda del valore di λ.

Ebbene, è utile in pratica distinguerle in altro m odo, ancora in due gruppi :

1) **Aberrazioni assiali**, che si presentano su tutto il campo oltreché sull'asse (cromatica longitudinale e sferica). Sull'asse, per ragioni di simmetria, se il sistema è centrato, il cerchio di confusione deve essere circolare, simmetrico rispetto all'asse. Ecco perché abbiamo detto che un cerchio di confusione allungato al centro del campo (per coma o astigmatismo) è sempre dovuto ad un difetto di simmetria nel sistema (errore di forma, di centratura o di allineamento). Le aberrazioni assiali si possono chiamare anche **simmetriche**.

2) **Aberrazioni extra-assiali**, che non si presentano in asse (cromatica laterale, coma, astigmatismo). Esse danno sempre un cerchio di confusione non circolare e per questo si chiamano anche "asimmetriche". La loro assenza sull'asse implica che un obbiettivo con piccolo campo (cannocchiale, binocolo, ecc.) è sufficiente che sia corretto solo di cromatica longitudinale e di sferica.

Comunque sia, l'effetto globale di tutte le aberrazioni del punto è quello di produrre, per ogni punto oggetto, un'immagine allargata, il **cerchio di confusione**, circolare sull'asse, allungato fuori asse. Ed abbiamo già detto che tale cerchio danneggia sia la risoluzione che il microcontrasto.

Lo scopo del progettista sarà allora di ridurre il più possibile il diametro di tale cerchio. Ed infatti, col passare degli anni, le cose migliorano, sia per la disponibilità di vetri ottici con caratteristiche sempre più favorevoli, sia per lo sviluppo dei mezzi di calcolo automatico, che non solo abbreviano i tempi di calcolo, ma consentono soluzioni sempre più raffinate ed ottimizzate.

Inoltre, il calcolatore (il progettista) di obbiettivi da microscopio gode di un grande vantaggio: quello di lavorare su sistemi di piccole dimensioni. Infatti, il diametro del cerchio di confusione è proporzionale, a parità di ogni altra condizione, alle altre dimensioni lineari del sistema, come la focale e le coniugate. Pertanto, un obbiettivo da microscopio, che ha una coniugata immagine di circa 150 mm, ha un cerchio di confusione, a parità di correzione e di apertura lato immagine, 10 volte più piccolo di un obbiettivo da cannocchiale con focale, ad es. di 1˙500 mm.

Altre condizioni facilitano l'ottimizzazione dell'obbiettivo del microscopio dal punto di vista delle aberrazioni e lo rendono assai più corretto di ogni altro tipo di obbiettivo (ad es. fotografico): •• l'ingrandimento è fisso; •• l'apertura è fissa; •• il campo angolare è piccolo; •• le dimensioni delle lenti sono piccole e facilitano l'uso di materiali rari e costosi come la fluorite; •• le piccole dimensioni delle lenti riducono gli effetti dannosi delle inevitabili

disomogeneità dei vetri ottici (vedi anche il § 19.2).

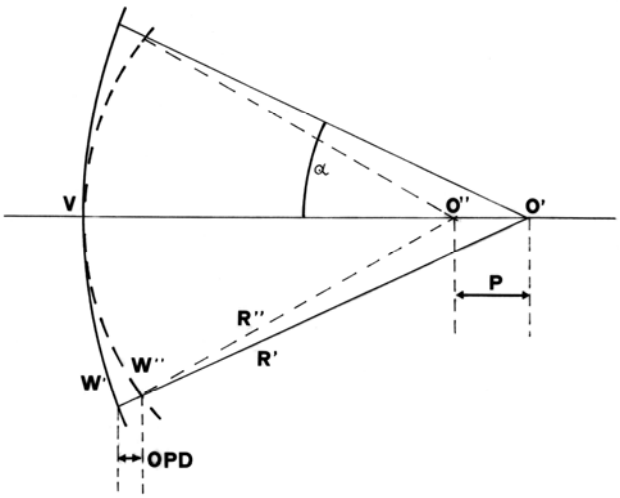
Ma, a parte le difficoltà pratiche ed economiche, ha senso tendere senza fine alla diminuzione del diametro del cerchio di confusione?

No. Infatti ogni sistema ottico, anche supponendo di annullare l'effetto delle aberrazioni, non produce mai un'immagine puntiforme di un punto oggetto poiché sopravviene un fenomeno basilare, la diffrazione, legato alla natura ondulatoria della luce, e quindi non eliminabile. Di ciò parleremo nel § 18.3, ma intanto si può dire che è inutile ridurre il cerchio di confusione al di sotto della "**figura di diffrazione**". Nei sistemi con focale lunga (obbiettivi fotografici, da cannocchiale, ecc.) ciò avviene solo con grande difficoltà ed in casi particolari; invece nel microscopio, in virtù dei citati vantaggi, è assolutamente normale, per cui l'ottica del microscopio si può definire "limitata dalla sola diffrazione" ("**diffraction limited**"). Fra gli altri obbiettivi, solo certi tipi a corta focale per macrofotografia, gli obbiettivi speciali per la foto-litografia, ecc. possono avvicinarsi a questo limite.

13.4 - L'ABERRAZIONE d'ONDA

Semplificando molto, accenniamo qui ad un altro modo di considerare le aberrazioni del punto.

Come si è detto nel § 2.3, in un mezzo omogeneo ed isotropo il raggio ottico è sempre perpendicolare alla superficie d'onda. Consideriamo ora la fig. 47 al § 14 (riportata a fianco), che useremo per illustrare altri fenomeni. In essa è raffigurata un'onda sferica (W') che emerge da un sistema ottico convergente (non rappresentato) e va a formare un'immagine puntiforme in O' che è il suo centro. Dunque in O' , secondo quanto si disse nel § 2.3, convergono tutti i raggi come R', che sono perpendicolari a W'.



Un sistema privo di aberrazioni (a parte la diffrazione di cui si dirà poi) produrrebbe un'onda W' esattamente sferica. In presenza di aberrazioni, l'onda si discosta dalla forma sferica; se si immagina l'onda aberrata (W", in tratteggio) con il punto centrale V in comune con l'onda ideale sferica (W'), per ogni valore dell'apertura del fascio si può misurare la distanza fra le due onde e la legge di variazione di questa distanza. È questa la "aberrazione d'onda". La distanza medesima si può esprimere in lunghezze d'onda, e quando il suo valore non supera $\lambda/4$, si considera il sistema come "**otticamente perfetto**".

Si esprime così un'aberrazione del punto in funzione della forma dell'onda che converge in un punto immagine.

13.5 – RIMEDI CONTRO le ABERRAZIONI

Naturalmente non parliamo qui degli accorgimenti che si attuano in sede di progetto, ma delle (poche) operazioni a disposizione dell'utilizzatore per migliorare le prestazioni del proprio strumento.

a) Distorsione: non vi è rimedio. Per attenuare gli errori che essa comporta durante le misure di lunghezze sull'oggetto, non c'è che lavorare nella regione più centrale possibile del campo ed eventualmente cambiare obbiettivo e/o oculare.

b) Curvatura di campo. Vale lo stesso discorso fatto per la distorsione, ma col vantaggio che una chiusura del diaframma d'apertura (del condensatore) porta un aumento della profondità di fuoco (vedi il § 14) e questo attenua gli effetti della curvatura. Si dirà a suo tempo però quali sono gli inconvenienti di quella chiusura.

Raramente certi oculari possono ridurre la curvatura di campo di un obbiettivo (oculari fotografici divergenti); se sono convergenti, generalmente a spese dell'astigmatismo.

c) Aberrazione cromatica longitudinale. Il diametro del cerchio di confusione diminuisce chiudendo il diaframma d'apertura, con la stessa riserva appena citata. Tale aberrazione dipende molto dalla combinazione dei sistemi ottici (obbiettivo, oculare, sistemi intermedi), come diremo nel § 19.3. Nei casi più ribelli, specialmente cogli obbiettivi acromatici o di bassa correzione, giova un filtro verde, magari del tipo interferenziale a banda medio-stretta, capace di eliminare le regioni estreme dello spettro ottico. Nella fotografia in B - N, tale filtro non fa danni, ma è ovviamente intollerabile nella fotografia a colori, e non è gradevole nell'osservazione visuale; esso può anche produrre variazioni di contrasto indesiderate con oggetti colorati.

d) Cromatica trasversale. La larghezza delle frange colorate prodotte da quest'aberrazione NON dipende dall'apertura del diaframma. Viene quindi a mancare questa possibilità d'intervento. Più della longitudinale, la cromatica laterale è sensibile all'accoppiamento obbiettivo-oculare (vedremo più avanti qualche criterio di scelta) ed alla presenza di sistemi intermedi. Rimane valida l'opportunità dell'uso di filtri verdi.

e) Sferica. Si è già visto quali sono i fattori influenti, alla portata dell'utilizzatore: lunghezza del tubo (eventualmente, regolazione del tubo bioculare) - regolazione degli "obbiettivi a correzione" - spessore della lamella. Anche qui, l'aberrazione è molto sensibile all'apertura del condensatore. L'uso di filtri può essere utile in quanto l'andamento della sferica dipende da λ (si parla di "sfero-cromatica") ed in tutti gli obbiettivi la sferica è meglio corretta nelle regioni centrali dello spettro ottico. Si consiglia quindi, in caso di dubbi, un filtro verde.

f) Coma ed astigmatismo. Si può intervenire solo regolando l'apertura del condensatore. Raramente si può tirare in causa l'oculare (attenzione agli oculari a grande campo e "fotografici"!).

Se queste due aberrazioni si presentano anche al centro del campo, occorre ricentrare e/o riallineare l'obbiettivo ed eventualmente qualche sistema intermedio, e questo è possibile in genere solo riguardo alla coma (vedi i §§ 13.2.4 e 19.5.2).

14 - LA PROFONDITÀ DI CAMPO

Anche questo argomento si può trattare, in prima approssimazione, con i criteri di ottica geometrica utilizzati finora, cioè considerando quelle entità astratte che sono i "raggi" ottici.

La "profondità" è quella proprietà dell'immagine, ottenuta da un sistema ottico, di mostrare a fuoco, senza alterare le regolazioni dello strumento, molti piani paralleli dell'oggetto, compresi in un certo spessore e perpendicolari all'asse. Quello spessore è la "**profondità di campo**". In questo contesto si ignora la curvatura di campo del sistema e si suppone l'immagine piana.

Il termine "profondità di campo" è mutuato dalla fotografia, e si riferisce alla profondità che appare simultaneamente a fuoco nel campo oggetto. Però si può parlare di "**profondità di fuoco**" come profondità nello spazio immagine entro la quale l'immagine è accettabilmente a fuoco (con posizione fissa dell'oggetto, che in questo caso si suppone piano, senza spessore). Il termine "profondità di fuoco" è giustificato dal fatto che l'immagine fotografica si trova nel o presso il fuoco. Ma in microscopia l'oggetto si trova presso il fuoco e l'immagine lontana dal fuoco, esattamente il contrario di ciò che avviene in fotografia. Per questo i termini "profondità di fuoco" o "di campo" sono equivoci ed è meglio dire "**risoluzione assiale**" o "longitudinale" o "**penetrazione**", generalmente con riferimento allo spazio oggetto.

La penetrazione si distribuisce in parti circa uguali da una parte e dall'altra della posizione di miglior fuoco. Consideriamo la fig. 46; per semplicità, trattiamo dello spazio immagine: Ob è un obbiettivo che produce in O' l'immagine di un punto oggetto O (dovunque questo si trovi). In fig. 46 A, l'obbiettivo è usato a piena apertura, in B vi è un diaframma Da che riduce fortemente l'apertura. Ebbene, sappiamo che, a causa della aberrazioni o dei loro residui, l'immagine O' non è priva di dimensioni, non è un "punto", ma si presenta come un "cerchio di confusione" di dimensioni finite. A questo si aggiunge la "figura di diffrazione" di cui parleremo oltre. Comunque, consideriamo O' come la più piccola immagine possibile di un punto oggetto, cioè come la minima sezione possibile del fascio che emerge dalla lente Ob . Ebbene, se noi raccogliamo l'immagine su uno schermo S o S', perpendicolare all'asse, che disti da Ob più o meno di O', la sezione del fascio, e quindi il diametro dell'immagine, aumenta; è come dire che abbiamo un'immagine sfocata.

Intanto si può intuire dalla figura quanto detto sopra: che la "sfocatura", o il diametro del cerchio di confusione, aumentano simmetricamente ai due lati della posizione di miglior fuoco (O'), ovvero hanno lo stesso valore sugli schermi S ed S' se questi ultimi distano da O' della stessa misura. Chiamiamo P questa distanza; essa si può identificare col concetto di "profondità di fuoco" o di "penetrazione" purché le immagini sfocate che otteniamo in S ed S' in luogo di O' si possano considerare "accettabilmente a fuoco"[55] come detto sopra. Il concetto e la misura della penetrazione P sono dunque legati a quello di sfocatura "accettabile" e questo è legato all'uso che si intende fare di quell'immagine ed a valutazioni soggettive.

In campo fotografico, si ammette che il diametro **c** del cerchio di confusione causato dalla sfocatura non debba superare un millesimo della focale **f** dell'obbiettivo in uso:

$$c = f / 1000 \qquad (33)$$

[55] Nel caso della figura 46 ci riferiamo allo spazio immagine.

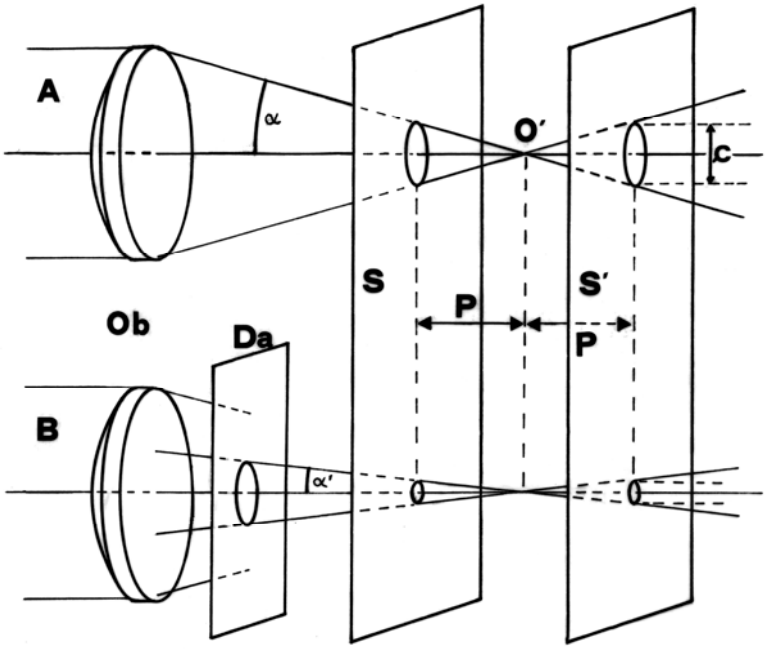


Fig. 46

Da questo dato, evidentemente soggettivo, si possono ricavare dei valori della penetrazione P con le formule che seguono. Ma prima occorre precisare:

◊◊ Dalla fig. 46 è evidente che i valori di P vanno intesi con segno + e - nel senso che il piano immagine può essere spostato di una distanza P in un senso o nell'altro rispetto al piano di miglior fuoco su cui giace O'.

◊◊ Dalla (22) (§ 5.2.5) è noto che, a certe condizioni, $f_{\#} = \frac{1}{2\,NA}$ e $NA = \frac{1}{2\,f\#}$

per cui i valori $f_{\#}$ ed NA si possono scambiare; in fotografia si usa in genere il valore $f_{\#}$ (apertura relativa), mentre in microscopia si usa il valore NA (apertura numerica).

◊◊ Tutte le misure lineari usate nelle formule di questo capitolo (P, c, λ, ecc.) vanno espresse con la stessa unità di misura.

Ora, a seconda dei vari autori, la penetrazione P viene calcolata in vario modo. Ecco le principali formule:

$$P = c \cdot f_{\#} = c / 2\,NA \qquad (34)$$

In questa formula, che è semplificata, si ignora il valore della lunghezza d'onda λ , che si suppone al centro dello spettro ottico; **c** è il massimo diametro tollerato del cerchio di confusione (vedi la (33)).

La formula (34) si può ricavare con semplici considerazioni trigonometriche sulla fig. 46:

$$c / 2 = P \cdot tg\alpha \approx P \cdot sen\,\alpha = P \cdot NA$$

I valori di NA o $f_{\#}$ esprimono l'apertura dell'obbiettivo lato immagine. Se si vuole applicare la (34) dal lato dell'oggetto, basta ricordare che le aperture di un sistema che produce un'immagine reale si possono indicare con NA (lato oggetto) ed NA' (lato

immagine) ed il loro rapporto è pari ad M (ingrandimento lineare trasversale)(vedi la (23) nel § 5.2.5):

$$\frac{NA}{NA'} = M \qquad (23)$$

naturalmente, anche **c** andrà riferito al lato oggetto.

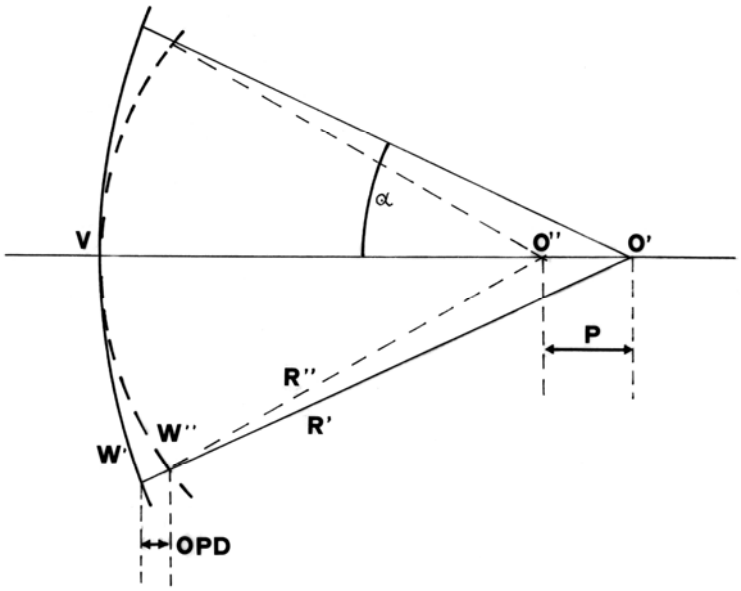


Fig. 47

Si veda ora la fig. 47 : sia W' l'onda (sferica se il sistema è privo di aberrazioni) che emerge da un sistema ottico e converge verso un punto immagine O' giacente sull'asse. Sono disegnati a linea intera due raggi (R') che corrispondono alla massima apertura (α) del fascio convergente in O'. Si supponga ora di voler raccogliere l'immagine su un piano (perpendicolare all'asse) che passa per il punto O", distante da O' di una lunghezza P, che ha il significato di una "sfocatura". Naturalmente l'immagine O', su questo piano spostato, si è allargata e corrisponde alla sezione retta di un cono che ha l'asse coincidente con l'asse ottico del sistema (V - O') e la base in W'. Queste considerazioni sono ovviamente di natura solo geometrica e trattano raggi ed onde come entità geometriche; in questo approccio allora si può supporre che il nostro sistema ottico sia privo di aberrazioni, che l'onda W' sia sferica, che O' sia un punto, e che l'immagine in O" sia un cerchio. Vedremo che molti problemi ottici, non solo quello della penetrazione, debbono tener conto dei fenomeni di diffrazione (vedi il § 18.3), ma le formule cui vogliamo arrivare possono per ora venir comprese ed applicate con un approccio semplicemente geometrico.

Torniamo dunque all'immagine "sfocata" in O" . Se essa fosse a fuoco, ed O" fosse un punto, ad essa corrisponderebbe un'altra onda sferica (W") con centro in O"; i raggi tratteggiati come R" sarebbero ancora i suoi raggi marginali. Ebbene, fra l'onda convergente in O' (W') e la nuova onda W" vi è una certa distanza, che cresce dal centro (V) alla periferia ed assume lì il massimo valore (a piena apertura) indicato con OPD (**Optical Path Difference**). È evidente che R" è minore di R' , supponendo di non variare l'indice **n** del mezzo ottico in cui si muove l'onda W' . Per l'esattezza, occorre fare i calcoli supponendo che W' e W" si tocchino sull'asse, nel punto V. Si può dimostrare che :

$$OPD = (n P \, sen^2\alpha) / 2 \qquad (35)$$

Ora, invece di calcolare il limite della penetrazione, cioè della sfocatura ammissibile (P) in base al diametro del cerchio di confusione ammissibile (**c**), si può stabilire il limite di P in base ad un limite della OPD . Di solito, si accetta per questo limite il "**criterio di Lord Rayleigh**"[56], secondo cui la OPD non deve superare $\lambda/4$. Allora, ponendo

$$OPD = (n P \operatorname{sen}^2\alpha) / 2 = \lambda/4 \quad \text{si ha:}$$

$$P' = 2\lambda / (4 n' \operatorname{sen}^2\alpha') = n' \lambda / (2\ n'^2 \operatorname{sen}^2\alpha') = n' \lambda / (2 NA'^2) \qquad (36)$$

In questa formula, **n** e λ hanno il solito significato, NA = n sen α (apertura numerica, vedi il § 5.2.5). Se pensiamo alla fig. 47, tutto il discorso si riferisce allo spazio-immagine, e così NA ; perciò i simboli di P, n, α ed NA andrebbero usati con l'apice (P ' , n ' , ecc.).

Se vogliamo applicare la (36) ad un obbiettivo fotografico od astronomico dove si esprime l'apertura con $f_{\#} = 1/2NA$ e dove n = 1 , si può scrivere:

$$P' = 2\lambda f_{\#}^2 \qquad (37)$$

sempre supponendo di ignorare gli effetti delle aberrazioni, della diffrazione, ecc.

Se si vuole applicare la (36) lato oggetto, si ricordi quanto detto a proposito della (34) o quanto si dice sotto, a proposito della (38).

La (36) definisce dunque la penetrazione P ' in base ad un criterio fisico, ma il limite per OPD è ancora convenzionale. Esso però è in buon accordo con un altro criterio usato per giudicare delle alterazioni dell'immagine di un oggetto puntiforme: è il "**criterio di Strehl**". Anche qui, occorrerebbe tener conto dei fenomeni di diffrazione, ma per ora ci basti questo: consideriamo l'immagine (per es. O' in fig. 47) di un oggetto puntiforme e l'intensità massima al centro di tale immagine, ottenuta nelle condizioni di miglior fuoco da un certo sistema ottico. Poi misuriamo l'intensità al centro della medesima immagine dopo una sfocatura (P in fig. 47); se quest'ultima intensità non è inferiore all' 80 % di quella ottenuta in condizioni di miglior fuoco, si suppone la sfocatura "accettabile". Il limite dell' 80% si riferisce al fatto che, con la sfocatura, l'energia che concorrerebbe nell'immagine a fuoco si distribuisce sulla maggior superficie dell'immagine allargata O" e pertanto l'intensità massima al centro dell'immagine deve diminuire. Si tratta ancora di un limite convenzionale che però porta di nuovo ad una OPD di circa $\lambda/4$.

Si noti anche che il limite di $\lambda/4$ per la sfocatura (espressa come OPD) è lo stesso considerato nel § 13.4 per definire la soglia massima accettabile per le aberrazioni del punto, espresse come "aberrazione d'onda".

Il valore di P ' dato dalla (36) o (37) è derivato da considerazioni esclusivamente geometriche ed è valido per sistemi ben corretti e per quelle immagini che vengono proiettate su uno schermo fisso, come un'emulsione fotografica. La P ' delle formule (36) o (37) si può quindi considerare come **componente fotografica** della penetrazione ed indicare con Pf' . Questo valore di Pf' indica dunque di quanto si può spostare lo schermo rispetto al piano di miglior fuoco, da un lato o dall'altro, prima di avere un degrado apprezzabile dell'immagine. Lo spazio di manovra è quindi 2 Pf' . Questo valore si può trasportare dal lato oggetto, in modo da esprimere di quanto si può spostare assialmente l'oggetto (con posizione fissa dello schermo su cui si raccoglie l'immagine) prima di avere lo stesso degrado dell'immagine.

In microscopia, la penetrazione lato oggetto indica quale spessore dell'oggetto si può

[56] John William Strutt RAYLEIGH (pron. Rèili), fisico inglese (1842-1919).

vedere simultaneamente a fuoco, essendo fissa la posizione dell'immagine intermedia. Il rapporto fra la penetrazione lato immagine e lato oggetto si può semplicemente calcolare ricordando la (28) al § 12.4. Se vi è ingrandimento M < 1 (come nella normale fotografia), la Pf' calcolata dal lato immagine sarà divisa per M^2 per ricavare la Pf lato oggetto, che sarà maggiore di Pf' :

$$Pf = \frac{Pf'}{M^2} \tag{38}$$

Se la distanza dell'oggetto è molto grande, la (38) perde di validità ed entra in gioco il concetto di "**distanza iperfocale**" (distanza di messa a fuoco nominale tale che dalla metà di essa fino all'infinito ogni oggetto appare a fuoco). Ma questo esula dal nostro argomento, poiché riguarda la fotografia di panorami.

La (38) vale anche in microscopia, dove M > 1 , ma conviene esprimerla in funzione di NA (dell'obbiettivo, cioè lato oggetto) poiché questo è un dato sempre noto. Si ricordi la (23) nel § 5.2.5 (NA/NA' = M) e la (36) in cui NA si riferisce al lato immagine e va quindi indicata con NA':

$$Pf = \frac{Pf'}{M^2} = \frac{n\,\lambda}{2\,NA'^2 \cdot M^2} = \frac{n\,\lambda}{2\,NA'^2} \cdot \frac{NA'^2}{NA^2} = \frac{n\,\lambda}{2\,NA^2}$$

Questa volta Pf , **n** ed NA si riferiscono allo spazio oggetto ed ovviamente a queste condizioni anche la (36) si applica allo spazio oggetto.

Per l'uso pratico, diamo qui di seguito una tabella di valori:

TABELLA I

NA_{obb} lato oggetto	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	1,0	1,2
Penetrazione lato oggetto in μ (2 Pf)	55	14	6	4	2,5	1,6	0,9	0,8	0,6

Questi valori possono sembrare molto modesti, ma si ricordi che sono ricavati, tramite la (36), da un criterio puramente geometrico; nei sistemi reali vi sono molti fattori (aberrazioni, diffrazione, difetti costruttivi del sistema, polvere, vibrazioni, "grana" delle emulsioni fotografiche, sfocature, ecc.) in base ai quali l'immagine globale di un punto oggetto è sempre notevolmente più grande di quella geometricamente calcolabile; pertanto, la tolleranza sulla sfocatura è molto maggiore di quella indicata in tabella.

14.1 - L'EFFETTO dell'OCCHIO

Il valore di Pf' o di Pf , la penetrazione, ricavato dalla (36), si applica ad un'immagine reale raccolta su uno schermo fisso, come una pellicola fotografica.

Ma nell'osservazione visuale occorre aggiungere due componenti, l'una (Pr) dovuta al limitato potere risolutivo dell'occhio, l'altra (Pa) al potere di accomodazione del medesimo, per cui la penetrazione si esprime con un valore globale Pt pari a:

$$Pt = Pf + Pr + Pa \tag{39}$$

◊◊ Componente Pr .

Dire che l'occhio umano ha un potere risolutivo limitato è come dire che, per ogni punto immagine (supposta un'immagine ideale formata dal microscopio) si forma sulla retina o nella rappresentazione psichica della visione un "cerchio di confusione" o comunque un'immagine di dimensioni non nulle. Tale "cerchio" si somma dunque a quello dovuto ad un'eventuale sfocatura nel sistema ottico che fornisce l'immagine virtuale all'occhio. I rispettivi valori di penetrazione, Pr e Pf , andranno dunque sommati anch'essi fra di loro.

Un calcolo di Pr deve necessariamente basarsi su un valore di risoluzione convenzionale, corrispondente all'occhio "medio", e vi è disparità di pareri fra i vari autori che si sono interessati all'argomento. Comunque, una formula utile può essere la seguente (riferita al lato oggetto):

$$Pr = \frac{0{,}34 \cdot n}{NA \cdot V} \tag{40}$$

in cui **n** è l'indice del mezzo lato oggetto e V è l'ingrandimento visuale del microscopio. Il fattore V non compariva nella (36) per il valore di Pf' poiché su quest'ultimo influisce solo l'apertura lato immagine (o lato oggetto per Pf); Pf e Pf' si applicano solo all'obbiettivo. Ora invece occorre tener conto anche dell'oculare attraverso cui si osserva, e quindi di V. Si noti che Pr nella (40) è espresso in mm.

◊◊ Componente Pa .

Poiché l'occhio "accomoda", cioè può variare la potenza dei suoi mezzi rifrangenti e quindi "mettere a fuoco", è chiaro che in questo modo l'occhio può compensare in parte o totalmente un'eventuale sfocatura del microscopio. Questo effetto si somma con la penetrazione e perciò, nell'espressione di Pt (vedi la (39)), abbiamo aggiunto il fattore Pa, che può diventare importante a piccolo ingrandimento. Infatti si può scrivere (riferendoci al lato oggetto):

$$Pa = \frac{n \cdot 250}{V^2} \tag{41}$$

in cui i simboli sono gli stessi della (40).

Questa formula semplificata è valida per un occhio emmetrope di una persona di mezz'età, in cui il punto remoto è all'infinito ed il punto prossimo (distanza minima della visione distinta) si trova a 250 mm dall'occhio stesso.

A titolo indicativo, diciamo che Pa è inferiore ad 1 μ per $V \geq 450\times$, inferiore a 0,3 μ per $V \geq 1{\cdot}000\times$, ma sale a 25 μ per $V = 100\times$ ed a 150 μ per $V = 40\times$.

Il **valore minimo** di Pt si ha ovviamente cogli obbiettivi di massima apertura e nella fotografia, dove Pr e Pa non hanno effetto; si ha in quelle condizioni:

$$Pt = Pf = 0{,}4\ \mu$$

Nelle formule (34), (36) e (40), il valore di NA (o NA') è quello dell'obbiettivo; ma può anche accadere che l'apertura del condensatore, o per sue caratteristiche costruttive, o per chiusura del diaframma d'apertura, o per errata regolazione, sia inferiore a quella dell'obbiettivo. Nel calcolo di P è quindi bene introdurre un valore di NA pari alla media dei due valori dell'obbiettivo e del condensatore, almeno finché i due valori non sono troppo diversi. In questo modo si spiega perché la chiusura del diaframma

d'apertura aumenti la penetrazione del microscopio.

Si noti anche che il valore di Pf', applicato all'immagine intermedia del microscopio, indica la tolleranza nella posizione longitudinale dell'oculare, con oggetto fisso ed infinitamente sottile. Per dare un esempio, un obbiettivo 10:1 con NA = 0,25, ha una Pf' di 880 μ = 0,88 mm; un obbiettivo 100:1 con NA = 1,3 ha una Pf' di 5 mm. Quindi è chiaro che sollevando l'oculare si perde la messa a fuoco per spostamenti di qualche mm con gli obbiettivi forti e di meno di 1 mm con quelli deboli.

Per concludere, si ricordi che nell'osservazione visuale è sempre possibile esplorare la profondità dell'oggetto azionando la messa a fuoco del microscopio con le apposite manopole; per questo non ha in genere molto senso il calcolare la penetrazione complessiva Pt . Invece è sempre bene conoscere il valore di Pf in fotografia.

Quando l'oggetto è spesso, può essere utile disporre di un valore elevato di Pf per fotografare simultaneamente a fuoco molta parte dell'oggetto stesso; a questo fine si può chiudere il diaframma d'apertura del condensatore, come già detto, oppure scegliere obbiettivi di apertura minore; solo in rari casi (vedi il § 19.2.6) l'obbiettivo contiene un diaframma d'apertura.

Se l'oggetto è molto sottile (striscio) e l'obbiettivo non è corretto della curvatura di campo, si vede a fuoco solo una parte del campo; questa parte si allarga se si può aumentare la penetrazione con i mezzi appena citati (vedi anche il § 13.1.1).

D'altra parte, una piccola penetrazione può essere utile: per misure di spessore all'interno dell'oggetto (vedi il § 12.3), oppure per visualizzare un solo piano definito all'interno di un oggetto spesso; si usa in questo senso il concetto di "**sezione ottica**" (si vede a fuoco solo una sottile fetta dell'oggetto).

Per aumentare P è comunque necessario diminuire la NA, con tutte le conseguenze relative (diminuzione di illuminazione nell'immagine, aumento del contrasto, perdita di risoluzione, come vedremo). E ricordiamo anche che, se la penetrazione può scendere a valori di 0,4 μ, come detto sopra, ciò indica anche il massimo valore per l'instabilità della struttura meccanica dello strumento, cioè per le variazioni della distanza oggetto-obbiettivo; cause di queste variazioni possono essere i "giochi" nei movimenti di messa a fuoco, le vibrazioni e le flessioni elastiche dei supporti. Ma nessun strumento reale riesce ad essere rigido fino a questo punto; toccando il tavolino o il tubo porta-oculari con le mani, quando è inserito un obbiettivo forte, si ha immancabilmente una perdita di fuoco.

15 – La PERCEZIONE

Abbiamo definito a suo tempo (e torneremo presto su questo punto) la risoluzione come proprietà di un sistema ottico di fornire un'immagine in cui sono distinguibili (in opportune condizioni) punti o linee o comunque elementi della struttura ottica dell'oggetto.

Misura della risoluzione è la distanza minima degli elementi dell'oggetto (o dell'immagine) che si possono ancora percepire come distinti.

Ma ora poniamoci il problema: quali sono le dimensioni minime di un oggetto isolato (un dischetto o una linea, per es.) che si può percepire in mezzo ad un campo omogeneo nell'immagine dàtane da un sistema ottico, indipendentemente dalla sua struttura? Tali dimensioni minime misureranno la capacità di "**percezione**" di quel sistema.

Si vede dunque che la percezione riguarda solo la visibilità di un singolo oggetto ed è quindi ben diversa dalla risoluzione, che riguarda la possibilità di separare oggetti vicini.

Supponiamo per semplificare le cose che l'oggetto sia piano e perpendicolare all'asse, che la sua luminosità sia nulla, che la luminosità del fondo circostante sia omogenea ed adatta alla sensibilità del recettore usato (occhio, emulsione fotografica, fotocellula, ecc.), che l'oggetto abbia margini netti e sia isolato nel campo oggetto, che la sua immagine sia formata in condizioni di miglior fuoco, di migliore messa a punto del sistema, ecc.

Ora, non consideriamo con queste premesse un oggetto luminoso su fondo scuro: infatti, quali che siano le sue dimensioni, esso sarà sempre visibile o fotografabile, cioè percepibile, purché sia sufficientemente luminoso: è solo questione di energia. Occupiamoci invece di oggetti opachi su fondo chiaro.

Inoltre, consideriamo non sistemi ottici ideali (capaci di dare un'immagine geometricamente perfetta dell'oggetto), ma sistemi reali in cui, ad ogni punto oggetto, corrisponde un "cerchio di confusione" per via delle aberrazioni, diffrazione, difetti costruttivi del sistema, ecc. Infatti, se il sistema fosse ideale, basterebbe ingrandire a sufficienza, e l'immagine di un oggetto comunque piccolo diverrebbe percepibile. La percezione sarebbe solo funzione dell'ingrandimento: osservando un sassolino ad es., si potrebbero vedere anche i suoi elettroni, quark, e così via. Nei sistemi reali, invece, un oggetto molto piccolo produce sempre un'immagine circondata da un cerchio di confusione: l'immagine geometrica viene per così dire "diluita" nel cerchio di confusione ed il contrasto, quindi la percezione, si abbassa (vedi sotto).

Diciamo anche che la percezione si può esprimere in valori lineari, per es. diametro minimo dell'oggetto percepibile; nell'osservazione diretta, ciò ha senso solo se si definisce la distanza dell'oggetto. Altrimenti, si può definire l'angolo minimo sotto cui deve apparire il più piccolo oggetto percepibile, visto dal centro del sistema ottico in esame.

Per l'occhio umano "medio" si possono accettare questi limiti di percezione:

◊◊ Per un disco nero : 30 μ di diametro a 250 mm di distanza, pari a 25".

◊◊ Per una linea nera : < 5 μ di larghezza a 250 mm, pari a < 4"

In un microscopio, per un disco, si ha un diametro minimo di:

$$d = 0{,}12\ \lambda/NA \qquad (42)$$

Per una linea, la larghezza minima percepibile è all'incirca:

$$\ell = 0{,}01\ \lambda/NA \qquad (43)$$

Con i più forti obbiettivi da microscopio (con NA = 1,4), si ha d = 0,045 μ ed ℓ = 0,0038 μ, sempre riferiti al piano oggetto. Nelle stesse condizioni, il limite di risoluzione é circa 0,22 μ. Si noti che in queste formule compare solo λ ed **NA** , cioè si suppone un sistema ben corretto, limitato dalla sola diffrazione. I valori indicati, come pure quelli per la risoluzione, rappresentano quindi un limite superiore che può essere sempre peggiorato da difetti dello strumento, errori di messa a fuoco, ecc.

Si può dunque percepire un oggetto assai più piccolo del potere risolutivo. In altre parole, possiamo percepire la presenza di un piccolo oggetto senza "risolverlo", cioè senza poter osservare se ha una struttura interna, se è fatto di diversi punti vicini, se ha una certa forma o un'altra, ecc.

Il fatto che la percezione abbia un limite che non si può superare neppure ingrandendo l'immagine con mezzi supplementari (un oculare forte, ad es.), dipende dalla presenza del "cerchio di confusione", quale ne sia la causa. Infatti, per un dato sistema ottico reale, diminuendo le dimensioni dell'oggetto, si arriva al punto in cui l'immagine geometrica di esso diviene più piccola del cerchio di confusione; riducendo ulteriormente le dimensioni dell'oggetto, l'unico risultato che si ottiene è che l'immagine diventa sempre più pallida senza diminuire di dimensioni: il diametro del cerchio di confusione dipende infatti dalle caratteristiche geometriche ed ottiche del sistema, dalla diffrazione, ecc. e tali fattori sono costanti. Alla fine, il cerchio di confusione diviene invisibile non perché è diventato troppo piccolo, ma troppo pallido, cioè per ragioni fotometriche.

Il valore di NA nelle (42) e (43) va inteso come NA dell'obbiettivo nel caso che la NA del condensatore abbia un valore molto simile ad essa. In caso contrario, come già accennato e come vedremo meglio parlando di risoluzione, si può a molti fini pratici calcolare la media aritmetica dei due valori di NA . Se questi sono troppo diversi, il calcolo diventa più complesso.

16 - L' IMMERSIONE

Anche per questo argomento, può bastare un approccio ottico-geometrico, in attesa di parlare di ottica ondulatoria.

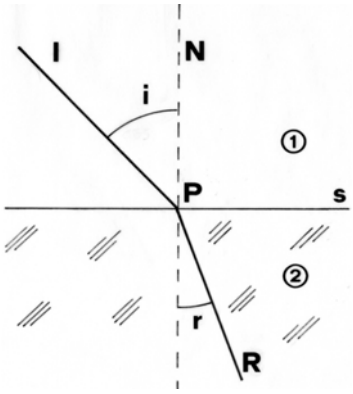
Per "**immersione**" si intende la presenza di un liquido nello spazio che separa due parti di un sistema ottico.

In microscopia, è spesso "immerso" l'oggetto quando è "montato" in una sospensione liquida fra porta-oggetto e lamella (sezioni, cellule, microrganismi, polveri, fibre) oppure quando il "**montaggio**" avviene in un liquido che indurisce col tempo ("Balsamo del Canadà" o suoi corrispettivi sintetici). In quest'ultimo caso però i liquidi usati hanno un indice simile a quello del vetro e l'oggetto risulta inglobato, dal punto di vista ottico, all'interno di una lamina trasparente a facce piane e parallele le cui facce esterne sono costituite dai due "vetrini".

Si può poi "immergere" l'obbiettivo, ponendo una goccia di liquido fra la sua lente inferiore ("**frontale**") e la superficie superiore del vetrino, oppure il condensatore, ponendo il liquido fra la superficie superiore del condensatore (della sua lente superiore, detta "frontale") e la superficie inferiore del preparato.

In molte delle formule usate finora, come la (21) sull'apertura numerica, la (36) o (40) o (41) sulla penetrazione, ecc., abbiamo visto comparire il fattore **n** come valore dell'indice di rifrazione del mezzo attraversato dalla radiazione, in particolare del mezzo che si trova fra obbiettivo ed oggetto.

Ma conviene ora essere più precisi, e ritorniamo alla fig. 3 (§ 2.3.1); se chiamiamo n_2 l'indice del mezzo (2) in cui penetra il raggio I, possiamo chiamare n_1 l'indice del mezzo (1); se poi (1) è l'aria ed $n_1 = 1$, non importa. A questo punto la legge di Snell (formula (6)) si può riscrivere così:



$\text{sen } i / \text{sen } r = n_2 / n_1$ da cui:

$n_1 \text{ sen } i = n_2 \text{ sen } r$ (44)

Ma, pensando alla (21), questa è l'espressione dell'apertura numerica NA. Quindi si conclude dalla (44) che **la rifrazione su una superficie piana non altera la NA**, ed il fattore **n** nella (21) e nella (44) tiene conto di ciò che succede alla superficie di separazione fra due mezzi trasparenti. Questo non sarebbe possibile usando i concetti di apertura angolare o relativa (§§ 5.2.3 e 5.2.4).

Ma vediamo cosa significa ciò nel caso di un obbiettivo da microscopio.

Si è già parlato a più riprese di obbiettivi "forti" con NA maggiore di 1. A suo tempo si fece osservare (§ 2.2.1) che **sen** α non può essere > 1, per cui, quando $NA = n \text{ sen } \alpha$ è > 1, non può che essere $n > 1$; è questo quanto avviene negli **obbiettivi "ad immersione"** in cui lo spazio oggetto è occupato da un liquido (con $n > 1$)

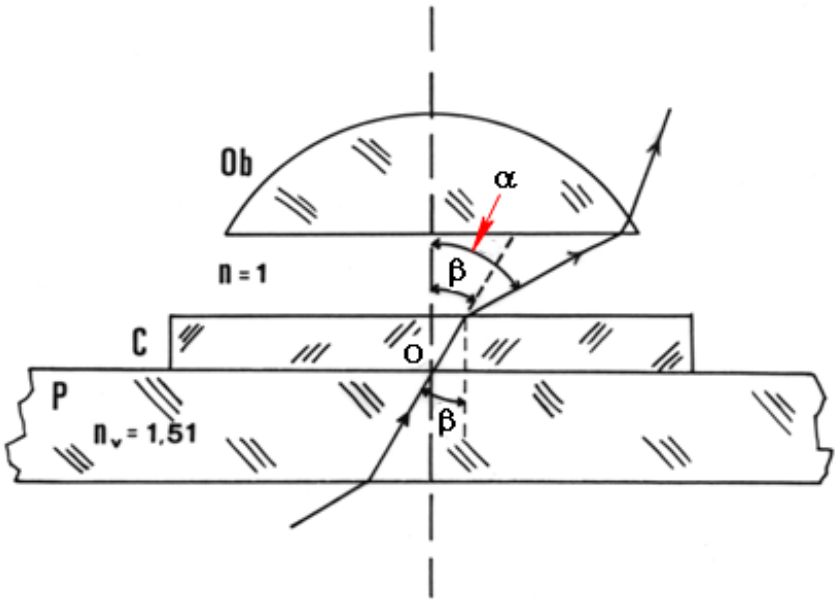


Fig. 48

Consideriamo la fig. 48 in cui si vede, in sezione, un obbiettivo o almeno la sua lente frontale (Ob), un preparato con portaoggetto (P) e lamella (C). Sia O un punto assiale dell'oggetto. Consideriamo un raggio marginale che proviene dal basso ed incide sulla superficie superiore della lamella con un angolo d'incidenza β. Se questo è un obbiettivo normale, fra lamella ed obbiettivo vi è aria, con n = 1, e l'obbiettivo si chiama "**a secco**". Dunque l'angolo di rifrazione sarà maggiore di β (α in figura) e potremo scrivere, in base alla (44):

$$n \text{ sen } \alpha = n_v \text{ sen } \beta$$

in cui n_v è l'indice che in genere si suppone comune a portaoggetti, oggetto e lamella ed **n** è pari ad 1 (aria).

Ebbene, anche se l'obbiettivo ha un'apertura angolare elevata, anche la massima possibile teoricamente (α = 90), l'apertura effettiva nell'oggetto (β) è minore, in misura tale che sen β = sen α / n_v. In teoria, l'angolo di massima apertura nello spazio oggetto (β) che l'obbiettivo riesce ad utilizzare è l'angolo limite (vedi la (7) al § 2.3.2); in pratica però l'obbiettivo non può aderire alla lamella ed occorre lasciare un certo spazio fra di essi, al di sopra della lamella stessa, per cui α è sempre inferiore a 90°; in pratica, la NA di un obbiettivo a secco non supera 0,95, ed α non supera mai 72°; così β (supposto n_v = 1,515 per i vetri normali) non supera 39°.

Guardiamo ora la stessa situazione in un obbiettivo ad immersione (fig. 49); è qui raffigurato il caso più comune della "**immersione omogenea**" in cui il liquido fra lente frontale (Ob) e lamella (C) ha lo stesso indice delle parti in vetro. Il mezzo complessivo oggetto-lamella-liquido-lente ha quindi un indice costante, non vi è più rifrazione, ed α = β. Così NA = n sen α potrebbe in teoria arrivare al valore di n_v = n_ℓ = 1,51 (in cui n_ℓ è l'indice del liquido d'immersione), supponendo α = 90° e sen α = 1 . In pratica, non si supera il valore di NA = 1,4 che corrisponde ad un angolo α di 68° circa, ma questo valore è ben superiore al limite di β = 39° degli obbiettivi a secco, come visto sopra.

Comunque, quando l'apertura NA di un obbiettivo supera 0,95, si può essere certi che esso è ad immersione. La stessa cosa si può dire di un condensatore. E di questo riparleremo (§ 21.5).

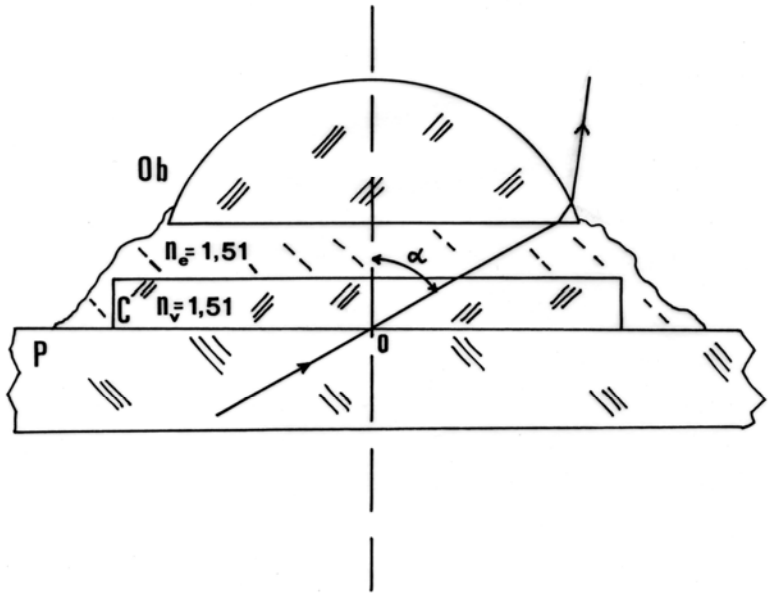


Fig. 49

16.1 - L'OLIO da IMMERSIONE

Torniamo ora all'immersione "omogenea" degli obbiettivi.

Riguardo all' "**olio da immersione**" si può ripetere quanto già detto della lamella: esso fa parte del sistema ottico formatore d'immagine e quindi le sue caratteristiche ottiche (indice, dispersione, trasparenza, omogeneità) debbono essere rigidamente controllate. Sono importanti anche altre sue caratteristiche fisiche (viscosità, tensione superficiale e quindi tendenza schiumogena, tensione di vapore e quindi tendenza ad evaporare di certi componenti e ad indurire di altri, solubilità nei solventi usuali {di solito, xilolo}, ecc.) e chimiche (tossicità, aggressività chimica verso le parti ottico-meccaniche del microscopio, ecc.). In fatto di tossicità, si vanno ora diffondendo gli olii "**PCB free**", cioè esenti da policlorurodifenili.

Oggi, gli olii normali da immersione sono di natura sintetica; ogni costruttore ne fornisce un tipo diverso, ed è otticamente dannoso usare l'olio di un certo fornitore con un obbiettivo di un altro. Gli olii naturali, come l'olio di legno di cedro, sono completamente in disuso perché tendono ad indurire e mostrano una certa fluorescenza propria.

Secondo le norme ISO (International Standards Organisation), n° 8036, l'olio da immersione "normale" deve avere per la linea D del sodio un indice $n_D = (1{,}515 \pm 0{,}0005)$ ed una dispersione[57] $\nu = (44 \pm 3)$ alla temperatura di $(23 \pm 0{,}1)$ °C.

Presso rari costruttori, il calcolo dell'obbiettivo prevede un olio con un indice non identico a quello del vetro; si ha così una **immersione quasi-omogenea**, che offre al progettista un ulteriore grado di libertà nel senso di disporre di un ulteriore parametro da variare per ottimizzare il calcolo. Naturalmente, con questi obbiettivi è più che mai necessario utilizzare solo l'olio previsto dal costruttore.

Come olio volatile, che non lascia residui, è stato proposto il benzoato di metile

[57] Per la dispersione ν si veda il § 13.2.1.

(n_D = 1,517); come surrogato, in mancanza di meglio, si può usare un miscuglio di olio di ricino (10 parti) ed essenza di garofano (14 parti), con n_D = 1,50.

In altri casi si possono esigere dall'olio altre caratteristiche: nella tecnica della fluorescenza, ad es., l'olio non deve essere fluorescente. Quando si opera in radiazione non ottica (UV, IR), l'olio dovrà essere trasparente a quelle radiazioni, e troverà posto la glicerina[58] ed altri materiali. In quest'ultimo caso può accadere che il liquido non abbia lo stesso indice del vetro e l'immersione non sia più "omogenea": si può usare il n - esadecano o una miscela acqua-glicerina nel rapporto 1:10 (non glicerina pura poiché questa è igroscopica e lentamente varierebbe il suo indice assorbendo l'umidità atmosferica) per la banda UV; olio di paraffina per l' IR ed anche per l'UV, ecc. Anche in episcopia, quando si osservano minerali od altri oggetti ad elevato indice, si possono usare olii ad indice diverso da quello del vetro (in questo caso ad indice più elevato: vedi i §§ 16.2 e 30.1).

In altri casi, per l'osservazione di sospensioni di microrganismi o di plankton[59], si progettano obbiettivi "**ad acqua**"[60] che si possono immergere direttamente nella sospensione acquosa. Anche qui l'acqua (n = 1,333 ; ν = 55,6) non produce un'immersione omogenea.

I primi obbiettivi ad immersione, introdotti intorno al 1840 dal botanico Giovan Battista AMICI (modenese, ma operante a Firenze, anche nel campo dell'astronomia), poi da E. Hartnack, R. Tolles (1873, a Balsamo del Canada) e Zeiss, usavano come liquido l'olio di anice e l'olio d'oliva. Essi furono ripresi dai costruttori francesi Chevalier (padre e figlio), poi dall'inglese J.W. Stephenson (che forse introdusse per primo l'immersione omogenea), e portati ad elevata perfezione da E. Abbe a Jena nel 1878 . L'idea iniziale sembra però essere venuta a sir David Brewster nel 1812.

Un noto fornitore di liquidi per microscopia (Cargille Laboratories Inc., New Jersey), fornisce vari tipi di olio d'immersione: i tipi A e B differiscono per la viscosità (rispettivamente, 150 e 1250 centistokes); il tipo NHV (High Viscosity) ha una viscosità di 21.000 centistokes ed è prezioso quando la distanza fra vetrino e lente è elevata (obbiettivi LWD, vedi oltre) o quando il tavolino è inclinato o lo stativo rovesciato; il tipo DF è destinato alle osservazioni in fluorescenza quando è utile una luminosità di fondo (verdastra); il tipo FF è privo di fluorescenza propria.

16.2 - I VANTAGGI

Rispetto all'obbiettivo a secco, l'immersione produce comunque una serie di vantaggi.

I vantaggi dell'immersione, più sensibili se è omogenea, non sono solo quelli citati di un aumento di NA (e quindi di luminosità e di risoluzione). Ne indichiamo qualche altro.

◊◊ La correzione dell'aberrazione sferica: la superficie piana della lente frontale di un normale obbiettivo a secco dà un forte contributo alla sferica totale del sistema; con l'immersione omogenea, questa superficie otticamente scompare e la successiva superficie può realizzare il "**caso aplanatico**" in cui è assente sia sferica che coma (§19.2.3.1).

◊◊ La radiazione che traversa l'oggetto incide prima sulla superficie superiore della lamella e poi sulla superficie inferiore della lente frontale dell'obbiettivo. Queste due superfici, in un obbiettivo a secco, separano vetro da aria ed in tali condizioni, con i vetri

---

[58] L'immersione in glicerina è stata molto precoce; il primo caso potrebbe essere quello presentato nel 1867 da Ernst Grundlach (1834-1908).

[59] Il plankton è l'insieme degli organismi acquatici (non sempre piccoli) incapaci di contrastare le correnti dell'acqua, che vivono sospesi e trascinati da essa.

[60] I primi obbiettivi ad immersione in acqua sembrano esser stati fabbricati dall'Amici nel 1853 e presentati a Parigi nel 1855. Seguì Robert Tolles (1858), Edmund Hartnack (1859), Hasert, Kellner, Schroder (1860), ecc.

comuni, la perdita fotometrica per riflessione va dal 4 % (incidenza normale) al 100% (incidenza radente, cioè massima apertura). La radiazione riflessa non produce solo una perdita fotometrica, ma contribuisce alla luce diffusa interna al sistema, che abbassa il contrasto (§ 17.1.2). La perdita fotometrica è comunque importante per le tecniche in cui l'immagine è comunque poco luminosa (per es. fluorescenza).

Ebbene, l'immersione omogenea cancella otticamente le due superfici riflettenti sopra citate, a causa dell'eguaglianza di indice.

◊◊ Quando si opera in episcopia, cioè si osservano oggetti opachi in "luce riflessa" illuminandoli dall'alto attraverso l'obbiettivo stesso, si ha una sovrapposizione dell'immagine delle strutture dell'oggetto con la radiazione riflessa dalla superficie di esso (che in genere viene lucidato e diventa speculare) e con quella riflessa dalla superficie inferiore della lente frontale. Anche qui si ha un fondo di luce diffusa e perdita di contrasto. Ed anche questa volta, la riflessione su queste superfici viene molto ridotta dall'immersione. La luce riflessa dalle altre superfici delle lenti non viene ovviamente interessata dall'immersione. C'è però un problema: molti oggetti opachi (rocce, cristalli) hanno un indice più elevato del vetro, fino a 1,8, ed una buona eliminazione dei riflessi richiede l'uso di liquidi ad elevato indice: ioduro di metile o di metilene, monobromonaftalene, ecc. Occorrono qui obbiettivi calcolati appositamente (vedi anche il § 19.2.5).

◊◊ Se vi è un errore nello spessore o nella planeità della lamella, esso non produce effetto, almeno se l'immersione è omogenea, proprio per l'omogeneità dell'indice fra oggetto-lamella-olio-lente frontale.

◊◊ Se il preparato è senza lamella (strisci, ecc.) basta la goccia d'olio per realizzare le condizioni ottiche di omogeneità dell'indice, evitando l'uso della lamella[61]. Se però l'immersione è "quasi-omogenea" (§ 16.1), occorre usare per preparati non coperti solo obbiettivi ad immersione a ciò previsti (contrassegnati con: d = 0).

16.3 – GLI SVANTAGGI

L'immersione ha anche qualche inconveniente pratico.

Essa, per ragioni che diverranno chiare più avanti, si applica soprattutto ad obbiettivi forti; ebbene, su un revolver[62] si monta spesso, vicino all'obbiettivo ad immersione, un obbiettivo a secco forte; gli obbiettivi forti hanno in genere una piccola distanza "di lavoro" (distanza libera fra obbiettivo e vetrino). Può accadere che, dopo l'uso dell'obbiettivo ad immersione, si voglia tornare all'obbiettivo a secco forte. La mossa più logica è di allontanare il vetrino strisciandolo sul tavolino, pulirlo (vedremo come), inserire l'obbiettivo forte a secco, riporre il vetrino pulito sul tavolino. Il fatto di dover aggiungere o togliere l'olio ad ogni cambiamento di obbiettivo è già un fastidio. Ma il peggio accade quando distrattamente si ruota il revolver e si inserisce l'obbiettivo a secco forte prima di togliere il vetrino per la pulizia: l'obbiettivo a secco va a bagnarsi nella goccia d'olio rimasta sul vetrino e diviene inservibile; occorre smontarlo e pulirlo con cura. Questa pulizia può essere molto difficile in certi obbiettivi planari che possiedono una lente frontale molto incavata: dopo la pulizia, è molto probabile che peli o polvere rimangano nell'incavo della lente.

---

[61] In realtà, anche quando l'immersione è "omogenea", la dispersione (§§ 2.3.1 e 13.2.1) non è la stessa fra olio e lamella. Pertanto, i costruttori più rigorosi incidono sull'obbiettivo ad immesione (HI) la sigla 0 (0,17) per avvertire che è preferibile usare quell'obbiettivo SENZA lamella, oppure 0,17 (0) per indicare che è preferibile usarlo CON lamella; i due modelli non sono identici poiché il progettista ha tenuto conto nei calcoli della presenza od assenza della lamella.

[62] Come vedremo, il revolver è un dispositivo discoidale rotante che permette la sostituzione rapida dell'obbiettivo.

Per evitare questo inconveniente, si può porre da ambo i lati dell'obbiettivo ad immersione, nei due fori contigui del revolver, un obbiettivo debole a forte distanza di lavoro. Se quest'ultimo viene portato sul vetrino sporco, non arriva a toccare lo strato d'olio.

Un altro rimedio è offerto da alcune case (Zeiss, Nikon) i cui obbiettivi ad immersione sono retraibili, nel senso che possono essere spinti verso l'alto con lieve rotazione e lì rimanere bloccati. In questo modo non possono più toccare il vetrino. Per usarli di nuovo, non c'è che riportarli nella posizione iniziale. Basta però una breve distrazione per rendere inefficace questo meccanismo: l'obbiettivo a secco forte è ancora "a rischio".

Un altro metodo, più costoso, consiste nell'usare una serie completa di obbiettivi tutti ad immersione: presso alcuni costruttori ve ne sono per tutti gli ingrandimenti; in questo modo il vetrino rimane sempre a bagno d'olio e tutti gli obbiettivi possono essere scambiati senza danno. Ciò può essere prezioso quando si osservano strisci di cellule, cromosomi, ecc. dove occorre passare spesso dall'obbiettivo 10 o 20 (per la ricerca dell'elemento interessante) all'obbiettivo più forte (per un esame dettagliato). Così facendo si ha anche il vantaggio che non vi è mai bisogno di lamella.

Per finire, la maggioranza dei microscopi moderni ha il tavolino orizzontale. Ma se esso è inclinato, l'olio avrà la tendenza a colare, magari gocciolando sul condensatore. Si cerchino gli olii ad alta viscosità, sopra citati.

16.4 – LA PULIZIA

Comunque, per pulire dall'olio il vetrino o l'obbiettivo occorre qualche precauzione.

Si usi il solvente consigliato o fornito dal costruttore: xilolo (per lo più), alcool etilico (Leitz) o altri. L'uso di un solvente diverso può danneggiare l'obbiettivo o non sciogliere l'olio. Come supporto al solvente, conviene un telo morbido (cotone vecchio e già lavato molte volte), carta "ottica", o anche carta morbida da asciugamani. Evitare la carta che spela troppo (per fazzoletti, ecc.). Con una prima "passata" si toglie il più grosso; si usi poco solvente, appena da inumidire la carta. Poi si arrotola un pezzetto di carta in modo da creare una punta, si inumidisce ancora di solvente, e si passa sulla lente con movimento circolare per pulire gli anfratti (la lente è in genere incassata nella montatura metallica). Alla fine, si controlli il risultato osservando la lente frontale con una buona lente d'ingrandimento, possibilmente con un microscopio stereoscopico (§ 29), e si inclini la superficie della lente finché riflette direttamente la lampada usata per l'osservazione.

La pulizia degli obbiettivi ad immersione deve avvenire subito dopo l'uso. Infatti, l'olio tende sempre a penetrare all'interno della montatura; quando l'obbiettivo non viene pulito e rimane perennemente umido d'olio, nel giro di uno o di pochi anni si riempie d'olio. Lo smontaggio e la pulizia interna possono venir eseguiti solo da personale esperto in grado di procedere ad una nuova centratura.

Inoltre, dalla sera alla mattina dopo, l'olio che non è stato eliminato subito può indurire e muta le proprie caratteristiche ottiche; aggiungendo olio fresco, si può avere un miscuglio non omogeneo. Per la stessa ragione non si devono mai mescolare olii diversi o olii dello stesso tipo ma da recipienti diversi. In casi limite, di scarsa solubilità fra i due olii, si può formare un'emulsione lattiginosa che impedisce del tutto l'osservazione.

16.5 - LA LAMELLA E L'IMMERSIONE

Si è detto nel § 13.2.3.3 che la lamella fa parte del sistema formatore d'immagine e lo stesso si è detto dell'olio da immersione (§ 16.1).

Se l'immersione fosse esattamente "omogenea", cioè l'olio fosse otticamente comparabile al vetro, un obbiettivo ad immersione darebbe gli stessi risultati con preparati coperti da lamella o scoperti. Ma ciò non può essere del tutto vero, specie per l'immersione "quasi omogenea" (§ 16.1), per cui è bene usare l'immersione con vetrini coperti; in pratica, questo viene dimenticato, in specie con i vetrini usati per l'osservazione di routine senza lamella (strisci). Ma i migliori costruttori offrono obbiettivi ad immersione opportunamente calcolati per l'uso con (d = 0,17) o senza (d = 0) lamella.

Inoltre, è ovvio che non si può usare un obbiettivo a secco con l'olio, od uno ad immersione senza olio: le conseguenze sono essenzialmente tre:

◊◊ Il contrasto e la definizione dell'immagine peggiorano molto poiché insorgono forti aberrazioni, soprattutto sferica.

◊◊ La distanza di lavoro varia (si accorcia in assenza di olio) e si perde la parfocalità (vedi il § 19.1.2).

◊◊ Nel caso di obbiettivo ad immersione usato senza olio: si abbassa l'apertura, con le conseguenze già descritte.

◊◊ Nello stesso caso: si abbassa la luminosità.

In passato, sono stati prodotti obbiettivi forti ad immersione con una distanza frontale così piccola da non permettere l'introduzione di una lamella di spessore normale.

16.6 – LA NOTAZIONE

Gli obbiettivi a secco non portano diciture particolari.

Quelli ad immersione si riconoscono di solito per l'indicazione di un'apertura NA > 0,95 ma, come si è detto, esistono anche obbiettivi ad immersione deboli, con NA molto minore di 0,9.

Normalmente, l'immersione omogenea è indicata colle sigle HI (**Homogeneous Immersion**) o "Oil" o "Öl" o "Oil immersion" o "Imm". L'immersione "quasi omogenea" non è generalmente indicata da una notazione particolare, da cui una più forte raccomandazione ad usare solo l'olio consigliato dal costruttore.

L'immersione in acqua è indicata di solito con "W" o "WI" o "Wasser"; in glicerina, con "Glyz" o "Glyc"; in ioduro di metile o altri liquidi: sigle diverse per i vari costruttori.

Spesso gli obbiettivi ad immersione vengono contrassegnati con un anello colorato nella parte bassa dell'involucro, di solito nero, raramente bianco o altro colore. Si noterà anche che essi sono in genere i più forti (da 50 a 150:1), pertanto la focale è minima (anche meno di 2 mm), il diametro della lente frontale può essere anch'esso inferiore a 2 mm; la distanza di lavoro anche meno di 0,1 mm.

Facciamo infine notare che il procedimento dell'immersione, con i suoi vantaggi sopra discussi, è esclusivo della microscopìa: non sarebbe pratico "immergere" l'oggetto nel caso di una fotografia di panorama o di ritratto, o nel caso di un'osservazione astronomica.

17 - IL CONTRASTO

Esaminiamo in generale un'immagine od un oggetto dal punto di vista della distribuzione dei valori dell'intensità ottica sulla sua superficie.

Supponiamo ancora di trattare oggetti o immagini ideali, piani, a due dimensioni, cioè senza spessore, e perpendicolari all'asse.

Intuitivamente, si concepisce il **contrasto** (C) di un oggetto (o immagine) come differenza fra il valore massimo di intensità presente nel suo piano (I_{max}) ed il valore minimo (I_{min}), in altre parole, come "**chiaro-scuro**". Più esattamente, secondo Michelson:

$$C = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \qquad (45)$$

Il valore di I_{max} o I_{min} non ha limiti superiori, in quanto dipende solo dalle caratteristiche dell'oggetto e della sorgente che lo illumina. I_{max} dovrà ovviamente essere superiore a 0, mentre I_{min} sarà compreso fra I_{max} e 0 . Così $I_{max} - I_{min}$ è compreso fra I_{max} e 0 ; $I_{max} + I_{min}$ è compreso fra 2 I_{max} ed I_{max} e C è compreso fra 0 ed 1. Moltiplicando per 100, il contrasto si esprime in percentuale.

Il contrasto nell'immagine ha notevole importanza nella lettura dei dettagli di essa; infatti, qualunque recettore non è sensibile al di sotto di certi valori di contrasto; l'occhio umano viene considerato insensibile per contrasti inferiori a 3 - 5%.

Supponiamo ora di porre un oggetto con contrasto C davanti ad un obbiettivo che ne forma un'immagine reale; misuriamo in quest'ultima con opportuna tecnica fotometrica i valori I'_{max} e I'_{min} e calcoliamo C' (contrasto lato imm.) con la (45). Fra i due valori di contrasto vi sarà ovviamente una qualche differenza e sarà sempre C' minore di C .

Il rapporto

$$A = \frac{C'}{C} \qquad (46)$$

sempre compreso fra 0 ed 1, esprime la perdita di contrasto introdotta dal sistema ottico, e si chiama "**funzione di trasferimento**" del contrasto (CTF = Contrast Transfer Function, quando è espresso in funzione della "frequenza spaziale" dell'oggetto {vedi il § 18.11}).

Ora però dobbiamo distinguere due concetti di contrasto:

a) per oggetti estesi;

b) per oggetti piccoli.

17.1 - IL CONTRASTO PER OGGETTI ESTESI

Se le regioni dell'immagine in cui si esegue la misura di I'_{max} ed I'_{min} sono molto più ampie del "cerchio di confusione" creato dal sistema ottico, qualunque ne sia la causa, allora il

cerchio di confusione non influisce sul contrasto.

Al massimo, i confini che separano zone chiare e scure appariranno sfumati, e sarà un problema di definizione o di "microcontrasto", ma al centro delle zone chiare e scure si avrà una misura corretta dell'intensità massima o minima. Si suppone naturalmente per semplicità che all'interno di ogni regione chiara o scura dell'oggetto si abbia un'intensità costante.

Le cause che possono abbassare il valore di C' (e di A) nell'immagine data da un certo obbiettivo, ed in particolare da un obbiettivo da microscopio, possono essere ricondotte in massima parte alla sovrapposizione di un velo di "**luce diffusa**" sulle zone scure dell'immagine (che abbiamo supposto "estese"). Si tratta di radiazione parassita che non rientra nelle leggi geometriche in base alle quali si forma l'immagine.

Ecco le principali cause di tale "luce diffusa" nel microscopio ottico.

17.1.1 - Campo illuminato eccessivo

Si tratta di raggi che provengono da un campo illuminato più ampio del campo oggetto effettivamente utilizzato. Tali raggi non contribuiscono al fascio utile formatore d'immagine e prima o poi, magari dopo riflessione su qualche superficie di lente, a causa della loro inclinazione, incidono sulle montature delle lenti, sulla superficie interna del "tubo" e così via. I costruttori cercano di ridurre questo effetto con annerimenti (vernici speciali ruvide), con diaframmi ("**light baffle**"), ecc., ma non si può avere una eliminazione totale poiché certi obbiettivi od oculari utilizzano un fascio più ampio di altri ed occorre lasciare qualche margine.

L'utilizzatore può operare un'efficace riduzione di questa causa di radiazione diffusa chiudendo il più possibile il diaframma di campo (vedi il § 8.9, capoverso 7). Questo è uno dei vantaggi dell'illuminazione sec. Köhler che la rende preferibile agli altri sistemi di illuminazione descritti nel § 8.

17.1.2 - I riflessi

Si tratta di radiazione riflessa dalle superfici aria-vetro.

Un fascio che incide su una superficie aria-vetro viene parzialmente riflesso; supponiamo che la superficie sia lucida, otticamente soggetta a rifrazione ma non a diffusione, e perfettamente pulita. La frazione riflessa (R) va da un minimo di 4% al 9% circa a seconda dell'indice del vetro (R aumenta al crescere di **n**), nel caso di incidenza 0°, cioè con raggi perpendicolari alla superficie. Aumentando l'incidenza da 0° a 90°, il valore di R sale con legge complessa (formule di Fresnel[63]) fino a 100%. La radiazione riflessa alla superficie delle lenti è dunque importante; se il campo angolare di un obbiettivo non supera pochi gradi, e quello di un oculare i 50°, è però forte l'apertura (dell'obbiettivo e del condensatore, soprattutto) e la curvatura delle lenti; l'angolo d'incidenza può avvicinarsi a 90° con gli obbiettivi ed i condensatori più forti.

Contro questo fenomeno l'utilizzatore non ha rimedio tranne la scelta di obbiettivi ad immersione (solo per la prima superficie dell'obbiettivo medesimo) e di obbiettivi semplici,

[63] Augustine Jean FRESNEL (pron. frénèl) (1788-1827), fisico e matematico francese; sviluppò i problemi legati alla natura ondulatoria della luce.

con poche lenti, come gli acromatici (§ 19.3). Ma c'è una scappatoia: chiudendo il diaframma d'apertura (condensatore), come indicato nel § 8.9, capoverso 8, si riduce l'apertura del fascio e quindi l'inclinazione dei raggi; in particolare, si eliminano le zone marginali del fascio che incidono sulla periferia delle lenti, dove gli angoli di incidenza sono maggiori. È questa una delle ragioni per cui, chiudendo il diaframma d'apertura, aumenta il contrasto. Ma questa manovra ha vari inconvenienti, come si è già accennato (perdita di luminosità) e come vedremo oltre (perdita di risoluzione); comunque, oltre un certo limite, la chiusura del diaframma d'apertura provoca una nuova riduzione di contrasto; infatti i raggi marginali, anche se incidono sulle lenti con angoli più forti, provocano però raggi riflessi con maggiore inclinazione, che in buona parte vengono assorbiti dalle pareti interne dello strumento. Invece i raggi parassiali, anche se producono riflessi più deboli in virtù di angoli di incidenza minori, producono per contro raggi riflessi che rimangono contenuti all'interno del fascio utile.

Il miglior contrasto si ha quindi per valori intermedi dell'apertura del condensatore. All'occhio il contrasto sembra aumentare sempre più colla chiusura del diaframma d'apertura, ma è un'illusione; infatti l'occhio giudica in base alla diminuzione di luminosità dell'immagine, sopratutto delle zone più scure di essa, senza accorgersi che diminuisce molto di più la luminosità delle zone chiare e con questo il contrasto.

Il costruttore ha invece un mezzo di ridurre la radiazione riflessa sulle lenti: i "**trattamenti anti-riflettenti**". Il meccanismo di questi trattamenti riposa su fenomeni interferenziali di cui parleremo più avanti, ma possiamo dire che il "trattamento" consiste nel depositare alla superficie dei componenti in vetro uno o più strati sottili di materiale trasparente di opportuno indice. Lo spessore di questi "strati sottili" è dell'ordine di grandezza della lunghezza d'onda λ della luce (una frazione di μ) e tali strati sono realizzati per deposizione sotto vuoto di vapori di sostanze particolari riscaldate elettricamente.

Gli strati sottili producono una molteplicità di fasci riflessi che interferiscono fra loro e, quando i rapporti di fase fra i vari fasci sono opportuni, essi riducono ed eventualmente annullano l'energia riflessa. Questa interferenza negativa è però legata al valore di λ, per cui il "riflesso" è più debole in certe parti dello spettro che in altre. In genere si cerca la minima riflessione per la regione centrale dello spettro, per la quale l'occhio è più sensibile (regione del "verde"), e quindi il riflesso è globalmente attenuato ma formato in prevalenza dalle regioni estreme dello spettro (regioni "viola e rossa") e quindi colorato; il colore apparente deve quindi essere porpora o magenta scuro (appunto un composto di viola e rosso). Le lenti "trattate" di altro colore (celeste, verde o addirittura arancio) non hanno il minimo di riflessione al posto giusto, come avviene in tanti prodotti commerciali di bassa lega. La colorazione del riflesso delle lenti trattate giustifica il termine di "**lenti azzurrate**"[64].

Con uno strato sottile singolo, la riflessione (R) si può ridurre all'1%, almeno in un certo punto dello spettro; con strati multipli, si può scendere anche più giù, con una maggiore uniformità nell'intero spettro.

Purtroppo, il funzionamento degli strati sottili anti-riflesso è legato anche all'angolo d'incidenza della radiazione; questo significa che un fascio, anche se è parallelo, incidendo su una superficie curva, produce angoli d'incidenza variabili ed il "trattamento" può essere efficace su una certa zona della lente ma non su tutte.

Inoltre, le superfici esterne dei sistemi ottici, che vanno pulite spesso, è bene che non siano trattate, poiché il trattamento è spesso più delicato del vetro e si graffierebbe subito.

In conclusione, il fenomeno delle riflessioni indesiderate rimane sempre, almeno in parte.

[64] I trattamenti anti-riflettenti furono creati da A. Smakula degli stabilimenti Zeiss nel 1935.

17.1.3 - L'apertura eccessiva

Ci riferiamo qui alla radiazione riflessa sulle montature o all'interno dello strumento per eccesso di apertura. Se l'apertura del condensatore è maggiore di quella dell'obbiettivo, i raggi di maggiore apertura possono cadere sulla montatura delle lenti dell'obbiettivo e qui vengono irregolarmente riflessi.

Questi raggi, inutili dal punto di vista della formazione dell'immagine, attraversano inoltre l'oggetto subendo una più o meno forte diffusione e creando altra radiazione diffusa che si sovrappone all'immagine utile.

L'utilizzatore ha anche qui interesse a chiudere il diaframma d'apertura.

17.1.4 – Le imperfezioni

Parliamo qui della radiazione diffusa per imperfezioni delle superfici o dei vetri ottici.

Nelle imperfezioni delle superfici si possono comprendere anche la polvere ed ogni forma di sudiciume o corpo estraneo. È ovvio che un granello di polvere, anche se vistoso, ha una superficie trascurabile rispetto alla lente su cui è deposto, ed è inutile accanirsi a toglierlo, a meno che esso non si trovi vicino ad un piano coniugato con l'immagine finale, ed appaia più o meno a fuoco guardando nell'oculare. Viceversa, sono molto dannosi certi veli diffondenti che si formano alla superficie delle lenti, costituiti dalla condensazione di aerosol sospesi nell'aria, specialmente catrame. In una città di media grandezza, una superficie di vetro esposta all'aria appare velata dopo poche ore. Questi veli si notano con difficoltà poiché sono molto omogenei, ma sono molto dannosi perché occupano interamente la superficie delle lenti (vedi anche il § 19.5.1).

Ci occuperemo più avanti della pulizia delle parti ottiche del microscopio e degli accorgimenti relativi (§ 19.5.1).

Contro le imperfezioni nella lucidatura delle superfici e nell'omogeneità dei vetri, è chiaro che l'utilizzatore non ha rimedio. Si ricordi però che certi vetri ottici sono chimicamente instabili e la superficie di certe lenti può opacizzarsi se lo strumento è esposto a lungo a vapori corrosivi o anche spontaneamente. Anche l'umidità può bastare a questo fine in quanto essa favorisce la proliferazione di funghi microscopici alla superficie del vetro, che col tempo risulta corrosa[65] (vedi il § 27.6). Si abbia quindi la massima cura dello strumento.

17.1.5 - I cementi (vedi, in questo sito, l'art. n° 40)

Vediamo ora la radiazione diffusa da imperfezioni dei cementi delle lenti.

Raramente i cementi presentano inomogeneità in strumenti nuovi; ma col tempo sono possibili vari tipi di alterazione, scollature, cristallizzazioni. Oltre alla formazione di luce

[65] Certi autori indicano questo fenomeno di corrosione delle lenti come "fungus".

diffusa, si può arrivare ad una vera e propria opacizzazione.

Anche in questo caso, solo il costruttore può porre rimedio, ma spesso, dopo un certo numero di anni, non è in grado di fornire i pezzi di ricambio. L'utilizzatore può tentare lo smontaggio della lente (molto rischioso se la lente è ribadita (§ 19.1): occorre tornire la ribaditura) e la scollatura a mezzo di trattamento termico, per es. bollitura in acqua. Pulire ed incollare poi gli elementi scollati con Balsamo del Canadà o simili; finché il Balsamo è molle (anche settimane), si potrà ritoccare la centratura delle lenti controllando con lo "star test" (§ 18.4).

17.2 - IL CONTRASTO PER OGGETTI "PICCOLI"

Qui si intende per oggetto "**piccolo"** quello la cui immagine geometrica ha dimensioni non superiori al cerchio di confusione del sistema ottico che forma l'immagine dell'oggetto stesso.

Nel determinare il contrasto dell'immagine di un tale oggetto è chiaro allora che entra tutto ciò che contribuisce a formare il cerchio di confusione inteso come al § 13.2 (aberrazioni, diffrazione, ecc.). Il cerchio stesso prevale sull'immagine geometrica.

Il concetto di "contrasto per oggetti piccoli" si avvicina poi a quello di "**microcontrasto**" e di "**definizione**" (sempre al § 13.2); infatti, la presenza del cerchio di confusione determina l'andamento del contrasto nei pressi del passaggio da una porzione chiara ad una scura dell'immagine, corrispondente ad un confine netto fra una porzione chiara ed una scura dell'oggetto. Ma il cerchio di confusione non è mai un semplice dischetto dai bordi netti e con intensità uniforme, sempre riferendolo ad un oggetto puntiforme. A questo punto diventa importante considerare la distribuzione dell'intensità, cioè il **profilo fotometrico**, nel cerchio di confusione. La trattazione completa dell'argomento è molto complessa, ma è intuitivo che, se l'oggetto presenta un margine netto bianco-nero e se ne studia l'immagine, ad ogni punto nell'intorno del margine si sovrappone un "cerchio" il cui profilo determina l'andamento dell'intensità nell'immagine, cioè il suo microcontrasto. Supponendo di attraversare nell'immagine il margine bianco-nero dell'oggetto, secondo una linea perpendicolare al margine stesso, il tracciato dell'intensità in funzione della distanza non sarà una curva a gradino, come è nell'oggetto, ma avrà una certa forma arrotondata con una pendenza variabile, in relazione al profilo del cerchio di confusione.

Quel tracciato può dunque essere una misura del "microcontrasto" e della "definizione" dell'immagine data da un certo sistema ottico, cioè del profilo fotometrico del cerchio di confusione da esso prodotto, e quindi di una sua qualità ottica.

Ma in pratica si preferisce usare un altro metodo di misura del microcontrasto.

Si pone davanti al sistema ottico in esame un oggetto formato da righe chiare e scure parallele di pari larghezza: quello che in gergo si chiama "**reticolo**"; naturalmente, oggetto piano di spessore trascurabile, perpendicolare all'asse del sistema. Il profilo fotometrico del reticolo può essere a gradini (righe chiare e scure separate da margini netti; trasparenza uniforme all'interno delle righe chiare e possibilmente nulla nelle righe scure) oppure variabile con altra legge, come la funzione sinusoidale (vedi la (1) nel § 1.1).

Andando a misurare il contrasto nell'immagine di un tale oggetto, con normali mezzi elettronici, si ricaverà un certo valore C' (vedi la (45) poco più sopra). Questo valore C', supponendo messa a fuoco perfetta, pulizia totale del sistema, assenza di luce diffusa, ecc., dipenderà dalle caratteristiche del sistema ottico, dalla sua apertura (quindi dalla diffrazione),

dalle sue aberrazioni del punto, in particolare da quelle cromatiche, quindi da λ; e naturalmente dipenderà dalla larghezza delle righe del reticolo, cioè dal suo "**passo**" **d** (larghezza complessiva di una riga chiara + una scura)[66].

Si può quindi stabilire e misurare, dopo aver fissato tutte le altre condizioni, una funzione $C'_{(d)}$ cioè "contrasto in funzione del passo" o "in funzione della frequenza" ($C'_{(\nu)}$). Ma più che il valore di C', per valutare le prestazioni di una lente, si studierà la variazione di A (vedi la (46)) in funzione della frequenza del reticolo: $A_{(\nu)}$. Anche qui avremo dunque una funzione di trasferimento del contrasto (CTF), ma dipendente questa volta da λ e da ν; poiché il contrasto nell'immagine è anche chiamato "**modulazione**", si parla di "**modulation transfer function**" (**MTF**)[67].

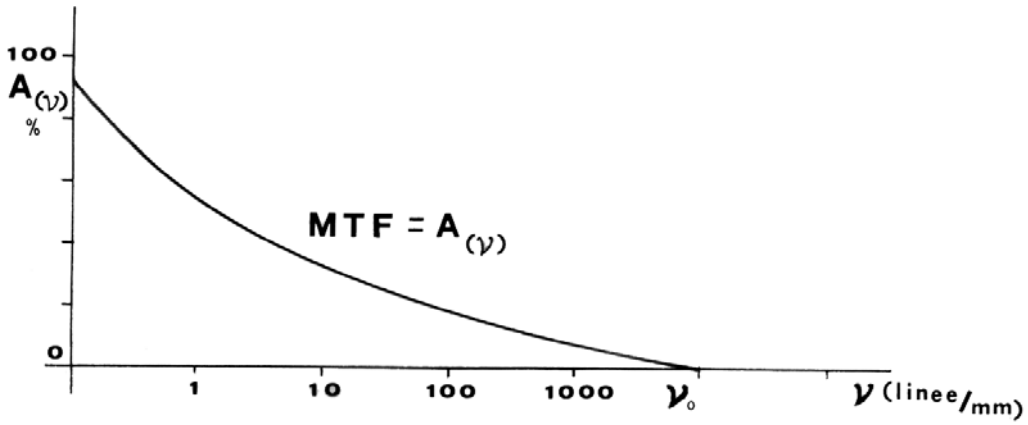


Fig. 50

In fig. 50 è mostrato un esempio di grafico della MTF; la funzione non arriva al 100 % neppure con $\nu = 0$ (righe di larghezza infinita, **d** tendente all'infinito) poiché abbiamo visto nel § 17.1 che, anche con oggetti estesi, il valore di A è sempre inferiore ad 1. Aumentando la frequenza, cioè con reticoli a passo sempre più fine, la modulazione $A_{(\nu)}$ diminuisce per diventare 0 quando ν raggiunge un valore limite detto "cutoff frequency" (ν_0). Quanto più alto è ν_0, tanto più fini sono le strutture che possono essere presenti nell'immagine e quindi ν_0 è una misura della risoluzione del sistema.

Per un sistema "diffraction limited", come detto subito sotto,

$$\nu_0 = 2\ NA / \lambda$$

La curva di fig. 50 è quella ottenuta da un sistema ben corretto nelle migliori condizioni. Tutto ciò che aumenta le dimensioni del cerchio di confusione (aberrazioni, diffrazione, sfocature, difetti vari del sistema, ecc.) provoca una diminuzione di ν_0 mentre le cause di luce diffusa viste nel § 17.1 abbassano la curva nel senso che, per ogni valore di ν, si ha una diminuzione di C' e di A.

Per un sistema vicino alla condizione "diffraction limited" (vedi i §§ 13.3 e 18.3) si può anche calcolare il valore di ν_0, cioè della massima frequenza di reticolo capace di produrre un contrasto superiore a 0 nell'immagine; si può esprimere questo valore in funzione dell'apertura numerica $NA = n \text{ sen } \alpha$ e risulta quanto già visto sopra:

---

66 Il passo si può indicare con **d** e **1/d = ν** (47) sarà il numero di righe per unità di lunghezza o "**frequenza spaziale**". Se **d** è espresso in mm, **ν** si esprime in linee/mm .

67 In un obbiettivo "diffraction limited", la MTF è pari a: $MTF = 2(\phi - \cos\phi \text{ sen}\phi)/\pi$, in cui $\phi = \arccos(\lambda\nu/2\ NA)$ e ν è la "frequenza spaziale" dell'oggetto, espressa in linee/mm.

$$\nu_o = \frac{2\,NA}{\lambda} \tag{48}$$

Poiché (vedi la (47) nella nota 59) si sa che $\nu = 1/d$, si può scrivere anche :

$$d_o = \frac{\lambda}{2\,NA} \tag{49}$$

in cui d_o è il valore del passo del reticolo al di sotto del quale il contrasto nell'immagine diviene nullo.

Vedremo il significato di questa formula parlando della diffrazione.

Osservando poi come si abbassa la curva di fig. 50 al crescere della sfocatura, si può ammettere che la perdita è accettabile quando la sfocatura, espressa come differenza di cammino ottico (OPD, vedi il § 14 e fig. 47), non supera il valore di $\lambda/4$. È significativo che il metodo della MTF porti alle stesse conclusioni del criterio convenzionale di Lord Rayleigh, discusso al § 14 in relazione alla profondità di fuoco, cioè alla sfocatura ammissibile.

Concludendo, un esame della funzione di trasferimento del microcontrasto ci permette di meglio valutare i rapporti fra la definizione di un sistema ottico (legata all'altezza della curva) e la sua risoluzione (legata alla posizione di ν_o); così si valuta l'influenza delle sue aberrazioni del punto.

È ovvio quindi che i sistemi più corretti daranno maggior contrasto e maggior definizione all'immagine per oggetti "piccoli" e s'intende che parliamo di correzione da sferica e cromatica longitudinale per tutto il campo e da coma, astigmatismo e cromatica laterale per la periferia di esso. Per oggetti estesi, invece, un sistema meglio corretto, che di solito contiene un maggior numero di lenti, può presentare maggior quantità di radiazione riflessa alla superficie delle lenti e quindi minor contrasto per oggetti estesi.

Alle cause di perdita di microcontrasto si sommano dunque le cause di perdita di contrasto per oggetti estesi, sopra considerate, che influiscono essenzialmente sull'altezza della curva di fig. 50.

17.3 - I RIMEDI

Va detto che le caratteristiche dell'immagine finale, anche riguardo a definizione e contrasto, dipendono in buona parte dall'obbiettivo, dal numero delle sue lenti, dalla loro curvatura, dai loro trattamenti anti-riflettenti, dalla trasparenza dei cementi, dalla pulizia, ecc.

E qui si presenta una contraddizione: gli obbiettivi più semplici con minor apertura e minor numero di lenti (acromatici non planari), producono normalmente una minor quantità di luce diffusa e danno quindi il miglior contrasto per oggetti estesi. Gli obbiettivi più complessi (plan-apocromatici), con maggior numero di lenti, sono all'estremo opposto. Per contro, quando si osservano oggetti molto piccoli e non importa la curvatura di campo, si ha il miglior contrasto con obbiettivi ben corretti (apocromatici non planari).

Questa regola generale può naturalmente subire eccezioni a seconda delle soluzioni pratiche adottate dai vari costruttori. Può avvenire ad es. che un obbiettivo apocromatico con la massima apertura non sia il migliore in fatto di microcontrasto, almeno alla periferia del campo, a causa di residui di aberrazioni extra-assiali.

Inutile dire che il microcontrasto peggiora tutte le volte che si presenta una delle cause che peggiorano la sferica (§ 13.2.3): errato spessore della lamella - errata lunghezza del tubo (tubi porta-oculari, ad es.) - errata regolazione dell'eventuale collare per lo spessore della lamella, ecc.

Riguardo ai rimedi contro le perdite di contrasto in oggetti estesi (chiusura dei diaframmi, pulizia, ecc.), si è già parlato nel § 17.1. Si può ora aggiungere un altro consiglio: ogni pezzo ottico interposto fra obbiettivo ed oculare dà un contributo alla perdita di contrasto, sia per gli inevitabili riflessi alle sue superfici, sia per le altrettanto inevitabili imperfezioni, polvere, ecc. Dal punto di vista del contrasto è bene quindi eliminare tutto il possibile: accessori intermedi, cambiatori d'ingrandimento, filtri, prismi, tubi bioculari, reticoli, ecc. Il contrasto per oggetti molto piccoli sarà migliorato anch'esso quando si mettono in atto le precauzioni contro le perdite di contrasto per oggetti estesi, ma risentirà molto di tutti i fattori che influiscono sulla risoluzione (apertura, ecc.) e sulla definizione (aberrazioni del punto, ecc.). Ma di questo si è già parlato nei §§ da 13.2 a 13.5 .

Per quanto riguarda le aberrazioni cromatiche, ripetiamo quanto già detto: anche dal punto di vista del contrasto, può essere utile un filtro verde. Se invece l'oggetto è di per sé colorato, si può accrescerne il contrasto interponendo nel sistema illuminante un filtro di colore complementare. Ma di ciò riparleremo.

18 - OTTICA ONDULATORIA, DIFFRAZIONE e RISOLUZIONE

Finora abbiamo esaminato molti fenomeni ottici, che si verificano nel microscopio, servendoci di un approccio geometrico e di alcune semplificazioni. Anche abbandonando l'approssimazione di Gauss (lenti sottili, aperture e campi ridotti, radiazione monocromatica), e trattando di lenti spesse con aperture e campi grandi, radiazione non monocromatica, ecc. abbiamo pur tuttavia considerato la radiazione ottica come rappresentabile con entità geometriche astratte (i "raggi"). In base alla deviazione dei "raggi" secondo le leggi della rifrazione (vedi i §§ da 2.3 fino a 2.6) abbiamo spiegato molti fenomeni, in particolare la formazione delle immagini, l'ingrandimento, le aberrazioni, la penetrazione, ecc. Si è visto in questo contesto che, dato un oggetto puntiforme, un sistema ottico reale non produce mai un'immagine puntiforme, se non altro a causa delle aberrazioni del punto.

Ma supponiamo ora di operare con un sistema ideale in cui siano completamente corretti le aberrazioni ed i difetti costruttivi. Ebbene, avremo da esso un'immagine puntiforme?

L'esperienza ed il calcolo ci dimostrano che ciò non è possibile. Infatti, la radiazione elettromagnetica non si può ridurre sempre a semplici "raggi", cioè rette di propagazione che obbediscono solo a leggi geometriche. Si tratta di un fenomeno ondulatorio (vedi il § 1.1) soggetto alle leggi dei campi. La trattazione matematica è complessa[68], ma per i nostri scopi ci basti descrivere qualche fenomeno essenziale.

18.1 - DIFFRAZIONE DA UNO SPIGOLO

Si consideri una sorgente puntiforme (Q in fig. 51) che irradia verso uno schermo S. Una parte del fascio venga obliterata da un altro schermo opaco P dotato di spigolo vivo, interposto fra Q ed S. Secondo il punto di vista geometrico, in S si dovrebbe vedere una zona chiara (verso l'alto in figura) separata, rispetto alla zona in ombra in basso, da una linea definita, di larghezza nulla; insomma, un'ombra viva, senza sfumature, il cui profilo fotometrico può essere rappresentato dalla curva 1 in fig. 51 (curva "a gradino").

In realtà le cose non vanno così: si constata che il passaggio fra zona illuminata ed ombra è sfumato e la zona illuminata presenta una serie di "frange" cioè di linee sfumate chiare e scure parallele allo spigolo, la cui larghezza ed il cui contrasto sono maggiori dalla parte della zona nera. Il profilo fotometrico di questo sistema di frange può essere dato dalla curva 2 della fig. 51. Le frange chiare e scure rientrano nel generale fenomeno della "**diffrazione**" e si spiegano solamente studiando la distribuzione del campo elettromagnetico al di là dello spigolo di P; esse dunque sono legate alla natura ondulatoria della radiazione ottica e non possono venire eliminate da alcun artifizio tecnico. Questa ineluttabilità vale anche per le altre manifestazioni della diffrazione che stiamo per esaminare.

---

[68] In ordine di tempo, i primi studi sulla diffrazione sono dovuti a Johannes Marcus Marci de Kronland (1595-1667), al gesuita bolognese Francesco Maria Grimaldi (1618-1663), al poliedrico scienziato inglese Robert Hooke (1635-1703), al gesuita francese Ignace-Gaston Pardies (1638-1673) ed all'olandese Christiaan Huygens (1629-1695).

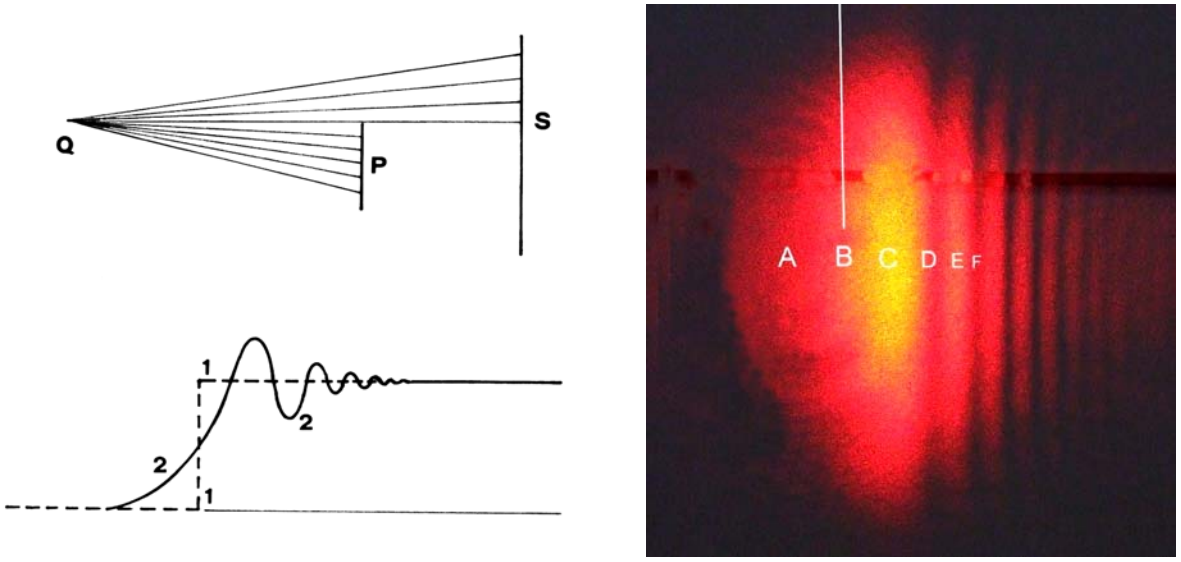


Fig. 51 – La figura a destra rappresenta come appare il fenomeno schematizzato dalla curva 2 visibile a sinistra. La sottile linea bianca verticale rappresenta la posizione dell'ipotetica ombra geometrica dello spigolo verticale della curva 1; la macchia più chiara C corrisponde al picco più alto della curva 2; la riga D al minimo successivo, ecc. (vedi anche, in questo sito, l'art. n° O 8 nella sezione "Ottica sperimentale").
Foto di schermo illuminato da un laser a stato solido ai margini di uno spigolo vivo.

18.2 - DIFFRAZIONE da un'APERTURA CIRCOLARE

Anche qui, lo sviluppo teorico del fenomeno è molto complesso, ma ci basti guardare il risultato finale.

In questo caso, il semi-schermo opaco P di fig. 51 è sostituito da uno schermo con un foro circolare.

Se il diametro dell'apertura è molto più grande della lunghezza d'onda impiegata, si osserverà un sistema di frange circolari concentriche, più larghe e più contrastate presso l'orlo dell'ombra geometrica del foro. La zona illuminata circolare prodotta dall'apertura tende a diventare omogenea presso il centro. Si suppone naturalmente che lo schermo forato e lo schermo su cui si raccoglie l'ombra del primo siano paralleli e che la sorgente puntiforme si trovi sull'asse del foro.

Questo caso si può considerare come un caso particolare di quello precedente (le frange si incurvano e divengono circolari) ed in microscopia interessano entrambi, quando si osserva l'orlo di un oggetto, illuminato con un fascio più o meno aperto.

18.3 - La DIFFRAZIONE in una LENTE CONVERGENTE - La CENTRICA

Come schematizzato dalla fig. 52, consideriamo ora il caso di una sorgente puntiforme Q, posta davanti ad uno schermo forato P ma, a differenza del caso precedente, a ridosso

dell'apertura di P si trova una lente convergente L; le cose siano disposte in modo che la lente produca sullo schermo S un'immagine geometrica Q' (immagine reale di Q).

Si vari la posizione dello schermo S nell'intorno di Q' in modo da avere sullo schermo il minimo diametro del fascio, cioè il miglior fuoco. Supponiamo che Q, P ed L siano centrati sullo stesso asse; P ed S siano perpendicolari all'asse medesimo. Si noti che l'apertura di P si comporta come un diaframma d'apertura per la lente L. Anzi, ogni lente ha comunque un diaframma costituito dalla sua montatura o dai suoi orli: in altre parole, la sua apertura è sempre limitata.

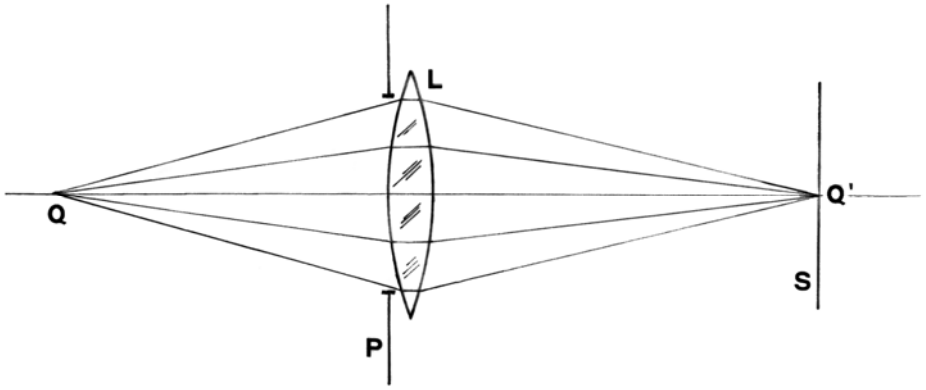


Fig. 52

Supponiamo ora che la lente sia priva di aberrazioni, o almeno di quelle del punto: il cerchio di confusione dovuto alle sue aberrazioni avrebbe allora diametro nullo.

Ebbene, in Q' si osserva in queste condizioni una figura caratteristica, detta "**figura di diffrazione**" o "**figura di Airy**"[69] o "**centrica**", che si può pensare come la condizione di massima contrazione dell'ombra del foro circolare (vedi caso precedente, § 18.2), contrazione operata dalla lente.

Tale figura ha un aspetto caratteristico (vedi fig. 53) ed è costituita da un disco centrale di massima intensità, ad orli sfumati ("**disco di Airy**"), circondato da un anello scuro, poi un anello chiaro, sempre sfumato, un anello scuro, uno chiaro, ecc. Gli anelli sono di intensità decrescente, di diametro crescente e tutti concentrici. Il profilo fotometrico della centrica, cioè l'intensità che si misura lungo un suo qualunque diametro, è rappresentato in fig. 54.

Se NA è l'apertura numerica (lato immagine) della lente L, e λ la lunghezza d'onda della radiazione utilizzata, si hanno i seguenti valori del raggio:

TAB. II

1° anello nero (orlo estremo del disco di Airy)	: 0,61 λ / NA
1° anello chiaro	: 0,82 λ / NA
2° anello nero	: 1,12 λ / NA
2° anello chiaro	: 1,33 λ / NA
ecc.	

E' inutile andare oltre poiché gli anelli oltre il secondo sono troppo pallidi per essere apprezzabili. L'intensità decresce infatti rapidamente e l'energia totale contenuta nelle varie zone della centrica è sempre più piccola, come risulta dalla tabella III:

[69] Sir George AIRY (pronuncia Èiri), (1801 - 1892) , fisico inglese .

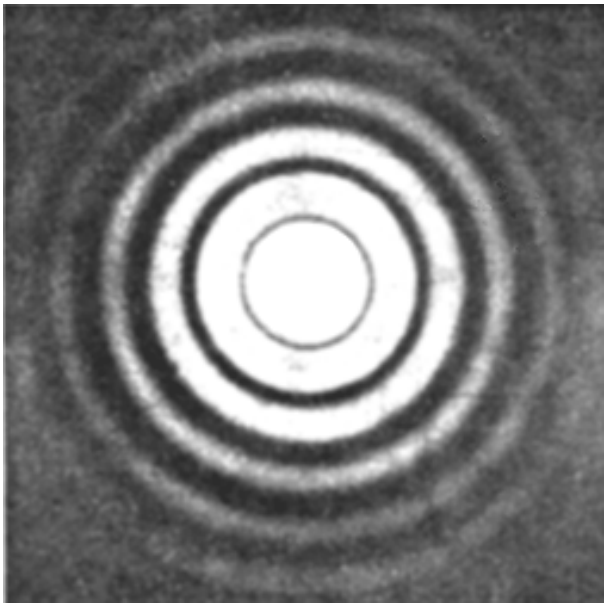


Fig. 53 - Da: V. Ronchi, "Thèories Energètiques de la vision" (Atti Fondaz. Ronchi, 5, XXIII, p. 596-598; Firenze, 1968).
NB: Il disco di Airy, il primo anello e forse il secondo sembrano della stessa intensità, ma ciò è dovuto alla non linearità della risposta dell'emulsione fotografica, che non riece a registrare i fortissimi contrasti presenti nella centrica (vedi la TAB: III).

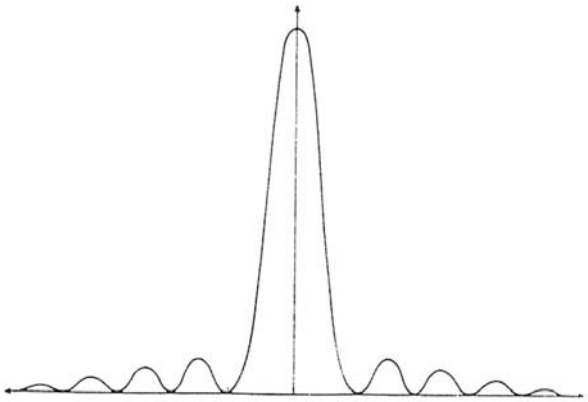


Fig. 54 - Da: V. Ronchi, "Thèories Energètiques de la vision" (Atti Fondaz. Ronchi, 5, XXIII, p. 596-598; Firenze, 1968).

TAB. III

Disco di Airy	:	84 % di energia della figura totale
1° anello chiaro	:	7,1 %
2° anello chiaro	:	2,8 %
3° anello chiaro	:	1,5 %

Dunque, un sistema ottico ideale, anche in assenza di aberrazioni, non dà un'immagine puntiforme di un oggetto puntiforme, ma una specie di cerchio di confusione, non dovuto a fenomeni geometrici, cioè alla rifrazione ed alle aberrazioni che ne conseguono, ma a fenomeni ondulatori, cioè alla diffrazione.

La distribuzione fotometrica all'interno della centrica, sommariamente descritta, si spiega calcolando la distribuzione del campo elettromagnetico all'interno dell'onda sferica concava che emerge dalla lente e converge nella centrica: da ogni punto di quest'onda si irradia

un'onda elementare sferica, secondo l'interpretazione di Huygens, e la centrica è il risultato dell'interferenza, nel piano immagine, di tutte queste onde elementari.

Di questo nuovo cerchio di confusione, cioè della centrica, vediamo ora gli effetti.

Si è detto (TAB. III) che la massima parte dell'energia della centrica, pari all' 84 %, è concentrata nel disco di Airy; possiamo dunque ignorare gli anelli e far coincidere il "cerchio di confusione" dovuto alla diffrazione con il disco di Airy. Quest'ultimo ha un raggio (TAB. II) pari a :

$$r = 0{,}61\ \lambda / NA \qquad (50)$$

Supponendo sempre di operare con un sistema otticamente ideale privo di aberrazioni, ricordiamo quanto detto nel § 13.2 e la fig. 38, relativi al concetto di risoluzione: se le immagini di due punti-oggetto si possono assimilare ognuna ad un cerchio di raggio **r** , allora la risoluzione di quei punti sarà assicurata quando la distanza dei centri delle loro immagini (**d**) è uguale o maggiore del raggio **r** . Dunque, il limite di risoluzione, ovvero la distanza minima dei punti che si possono ancora risolvere (**d**) è data da **r** (riportato al piano oggetto, s'intende).

Se questo criterio, dovuto ancora a **Lord Rayleigh**, si applica al disco di Airy, avremo che la distanza minima risolvibile in un sistema privo di aberrazioni ed altre cause di perdita di contrasto (luce diffusa, sfocature, ecc.), cioè in un **sistema limitato dalla sola diffrazione** ("**diffraction limited**"), è **d = r** , essendo **r** calcolato con la (50). Se NA è riferito allo spazio oggetto (o immagine − NA'), anche **r** si riferisce allo spazio oggetto o immagine.

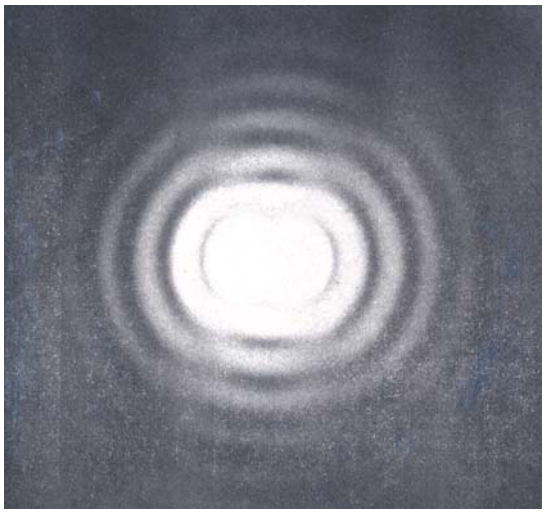


Fig. 55 - Da: V. Ronchi, "Thèories Energètiques de la vision" (Atti Fondaz. Ronchi, 5, XXIII, p. 596-598; Firenze, 1968)

In fig. 55 si vedono sovrapposte due centriche come quella di fig. 53; la distanza fra i loro centri è appunto pari al raggio del primo anello nero, cioè del disco di Airy.

In fig. 56 si vede il profilo fotometrico della fig. 55, tracciato lungo una retta che passa per i due centri. Si noti che il massimo di intensità di ognuna delle centriche (al centro del disco) cade al centro del primo avvallamento dell'altra curva, cioè del primo anello nero. La curva di intensità globale (linea intera in fig. 56) mostra un avvallamento fra i due picchi di circa il 20 %. Si può anche adottare il "**criterio di Sparrow**" secondo cui il fattore 0,61 della (50) diviene 0,5 (più esattamente 0,47) e la curva di intensità globale non mostra alcun avvallamento al centro. Si abbassa così la distanza minima risolvibile nominale ma, ovviamente, la risoluzione diviene più difficile.

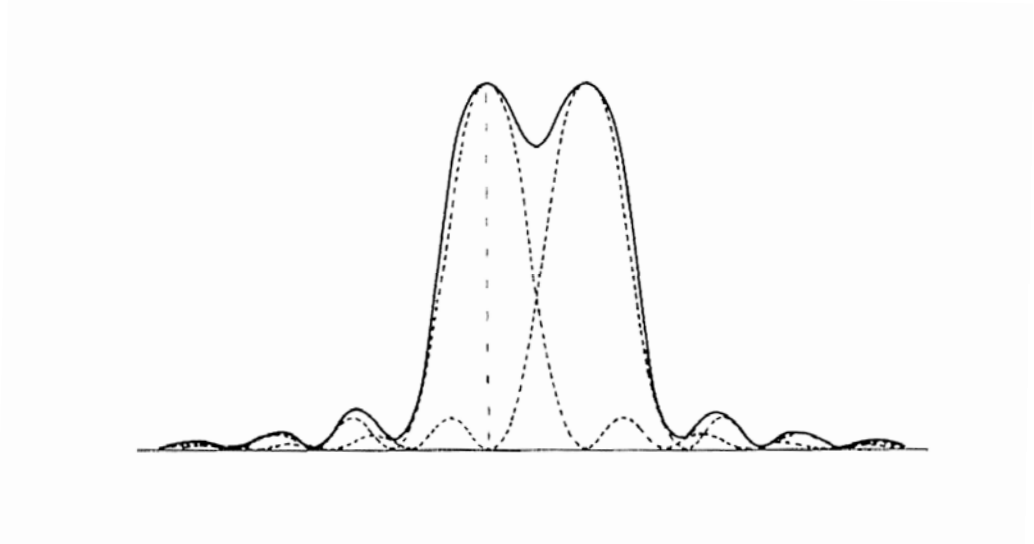


Fig. 56 - Da: V. Ronchi, “Thèories Energètiques de la vision" (Atti Fondaz. Ronchi, 5, XXIII, p. 596-598; Firenze, 1968).

Tutto ciò naturalmente presuppone che le due centriche siano ideali, di pari intensità, senza cause di alterazioni o difetti del sistema, che l’illuminazione sia incoerente, ecc.

Osserviamo ora: il valore di **r** dipende solo da λ e da NA . Il fattore λ comporta che la centrica non è acromatica ma, in luce bianca, mostra degli orli colorati. Questo effetto in pratica, almeno nei sistemi ottici del microscopio, è difficilmente percettibile.

Semmai, in base alla (50), si potrebbe pensare che la risoluzione aumenti (cioè **r** diminuisca) usando radiazioni con λ minore. Si può pensare all’estremità inferiore dello spettro ottico (regione “blu-viola”), all’ultra-violetto, ecc., ed effettivamente si hanno così dei miglioramenti; ma le difficoltà tecniche sono tali, per l’opacità dei normali vetri all’UV, per l’insensibilità dell’occhio, ecc., che queste radiazioni si usano solo di rado e per altri motivi (misure di assorbimento selettivo, sistemi speciali per la micro-litografia, ecc.).

Il fattore NA comporta che la risoluzione (d = r) dipende dall’apertura del sistema. Nel microscopio, in condizioni normali, **r** dipende dall’apertura dell’obbiettivo (NA_{obb}). Naturalmente, poiché di solito la NA di un obbiettivo si intende riferita al lato oggetto, anche la risoluzione che ne deriva si riferisce al piano oggetto.

Dunque la (50) ci permette di calcolare la risoluzione massima di un obbiettivo. E diciamo “massima” poiché tale limite è invalicabile e d’altra parte può venire peggiorato da molte cause: perdite di contrasto (vedi il § 17) ed allargamento del cerchio di confusione, quest’ultimo dovuto ad aberrazioni, sfocature, difetti vari, ecc.

Ora consideriamo un obbiettivo reale da microscopio, affetto da aberrazioni. Dell’oculare non parliamo poiché esso, almeno “in asse” (al centro del campo), non é in grado di alterare normalmente il cerchio di confusione dato dall’obbiettivo.

Parlando delle aberrazioni del punto, abbiamo visto a suo tempo che esse crescono con l’apertura; sono ad essa proporzionali la cromatica longitudinale (espressa naturalmente come diametro del cerchio di confusione) e l’astigmatismo; è proporzionale al suo quadrato la coma ed al suo cubo la sferica. Dunque, *diminuendo l’apertura di un obbiettivo, l’effetto delle aberrazioni si riduce e la risoluzione può aumentare.* Però il disco di Airy si allarga come indicato dalla (50) e la risoluzione diminuisce. Cosa fare?

In un obbiettivo fotografico le aberrazioni sono sempre sensibili per vari motivi (focali relativamente elevate, impossibilità di ottimizzare il sistema per la variabilità dell’ingrandimento e dell’apertura, campo angolare grande, ecc.), per cui la chiusura del diaframma porta in genere un miglioramento della risoluzione e del contrasto. Ma nel frattempo si allarga la centrica e, prima o poi, arriva il momento in cui quest’ultima diviene più grande del cerchio di

confusione legato alle aberrazioni e non conviene più chiudere ulteriormente il diaframma.

In pratica, la maggioranza degli obbiettivi fotografici presenta la miglior risoluzione a metà strada, con valori di apertura relativa ($f_{\#}$, vedi il § 5.2.4) compresi fra 4 ed 8.

Ma l'occhio giudica altrimenti, e si basa soprattutto sul micro-contrasto, che tende ad aumentare fino a valori elevati di $f_{\#}$ (anche 22). In questo modo, se la risoluzione di un obbiettivo fotografico è massima, per es., con $f_{\#} = 4$, l'occhio preferirà l'immagine ottenuta con $f_{\#} = 16$, ad es., poiché le sfumature legate alle aberrazioni saranno più contenute e non si accorgerà della perdita di risoluzione, che va valutata con metodi obbiettivi.

Per l'obbiettivo da microscopio le cose sono diverse. Esso gode di molti vantaggi, di cui si è accennato nel 13.3 e riparleremo nel § 19.2. Pertanto esso, almeno in asse, dove non esistono coma ed astigmatismo, possiede un cerchio di confusione da "aberrazioni del punto" sensibilmente più piccolo della centrica. Così il suo funzionamento, la sua risoluzione, sono limitati dalla sola diffrazione; esso è "**diffraction limited**" o "**otticamente perfetto**". Qualunque perdita di apertura segna quindi una perdita di risoluzione.

Il pregio maggiore di un obbiettivo da microscopio, cioè la sua risoluzione, almeno nel suo valor massimo possibile, è quindi legato quasi esclusivamente alla sua apertura (NA), che diviene il parametro più importante per apprezzarne il valore. Si parla ovviamente di obbiettivi di buona qualità, escludendo gli strumenti giocattolo, e si considera il centro del campo immagine.

Naturalmente, occorre molta prudenza; infatti un obbiettivo di forte apertura può essere affetto da forti aberrazioni extra-assiali e quindi cattiva definizione ai bordi del campo; esso può inoltre soffrire di forte curvatura di campo, cattivo contrasto per i motivi citati a suo tempo, ecc.

Concludendo, per un obbiettivo da microscopio non ha senso diminuire l'apertura, poiché ciò porta sempre ad una perdita di risoluzione (e di luminosità). Solo in casi molto particolari (fotografia a piccolo ingrandimento) si usano sistemi dotati di diaframma; anche il campo oscuro con obbiettivi ad immersione richiede obbiettivi dotati di diaframma, affinché l'apertura dell'obbiettivo sia sensibilmente inferiore a quella del condensatore (che deve essere anch'esso ad immersione). Ma si tratta di casi particolari.

E la risoluzione massima ottenibile da un microscopio nel suo complesso, supponendo eliminate le cause di deterioramento citate (sfocature, perdite di contrasto, ecc.) dipende essenzialmente dall'apertura del suo obbiettivo secondo la (50).

Per finire, si noti che la risoluzione aumenta quando diminuisce la distanza minima risolvibile che è $\mathbf{d} = \mathbf{r}$ (vedi la (50)). Quindi si può indicare $\mathbf{d} = \mathbf{r}$ come misura della risoluzione, purché si ricordi che le due grandezze sono inversamente proporzionali.

18.4 - L'OSSERVAZIONE della CENTRICA - Lo STAR TEST

Se è vero quanto appena detto, non deve essere difficile osservare la centrica in un microscopio. In realtà, essa è generalmente assai piccola ed occorre un oculare medio-forte (almeno 10 ×).

Ma la difficoltà maggiore sta nel disporre di un **oggetto** "**puntiforme"**.

Col termine "puntiforme" a questo punto non è più necessario (né in pratica possibile) indicare un oggetto senza dimensioni. E' sufficiente intendere (e cercare) un oggetto così piccolo che la sua immagine geometrica data dal sistema in esame (immagine il cui diametro sarà dato dal diametro dell'oggetto moltiplicato per l'ingrandimento) sia sensibilmente più piccola della centrica prodotta dal medesimo sistema.

L'immagine globale di un punto oggetto non può mai essere più piccola della centrica

(che dipende, come si è visto, solo da λ e da NA). Se il cerchio di confusione dato dalle aberrazioni del punto è più piccolo della centrica, il sistema sarà, come detto più volte, "**diffraction limited**" od "**otticamente perfetto**". Se poi anche l'immagine geometrica dell'oggetto è più piccola della centrica, quell'oggetto è otticamente senza dimensioni o "**puntiforme**" rispetto a quel sistema ottico. Il metro di misura è sempre la centrica, che non è legata alle caratteristiche costruttive dell'obbiettivo né a quelle dell'oggetto, ma solo all'apertura.

Trovare un'oggetto puntiforme nel senso appena indicato non è facile. In astronomia si cerca una stella non troppo intensa e tanto può bastare; semmai i problemi nascono dalla turbolenza dell'aria, vibrazioni nel sistema, ecc. Se il sistema ottico del telescopio rientra nei limiti dell' "otticamente perfetto", si deve poter osservare una centrica regolare. E' questo il cosiddetto "**star test**" o "controllo della stella".

In microscopìa, un oggetto con queste caratteristiche si può avere in molti modi. Il più semplice è di diluire in acqua od in opportuno solvente una sospensione di particelle molto fini come tempera, vernice "metallica", ecc. Colla sospensione, che dovrà essere molto diluita, si confeziona un "vetrino" ponendo un goccia di liquido fra un porta-oggetto ed una lamella. Tale preparato andrà illuminato con luce radente, cioè in campo oscuro, in modo che si possa osservare qualche granulo solido illuminato su fondo scuro.

Più efficace è lo "star test" ottenuto depositando su un porta-oggetto uno straterello sottilissimo di metallo (di solito alluminio). Questo deposito viene effettuato sotto vuoto, per evaporazione del metallo riscaldato elettricamente in apposito crogiolo. E tale operazione va eseguita da un'industria specializzata.

Ebbene, durante la deposizione metallica, per l'inevitabile presenza di polvere ed altre irregolarità, si formano sempre dei forellini nello strato metallico. Osservando questo star test in trasparenza, cioè illuminandolo da sotto con la massima intensità e la massima apertura disponibile, si osserveranno al microscopio fori di tutte le dimensioni e di tutte le forme. Cercando i fori più piccoli, ci si accorgerà che non si può andare al di sotto di un certo limite, nel senso che i meno luminosi (cioè quelli la cui immagine geometrica è più piccola) appaiono sempre con l'aspetto caratteristico della centrica, con diametro fisso.

Al centro del campo ("in asse"), la centrica deve assomigliare alla fig. 53 (vedi il § 18.3) e deve godere di simmetria rotatoria (deve essere simmetrica attorno al suo centro). Questa affermazione dipende dal fatto che il sistema ottico si suppone centrato in tutte le sue parti attorno ad un asse comune, e gode anch'esso di simmetria rotatoria.

Se presso l'asse la centrica appare deformata, con una specie di coda, si avrà "coma in asse", il che dipende spesso da un errore di centratura di qualche lente dell'obbiettivo; in questo caso, la figura è allungata con un punto più luminoso ad una estremità e la direzione del suo allungamento rimane costante al variare del fuoco. Per contro, si avrà astigmatismo in asse se la figura è allungata e la sua direzione di allungamento si sposta di 90° variando il fuoco.

Quando si osserva lo star test ai bordi del campo ("fuori asse"), a parte gli errori di montaggio, c'è da aspettarsi qualche residuo di coma, astigmatismo e cromatica laterale, per cui la centrica difficilmente sarà perfetta, e le variazioni che può assumere la sua forma sono infinite. Un occhio esperto riuscirà ad apprezzare lo stato di correzione e di centratura dell'obbiettivo da una semplice osservazione.

Finora, poi, si è implicitamente supposto che la messa a fuoco dello strumento sia perfetta. Quando la si altera, anche il profilo fotometrico della centrica si altera. Nel caso più semplice (sistema privo di aberrazioni del punto, nessuna perdita di contrasto, ecc.), la sfocatura provoca dapprima una diminuzione di intensità del disco di Airy ed un aumento di quella degli anelli; parallelamente il disco si allarga. Procedendo con la sfocatura, il disco di Airy scompare e la centrica mostra al centro una zona scura; la sua energia si concentra negli

anelli, specie nei primi, e le sue dimensioni generali aumentano portando una perdita di risoluzione, di definizione, e quindi di micro-contrasto. Sfocando ancora, ricompare una zona chiara al centro della centrica, ma con anelli assai più intensi, poi ancora una zona scura, ecc. In poche parole, la centrica va considerata come la sezione di una figura a tre dimensioni, in cui il minimo diametro del "cerchio di confusione" si ottiene nelle condizioni di miglior fuoco ed assume, nel piano immagine, la distribuzione fotometrica descritta sopra (disco di Airy + anelli); invece, in piani sopra e sotto il miglior fuoco, la figura appare come la sezione di un oggetto a tre dimensioni a forma di un doppio cono con le basi da lati opposti, sul cui asse si alternano zone chiare e scure, come detto sopra, circondate da anelli sempre più larghi. Il doppio cono, in assenza di aberrazioni, è simmetrico rispetto al piano di miglior fuoco[70].

Allora, supposto un obbiettivo ideale, privo di aberrazioni del punto, queste figure derivate da alterazione della centrica durante la sfocatura sono le stesse, sopra e sotto la posizione di miglior fuoco.

Nel caso però che l'obbiettivo sia affetto da un residuo di sferica si hanno questi effetti:

•• Nelle condizioni di miglior fuoco, la centrica appare molto simile a quella teorica, semplicemente con il disco di Airy leggermente più grande e con gli anelli più intensi (fig. 57 – 2 e schema in assonometria in basso) (perdita di risoluzione!).

•• Con il fuoco spostato da una parte, il disco si fa più piccolo ma meno intenso ed è circondato da un ampio alone sfumato di intensità decrescente verso la periferia ("IMMAGINE SFUMATA") (fig. 57 - 1).

•• Con il fuoco spostato dalla parte opposta, il disco si può fare più piccolo e meno intenso fino a scomparire, ma esso verrà circondato da una serie di anelli molto intensi, di diametro crescente al crescere della sfocatura e di larghezza crescente verso la periferia. E' questa la cosiddetta "IMMAGINE AD ANELLI" (vedi la fig. 57 - 3).

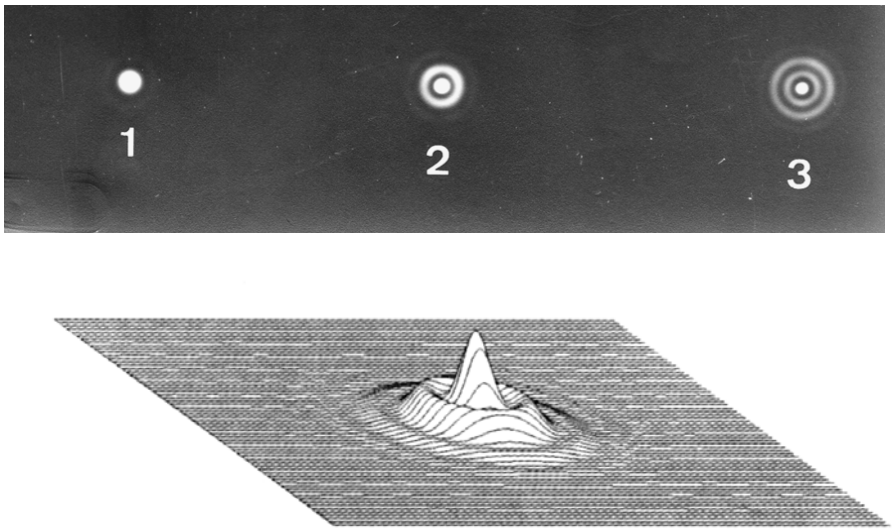


Fig. 57 – Centrica affetta da sferica in condizioni di fuoco alterato in un senso o nell'altro (a sinistra, figura "sfumata" (1); a destra, immagine "ad anelli" (3)) e di "miglior fuoco" (2, e schema assonometrico in basso).

Questi fatti rendono chiaro il concetto che i residui di sferica provocano sempre un allargamento della centrica e quindi una perdita di risoluzione. Gli stessi fatti inoltre permettono di rivelare e valutare tali residui; infatti, osservando lo star test, è possibile verificare l'aspetto alterato della centrica sopra e sotto il miglior fuoco. Se le due figure sono diverse come in fig. 57, significa che vi è sferica e, con un po' di esperienza, si può valutare

[70] Vedi, in questa sezione, gli articoli 21 ed eventualmente 11 e 18.

anche l'ammontare del residuo.

Si può anche definire il segno del residuo ed individuarne la causa in base a questa regola pratica: *se l'immagine "ad anelli" si presenta quando l'obbiettivo si avvicina all'oggetto ("focheggiatura corta"), la sferica è sottocorretta, e ciò dipende da una lamella troppo sottile, da una lunghezza del tubo insufficiente o da una distanza troppo piccola fra le prime due lenti dell'obbiettivo. L'immagine ad anelli con "focheggiatura lunga" (quando l'obbiettivo si allontana dall'oggetto) significa che vi è un residuo di sferica sovracorretta che dipende da cause opposte a quelle sopra citate.*

L'osservazione dello star test permette dunque di rivelare:

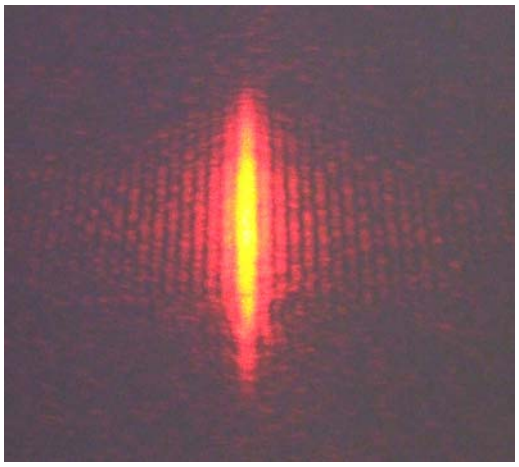
--- decentratura (se si ha coma in asse),
--- inclinazione ("tilt") di qualche lente (se si ha astigmatismo in asse),
--- presenza di coma, astigmatismo o cromatica laterale ai bordi del campo,
--- sferica e suo ammontare,
--- segno del residuo di sferica.

18.5 - La DIFFRAZIONE e la RISOLUZIONE dei RETICOLI

Finora abbiamo considerato i fenomeni di diffrazione ed i criteri di risoluzione per oggetti "puntiformi", cioè senza estensione, o piuttosto "più piccoli della figura di diffrazione".

Se si esamina un oggetto esteso, lo si può considerare costituito da un numero elevato (teoricamente infinito) di punti; ad ogni punto corrisponderà una centrica, di minore o maggiore intensità, e l'immagine globale sarà data dalla sovrapposizione di tutte le centriche. A questo punto il discorso andrebbe approfondito considerando i fenomeni di **coerenza**, cioè di rapporti di fase nella radiazione che traversa i vari punti dell'oggetto, ma per i nostri fini può bastare così.

Viceversa, si può esaminare la formazione dell'immagine di un oggetto esteso da un altro punto di vista: si può pensare di ridurre molti oggetti usuali a sistemi di linee parallele equidistanti (fibre o fibrille, sezioni di strati, ecc.). Per chiarire l'analisi, si può addirittura ricondurre un oggetto contenente strutture allungate parallele ad un "**reticolo**" inteso come piano oggetto senza spessore, formato da righe parallele opache e trasparenti alternate. Se le righe sono di pari larghezza, si può definire come "**passo**" del reticolo (d) la larghezza costante di una riga opaca + una trasparente.[71]



Ora, se un tale reticolo viene illuminato per trasparenza da una sorgente puntiforme lontana (cioè da un fascio collimato, di raggi paralleli), secondo uno schema simile a quello di fig. 51, in cui P potrebbe essere il piano del reticolo, ognuna delle righe trasparenti o fenditure rappresenta uno spazio attraversato da un'onda e limitato da due spigoli. Per ogni spigolo si hanno fenomeni di diffrazione ed ogni fenditura produce (su un eventuale schermo posto al di là del reticolo) un'immagine costituita da una striscia illuminata a bordi sfumati, accompagnata da ambo i lati da una serie di righe o frange sfumate di intensità decre-

[71] Come già detto, il passo (d) si può esprimere anche con il suo inverso, e cioè come "frequenza spaziale" $\nu = 1 / d$, misurabile in "linee per millimetro" se **d** è dato in millimetri.

scente.

(Vedi la figura a lato, ottenuta proiettando un fascio laser su una fenditura di 0,2 mm di larghezza).

I dettagli della diffrazione da fenditure meriterebbero ancora una volta uno studio matematico complesso ma, ai fini della comprensione dei fenomeni di risoluzione nel microscopio, può bastare la seguente semplificazione e la figura .

Si consideri la fig. 58. In essa "Ret" simboleggia il piano del reticolo visto in sezione, reticolo che coincide col piano oggetto di un obbiettivo, non indicato in figura. L'asse dell'obbiettivo è ovviamente verticale. F indica un fascio parallelo (onda piana) proveniente dal condensatore, come si ottiene all'incirca chiudendo tutto il diaframma d'apertura; in queste condizioni le onde parziali in A e B sono in fase fra loro, cioè coerenti, visto che sono originate da una stessa sorgente più o meno "puntiforme".

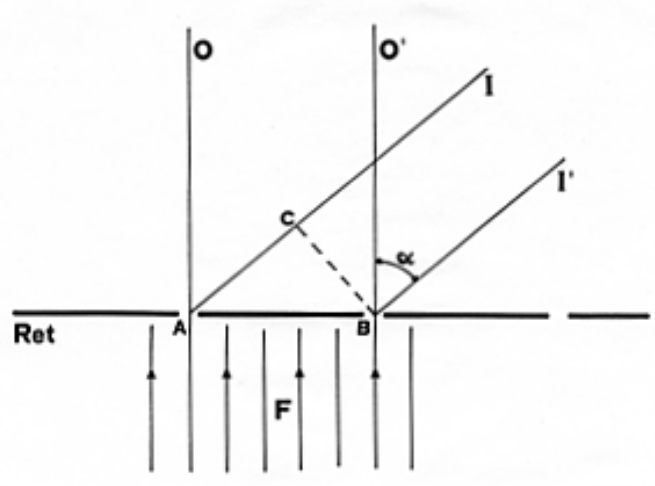


Fig. 58

Supponiamo per semplicità che le fenditure A e B siano assai sottili (larghezza simile alla lunghezza d'onda impiegata λ); la loro distanza sarà il "passo" **d** del reticolo, costante per tutte le righe; tutto ciò che diremo della coppia di fenditure A - B, si può ripetere di qualunque altra coppia di fenditure contigue.

Consideriamo ora la direzione A - O (oppure B - O') che è perpendicolare al piano del reticolo **Ret** e quindi parallela ai raggi del fascio incidente F ed all'asse dell'obbiettivo (non indicato). Secondo il principio di Huygens[72], da entrambe le fenditure A e B si originano delle serie di onde elementari che, avendo centro in A o B , sono cilindriche concentriche, di dimensioni crescenti e con l'asse coincidente con A o B . Tali onde si propagano in tutte le direzioni conservando la forma cilindrica. Ad una distanza dal piano **Ret** molto maggiore della distanza AB supponiamo di disporre uno schermo opaco, parallelo a **Ret**. Le due direzioni AO e BO' , se d = AB è piccolo, incontreranno lo schermo in due punti assai vicini, che possiamo assimilare al loro punto mediano (P, non rappresentato ma giacente nel piano della figura). P dista in egual misura da A e da B. Le onde in fase (in fase poiché generate dall'onda F che è piana) che si originano da A e da B raggiungono dunque P dopo aver percorso lo stesso tragitto, quindi ancora in fase. Qui interferiscono.

Per "**interferenza**" intendiamo la somma degli effetti di due o più fenomeni ondulatori che si influenzano reciprocamente quando s'incontrano in un dato luogo. In particolare, nel punto P del nostro caso giungono due onde elettro-magnetiche (con centro in A e B) che sono coerenti, come già detto. Se sono **coerenti** significa che i loro rapporti di fase sono costanti; nel caso nostro, non solo sono coerenti, ma anche in concordanza di fase: ciò significa che, quando una delle onde raggiunge un valore determinato (per es. il massimo) del campo, anche

[72] Christiaan HUYGENS (pron. öighens), fisico, matematico ed astronomo olandese (1629-1695).

l'altra si trova nello stesso stato. Gli effetti delle due onde in concordanza di fase si possono allora sommare; l'intensità dell'onda **risultante** è la somma delle intensità delle onde **componenti**; **l'interferenza** si chiama allora "**costruttiva**" o "positiva". Se le onde componenti sono in opposizione di fase, cioè l'una raggiunge il massimo quando l'altra si trova al massimo valore del campo in senso opposto, i loro effetti si sottraggono, e la risultante è meno intensa della componente più intensa o addirittura nulla. Si parla di **interferenza** "**distruttiva"** o "negativa".

Ritornando alla fig. 58, nella direzione AO (oppure BO') si avranno infiniti punti equidistanti da A e B, nei quali giungono due onde in fase e si ha interferenza costruttiva. Nella direzione AO si propaga quindi un'onda con intensità massima; si ha così un "**massimo**" di intensità, denominato "di ordine zero" o "**massimo 0**".

Ma consideriamo ora un'altra direzione, per es. AI (o BI' in fig. 58)[73]. Le onde che si propagano lungo le rette AI e BI' non sono più in fase; infatti la AI percorre rispetto alla BI' un piccolo tratto in più, pari ad AC, ed è in ritardo. Per calcolare questo ritardo, cioè la lunghezza di AC (si suppone di operare in aria o nel vuoto, con n = 1), basta ricordare la definizione della funzione seno (§ 2.2.1) ed osservare che l'angolo CBA è pari ad α essendo α = O'BI' = OAI ; si ha: sen α = AC/AB e quindi (poiché AB è pari al passo **d**) :

$$AC = d \operatorname{sen} \alpha \qquad \text{oppure} \qquad d = \frac{AC}{\operatorname{sen} \alpha} \qquad (51)$$

Ebbene, nella direzione AI , quando si avrà interferenza positiva, cioè un "massimo" di intensità? È chiaro che, con α crescente a partire da 0, ci si allontana dalla condizione di concordanza di fase che si aveva nella direzione AO e quindi l'intensità decresce. Quando AC = $\lambda/2$, le onde AI e BI' si trovano in opposizione di fase, nel senso che quando l'una arriva ad un massimo di ampiezza, l'altra si trova a metà del periodo, e quindi in fase opposta, cioè con un massimo di ampiezza di segno opposto, e si ha interferenza negativa con annullamento (o forte riduzione) della risultante. Dunque, quando AC = $\lambda/2$ si ha un "**minimo**" d'intensità. Aumentando AC, cioè l'angolo α , ovvero l'inclinazione del fascio AI/BI' , si arriverà prima o poi alla condizione per cui AC = λ ; le due onde sono allora in concordanza e si avrà un nuovo "massimo" denominato "di ordine I" o "**massimo I**". Se si continua ad aumentare il valore di α , si avrà una successione di posizioni di minima intensità tutte le volte che AC è pari ad un numero dispari di mezze lunghezze d'onda (AC = (m + ½) λ con **m** intero); infatti in quelle direzioni le due onde saranno in opposizione di fase. Quando invece AC = m λ (sempre con **m** intero), le onde saranno in fase e si avrà un "massimo"; i successivi massimi saranno indicati con l'ordine II, III, ecc. Così la (51) di cui sopra diventa:

$$d = m \lambda / \operatorname{sen} \alpha.$$

Naturalmente, la formazione dei "massimi" non si arresta quando α = 90° (fasci radenti) e si ripete dal lato opposto del reticolo, ma in microscopia interessano solo quelli che l'obbiettivo può accogliere e che si trovano sul lato superiore della fig. 58 e 59.

Dunque, al di là del reticolo colpito dal fascio F di fig. 58, si propaga una raggera di "massimi", di cui quello di ordine 0 ("fascio diretto") ha la stessa direzione del fascio incidente e gli altri sono via via più deviati al crescere del loro ordine (vedi la fig. 59) e disposti simmetricamente rispetto a quello di ordine 0.

Consideriamo ora la fig. 60 che illustra i fenomeni finora illustrati, come avvengono in un microscopio in cui l'oggetto (O) è ancora costituito da un reticolo.

---

[73] Ciò che diremo della direzione AI o BI' si può ripetere per la direzione opposta, simmetrica rispetto ad AO - BO' . Tutti i fenomeni di diffrazione ed interferenza che descriveremo si ripetono da ambo i lati del fascio diretto AO - BO' .

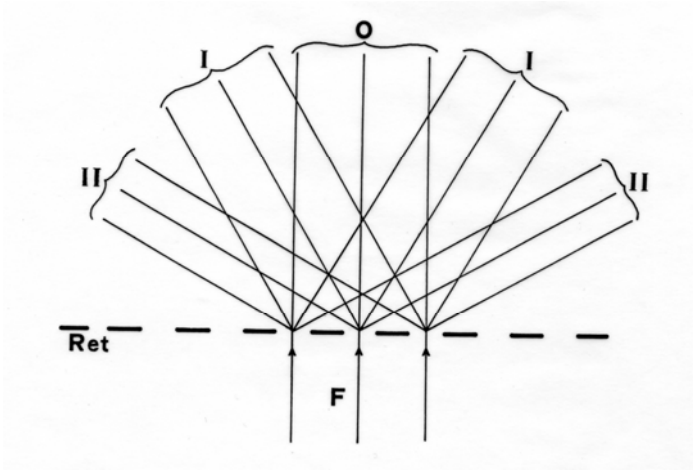


Fig. 59 − Questo schema illutra quanto visto nella figura a pag. 158, due pagine più indietro.

Prima di tutto, un reticolo in genere sarà costituito non da due sole ma da molte righe (basti pensare ad un fascio di fibrille muscolari). Però lo schema considerato finora per due fenditure rimane valido per un numero illimitato di esse. Semplicemente ogni "massimo" sarà costituito dall'interferenza di molte onde tutte in fase: è sufficiente che il passo **d** del reticolo sia costante.

In secondo luogo, la condizione supposta, che il fascio incidente sul reticolo sia parallelo, si realizza come abbiamo detto chiudendo al massimo il diaframma d'apertura (indicato in fig. 60 da L e dal simbolo di una candela). Al limite, se tale diaframma si riducesse ad un punto, poiché esso si trova nel primo piano focale del condensatore, il fascio divergente che da esso proviene verrebbe reso rigorosamente parallelo dal condensatore stesso, supposto privo di aberrazioni.

Così è schematizzato in fig. 60. Se poi il fascio incidente sul reticolo ha un'apertura non nulla (diaframma d'apertura con diametro non trascurabile), anche i massimi originati dalla diffrazione e dall'interferenza non saranno fasci paralleli come schematizzato nelle figg. 58, 59 e 60, ma avranno un'apertura non nulla, cioè saranno formati da un fascio divergente.

Proseguiamo nell'esame della fig. 60. Ovviamente Obj schematizza l'obbiettivo; i vari massimi prodotti dal reticolo (schematizzati come fasci paralleli) vengono resi convergenti dall'obbiettivo nel suo piano focale superiore; in questo dunque avremo tante immagini del diaframma d'apertura L quanti sono i massimi prodotti dal reticolo e raccolti dall'obbiettivo; ne sono rappresentati tre sotto forma di candele, indicati con L'-1 ed L'+1 (massimi di ordine I) e con L'o (massimo 0). Il piano contenente queste immagini diffratte del diaframma fu chiamato da E. Abbe "**immagine primaria**". Oltre questo piano, i tre fasci convergenti divergono di nuovo e si allargano sul piano dell'immagine intermedia (che Abbe chiamò "**immagine secondaria**") che è indicato in fig. 60 con Si0'; l'immagine dell'oggetto è data dunque dalla sovrapposizione (ed interferenza) di tutti i fasci divergenti formati dall'obbiettivo e corrispondenti ad altrettanti massimi diffratti ad opera dell'oggetto.

Questo schema è applicabile a qualunque tipo di oggetto che contenga delle irregolarità e che operi in qualche modo la diffrazione del fascio illuminante proveniente dal condensatore. Nel caso reale, la disposizione dei fasci diffratti sarà generalmente complessa ed irregolare; lo schema illustrato rappresenta una semplificazione, ma i princìpi rimangono.

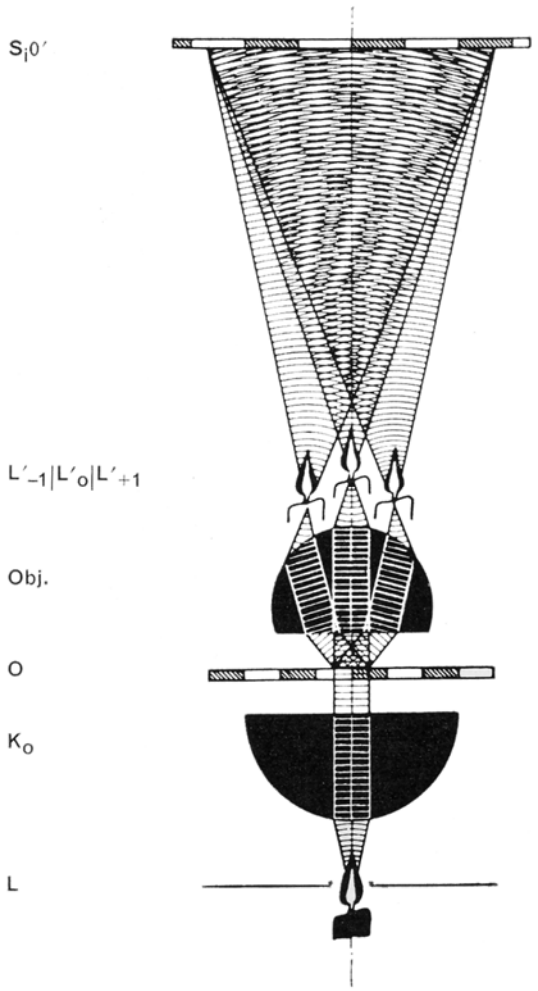


Fig. 60 - Da: A. Schaefer, “Problèmes posèe par l’èclairage de la prèparation microscopique”, “Mikroscopion”, n°10, 1967; ed Wild Heerbrugg, St. Gallen (Suisse)

18.6 - Il SIGNIFICATO dell’APERTURA

Riflettiamo ancora sulla fig. 60.

Prima dell’oggetto O vi è un unico fascio illuminante, schematizzato come parallelo, ma abbiamo visto che il discorso vale anche con fasci convergenti. Dopo l’oggetto, troviamo lo stesso fascio sotto forma di "massimo 0", ma attenuato, sia per l’assorbimento (o la riflessione) operato dalle righe opache del reticolo, sia per opera della diffrazione. Accanto al massimo 0, non diffratto (o "**diretto**"), troviamo però anche i fasci diffratti.

Facciamo ora questa considerazione: se l’oggetto fosse costituito da un filtro grigio, cioè da una lamina assorbente omogenea, priva di struttura interna, non si avrebbe diffrazione, ma solo un fascio diretto attenuato, identico al massimo 0 considerato finora. Se l’oggetto presenta delle irregolarità (di trasparenza, di indice o di spessore), avviene invece la diffrazione e si formano i massimi diffratti.

Dunque il massimo 0 da solo non fornisce alcuna informazione sull’eventuale struttura dell’oggetto ed è in grado di fornire solo un’immagine intermedia omogenea, come un filtro grigio. Invece i massimi diffratti sono i soli a poter determinare se e come l’oggetto è

strutturato, sono essi che contengono l'informazione necessaria per ricostruire l'immagine dell'oggetto.

Si può paragonare il sistema ottico, in particolare l'obbiettivo, ad un sistema di trasmissione radiofonico. Presentiamo nella seguente tabella gli elementi confrontabili dei due sistemi, partendo dall'inizio della catena di trasmissione:

Sistema illuminante	Generatore di "portante" (onda elettromagnetica con frequenza ed ampiezza costante)
Fascio illuminante omogeneo	Portante in trasmissione
Oggetto a struttura non omogenea	Segnale audio o video "modulante"
Massimo 0	Portante in ricezione
Fasci diffratti	Bande laterali
Apertura	Larghezza di banda
Immagine intermedia	Segnale demodulato a bassa frequenza.

Da questo quadro appare chiaro che la sola portante non è in grado di trasmettere il segnale modulante (audio o video) così come il massimo 0 non restituisce la struttura dell'oggetto.

Verso la fine del 1800, E. Abbe suggerì ed eseguì una serie di esperienze che dimostrano questo significato informativo dei massimi diffratti. Per es., eliminando tutti i fasci diffratti con un opportuno diaframma posto nel piano focale superiore dell'obbiettivo, il campo appare omogeneo e la struttura dell'oggetto scompare. Se invece si sopprimono solo i massimi di ordine dispari (I, III, ecc.) lasciando gli altri, la struttura dell'oggetto apparirà più fine del reale, in particolare il "passo" delle sue righe apparirà dimezzato.

Una restituzione fedele della struttura dell'oggetto esigerebbe dunque che l'obbiettivo accogliesse tutta la radiazione diffratta dall'oggetto stesso, cosa ovviamente impossibile dati i limiti teorici e pratici dell'apertura (vedi i §§ 5.2.5 e 16); allo stesso modo, un sistema di trasmissione di segnali elettromagnetici dovrebbe avere una larghezza di banda infinita. Però si può dire che un'indicazione sull'esistenza di una data struttura nell'oggetto si ottiene quando anche una piccola parte dell'energia diffratta viene accolta dall'obbiettivo. Nel caso elementare di un reticolo, è sufficiente che l'obbiettivo accolga una parte dei massimi I, cioè dei primi fasci diffratti; questo significa che **si ha "risoluzione", cioè una qualche rappresentazione**, **nell'immagine**, **della struttura periodica del reticolo quando l'apertura NA dell'obbiettivo è pari ad almeno la metà dell'apertura del massimo I** . È chiaro che in queste condizioni non si vedrà nell'immagine la struttura fedele dell'oggetto (per es. gli spigoli vivi delle righe del reticolo), ma solo una struttura approssimata, come un'alternanza di righe chiare e scure sfumate.[74]

A questo punto, se NA = n sen α è l'apertura dell'obbiettivo che sta osservando un certo reticolo di passo **d** , si ricordi la (51) nel § 18.5 :

$$d = AC/\text{sen}\,\alpha \qquad (51)$$

in cui AC è lo sfasamento fra le due onde che si propagano al di là del reticolo formando un angolo α rispetto al massimo 0, ed interferendo fra loro per formare un "massimo" od un "minimo" (fig. 58). Si è già visto nel § 18.5 che il primo minimo si ha quando $AC = \lambda/2$; quindi, per questo minimo, si ha:

[74] Si può avere risoluzione anche quando viene soppresso il massimo 0 (come avviene nel campo scuro), ma allora l'obbiettivo dovrà accogliere almeno una parte di altri due massimi. Un massimo solo non basta poiché da solo non può creare quei fenomeni d'interferenza che causano i chiari-scuri nell'immagine intermedia.

$$d = \frac{\lambda}{2} \cdot \frac{1}{\text{sen } \alpha}$$

cioè

$$d = \frac{0{,}5\ \lambda}{\text{sen } \alpha}$$

ovvero, nel caso più generale, supponendo che l'apertura NA dell'obbiettivo debba essere almeno eguale all'apertura del primo minimo (sen α), si avrà:

$$d \geq \frac{0{,}5\ \lambda}{NA} \qquad (52)$$

Se allora la NA dell'obbiettivo coincide o supera di poco sen α (quello che compare nella (51)), si può dire che il valore di **d** della (52) rappresenta il limite di risoluzione di quell'obbiettivo, cioè il valore minimo del passo di un reticolo che quell'obbiettivo riesce a risolvere, dunque il suo massimo potere risolutivo.

Confrontiamo ora tre formule, esaminate nelle pagine precedenti e riferite in ogni caso al potere risolutivo:

◊◊ nel § 17.2:

$$d = \frac{\lambda}{2\ NA} = \frac{0{,}5\ \lambda}{NA} \qquad (49)$$

Questa formula esprime il passo minimo del reticolo che viene reso visibile nell'immagine di esso, data da un certo obbiettivo, calcolato in base al contrasto nell'immagine. Si collega nella (49) il limite di risoluzione di un reticolo col valore di contrasto nell'immagine di esso;

◊◊ nella (52) appena considerata si esprime invece il potere risolutivo di un obbiettivo, che osserva un reticolo, in considerazione dei fenomeni di diffrazione operati dal reticolo e del contenuto di informazione della radiazione diffratta. Si trova per il passo minimo risolto del reticolo (d) lo stesso valore.

Questa coincidenza delle due espressioni del potere risolutivo, ottenute con procedimenti logici assai diversi (contrasto nell'immagine oppure diffrazione nell'oggetto), ha un grande significato;

◊◊ se poi si ricorda la (50) nel § 18.3:

$$r = \frac{0{,}61\ \lambda}{NA} \qquad (50)$$

si trova un'espressione assai simile; trattandosi però della risoluzione di oggetti puntiformi, **r** non esprime il passo del reticolo ma la distanza dei punti. Quanto al fattore 0,61 in luogo di 0,5, esso andrebbe spiegato in base all'analisi matematica della formazione della centrica, ma possiamo intuitivamente pensare che la risoluzione di un reticolo, contenente strutture allungate, è più facile della risoluzione per punti, e quindi è logico che per questi ultimi la distanza minima risolvibile (**r**) sia un po' maggiore.

In ogni caso, le tre formule danno un valore del potere risolutivo massimo in funzione degli stessi due fattori: λ ed NA, il che ci dice quali sono le possibilità pratiche di influire sul potere risolutivo e conferma l'importanza dell'apertura. Sempre si ricordi che si tratta di un valore massimo per la risoluzione, che può venir peggiorato da un'infinità di fattori, già ricordati più volte (difetti costruttivi, residui di aberrazioni, sporcizia, sfocature, contrasto non ottimale nell'oggetto, ecc.).

18.7 - La DIFFRAZIONE nella PUPILLA d'OBBIETTIVO

Sempre con riferimento alla fig. 60, è chiaro che, osservando la pupilla dell'obbiettivo (o piuttosto il piano focale superiore di esso e l' "immagine primaria" di Abbe, vedi il § 18.5), si deve vedere una serie di immagini del diaframma d'apertura, una per ogni "massimo" raccolto dall'obbiettivo. Se il diaframma d'apertura è chiuso al massimo, come indicato in fig. 60, si vedranno tanti dischetti luminosi, uno per ogni massimo.

Ma c'è una complicazione: ripensando alla fig. 58 (nel § 18.5), risulta che i raggi che formano il massimo 0 (0 - 0' in fig. 58) sono sempre in fase fra loro, poiché percorrono cammini identici prima di interferire. Questa concordanza di fase non dipende dalla lunghezza d'onda e quindi il massimo 0 non subisce dispersione, cioè appare bianco, o almeno dello stesso colore della radiazione che incide sul reticolo. Invece, per i massimi diffratti, l'interferenza si verifica con uno sfasamento relativo dei due raggi interferenti I - I', pari ad AC ; ma AC va espresso in lunghezze d'onda, e quindi, variando il valore di λ , varia quel valore di AC per il quale si ha concordanza di fase, e quindi varia l'angolo di deviazione (α) del massimo diffratto. In altre parole, un massimo è in realtà costituito da una serie di fasci con direzione diversa, una direzione per ogni valore di λ esistente nel fascio incidente. In luce bianca, il massimo 0 apparirà bianco, ma i massimi di ordine superiore appariranno dispersi, ovvero appariranno come un piccolo spettro con tutti i colori dell'arcobaleno. Se il diaframma d'apertura è centrato, nella pupilla d'obbiettivo si vedrà un dischetto bianco centrale (massimo 0) accompagnato sui due lati da un'identica serie di massimi colorati (vedi le figg. da 61 a 64, che si riferiscono ad oggetti con striature disposte in tre serie a 120° l'una dall'altra, e che producono pertanto tre serie di massimi con una figura globale di stella a sei punte, come spiegato sotto).

18.8 - L'OSSERVAZIONE dei MASSIMI

L'osservazione pratica dei massimi e della diffrazione si può eseguire più facilmente proprio nella pupilla d'obbiettivo, come appena descritto.

Si deve porre sul tavolino e focalizzare un reticolo particolare, cioè un oggetto contenente strutture periodiche (linee o punti) che si ripetono a distanza (con "passo") più o meno costante. Se l'oggetto è troppo piccolo per riempire tutto il campo visivo, si chiude il diaframma di campo fino a che solo l'oggetto (posto al centro del campo) venga illuminato. Se l'oggetto ha un passo molto grande (relativamente), per es. molti μ , i massimi saranno molto vicini, si sovrapporranno parzialmente, e nella pupilla d'obbiettivo si vedrà solo una macchia centrale confusa.

Per trovare reticoli molto fini, conviene ricorrere ad oggetti naturali come scaglie di ali di farfalla, frustoli di **diatomee**, ecc. Queste ultime sono alghe unicellulari marine e d'acqua dolce, dotate di un guscio siliceo finissimo, formato da due valve che si incastrano l'una nell'altra ed hanno dimensioni leggermente diverse. Sono queste valve i cosiddetti "**frustoli**". Spesso i frustoli portano delle sottili sculture in forma di linee o punti ("perle"). I punti di

solito sono allineati in file regolari. In fig. 61 si vede (in parte) un frustolo di *Pleurosigma angulatum* ingrandito circa 850 volte che porta delle "perle" ordinate in tre sistemi di file, formanti fra loro angoli di 120°. Si può paragonare quest'oggetto ad una sovrapposizione di tre reticoli a righe parallele con lo stesso passo; i tre reticoli sono disposti come i raggi di una stella a sei punte. Ognuno di questi tre reticoli deve produrre una serie completa di "massimi"; i massimi 0 dei tre reticoli coincidono e producono al centro del campo una macchia bianca luminosissima: i massimi I appaiono ai bordi della pupilla d'obbiettivo, disposti come i vertici di un esagono: in numero di sei poiché se ne formano due per ogni reticolo elementare. La figura complessiva che appare è mostrata in fig. 62; avendo compreso il meccanismo della diffrazione, sarebbe anche possibile, osservando la fig. 62, calcolare la struttura dell'oggetto che l'ha prodotta e quindi ricostruire l'immagine dell'oggetto in base alla "immagine primaria" di Abbe (§ 18.5) presente nella pupilla d'obbiettivo.

Se ora consideriamo la fig. 63, si vede un frustolo di un'altra diatomea, il *Triceratium favus*, ingrandito circa 340 volte, che ha ancora una struttura a base esagonale, ma con passo assai maggiore. Si possono ancora identificare tre direzioni secondo cui si ripetono periodicamente gli elementi strutturali; l'immagine primaria avrà ancora una simmetria esagonale, ma il numero dei massimi visibili sarà assai maggiore, essendo il passo dei reticoli molto più grande. Questo si può vedere in fig. 64.

In sostanza, tutta la radiazione che forma l'immagine primaria nella pupilla d'obbiettivo è la stessa che poi forma l'immagine intermedia dell'oggetto (l'immagine "secondaria" di Abbe) poiché non esistono diaframmi interposti fra i due piani. Dunque, anche tutta l'informazione che concorre a formare l'immagine intermedia si ritrova nella pupilla d'obbiettivo; essa è semplicemente distribuita in modo diverso. E dall'osservazione di questa distribuzione si può risalire alla struttura dell'oggetto. Su questa base si possono eseguire delle analisi d'immagine ed altre manipolazioni ottiche ("analisi di Fourier" e simili).

Si noti che l'immagine "primaria" di Abbe ha le caratteristiche di un ologramma di cui l'immagine intermedia può rappresentare l'oggetto corrispondente.

18.9 - L'APERTURA del CONDENSATORE e l'ILLUMINAZIONE OBLIQUA

Finora, ed in particolare colla fig. 60, si è parlato della diffrazione operata dagli oggetti a struttura periodica, assimilabili ad un reticolo, supponendo che il fascio che illumina tali oggetti sia perpendicolare ad essi e formato da raggi paralleli (apertura vicino a 0).

Si è però detto (nel § 18.5) che nulla cambia quando il fascio illuminante ha un'apertura non nulla: anche i vari massimi avranno quest'apertura e, invece di essere costituiti da raggi paralleli, saranno formati da un fascio convergente (prima del piano oggetto) o divergente (dopo).

Per meglio capirci, osserviamo la fig. 65. In essa, il cerchio centrale grande a linea intera (PU), di raggio **r** , rappresenta il piano focale superiore dell'obbiettivo (visto dall'oculare). Il raggio **r** esprime l'apertura dell'obbiettivo. In questo piano focale, come si disse nel § 8.8 commentando la fig. 32, appare un'immagine reale del diaframma d'apertura.

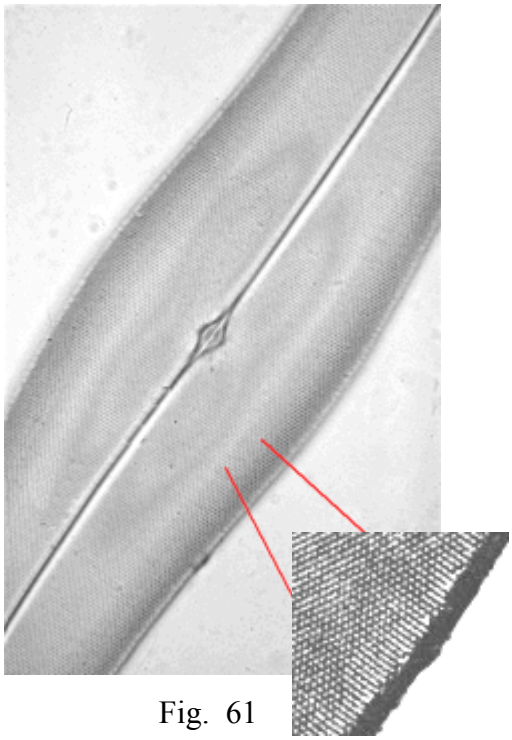


Fig. 61

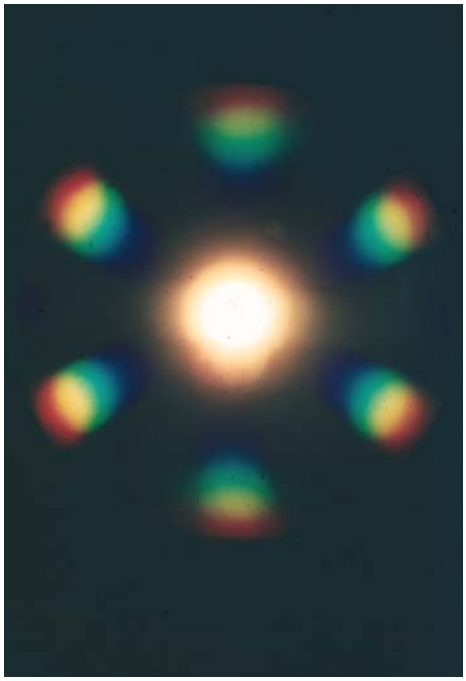


Fig. 62

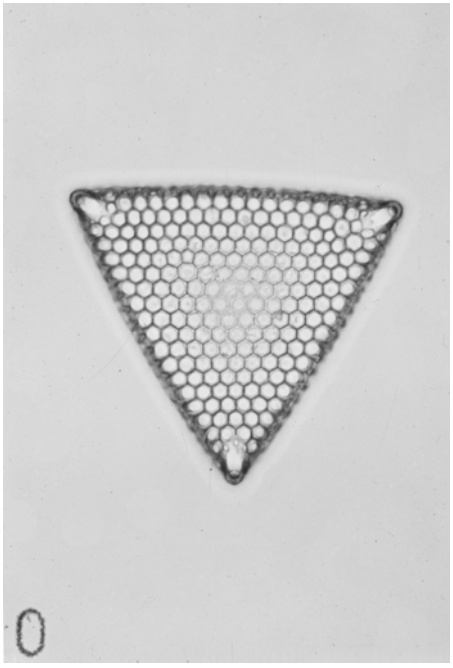


Fig. 63

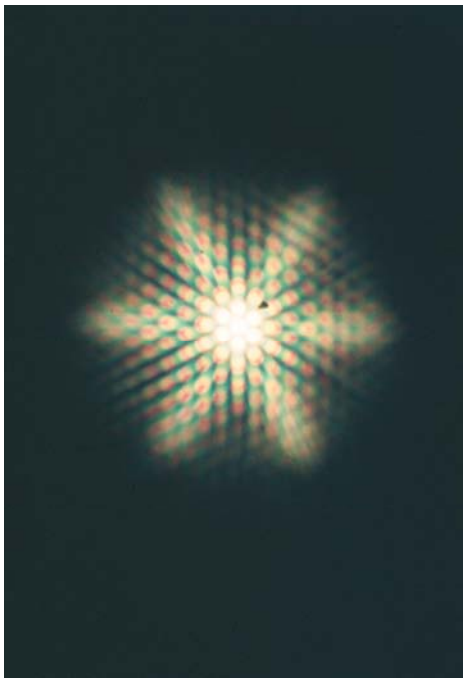


Fig. 64

Il cerchio piccolo indicato con O rappresenta l'immagine di un diaframma molto chiuso e nello stesso tempo rappresenta la sezione del massimo 0, cioè del fascio diretto che ha attraversato un oggetto-reticolo (vedi le figg. 58, 59 e 60). Accanto al massimo 0 si dovranno vedere, simmetricamente dai due lati, le due serie di massimi diffratti[75].

In fig. 65 sono rappresentati solo i due massimi di ordine I , ma si suppone che il reticolo abbia un passo così piccolo (o che l'obbiettivo abbia un'apertura così bassa) che i due massimi I (i due cerchi piccoli marcati I ed I') cadano fuori dalla pupilla d'obbiettivo. La distanza fra i massimi I e quello 0 (D in figura) è un poco inferiore a **2r** . In base a ciò che abbiamo detto, la struttura del reticolo che ha dato luogo ai fenomeni schematizzati in fig. 65 viene risolta con difficoltà da quell'obbiettivo; infatti, considerando ciò che si precisò al § 18.6 ("… si ha risoluzione .... quando l'apertura dell'obbiettivo è pari ad almeno la metà dell'apertura del massimo I…"), si vede in fig. 65 che la pupilla d'obbiettivo PU abbraccia un'apertura che va poco oltre il primo minimo, cioè poco oltre il punto mediano fra O ed I .

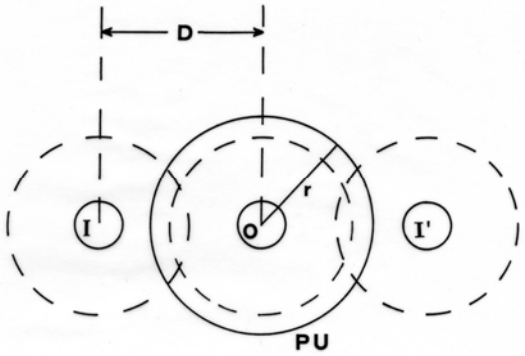


Fig. 65

Ma ora vediamo cosa succede aprendo il diaframma d'apertura; supponiamo di aprirlo finché la sua immagine nel piano focale superiore dell'obbiettivo (cerchio tratteggiato centrale in fig. 65) diviene di poco più piccola del piano focale medesimo PU. È questa la regolazione consigliata nella maggior parte dei casi per il diaframma d'apertura.

Ebbene, se si allarga l'apertura del fascio diretto, si allargano anche i fasci diffratti, nel caso nostro i massimi I, e ciò è indicato dai due cerchi tratteggiati laterali, concentrici ad I ed I' . A questo punto, i fasci diffratti di ordine I invadono parzialmente la pupilla d'obbiettivo e quindi la risoluzione non può che migliorare. Da ciò deriva che, **dal punto di vista della risoluzione, conviene aprire il più possibile il diaframma d'apertura del condensatore** in modo da aumentare la sezione dei massimi diffratti e far sì che essi invadano il più possibile l'apertura dell'obbiettivo PU.

Vedremo nel prossimo capitolo che ciò non è privo di inconvenienti.

Per intanto facciamo notare che tutti i discorsi fatti finora presuppongono che il diaframma d'apertura, e quindi il fascio illuminante, sia centrato; ed infatti, in fig. 65, il cerchio piccolo O è centrato rispetto al cerchio grande PU, e quindi i massimi diffratti come I ed I' sono comunque simmetrici rispetto a PU.

Ma facciamo un altro caso: il condensatore e l'obbiettivo sono centrati rispetto l'asse ottico del microscopio, ma il diaframma d'apertura è decentrato. Per ottenere questo, esistono (ed erano comuni in passato) dei condensatori in cui il diaframma è montato su una piccola slitta con cremagliera in modo da poter essere spostato in direzione radiale. Mancando di tale

[75] Si suppone che l'obbiettivo sia focalizzato su un reticolo di passo opportuno.

slitta, si può sistemare sotto al condensatore, per es. nel portafiltri, un cartoncino con un foro di pochi mm di diametro, spostandolo il più possibile lontano dall'asse.

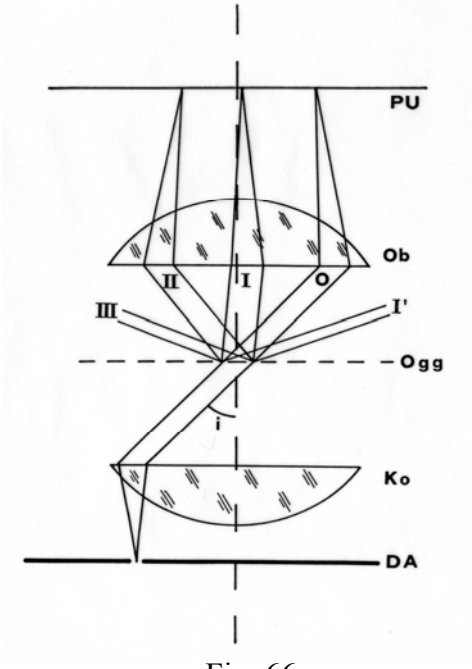


Fig. 66

La fig. 66 mostra schematicamente la sezione di un gruppo condensatore-obbiettivo, illuminato da un fascio obliquo a mezzo di un diaframma eccentrico (supposto molto chiuso per semplicità). Il fascio obliquo produce un massimo 0 pure obliquo il quale converge nel piano PU (piano focale superiore dell'obbiettivo, coniugato col piano del diaframma) e forma così un'immagine eccentrica del diaframma; così è indicato con O in fig. 67 la sezione del massimo 0 ; in questa figura è schematizzata la pupilla dell'obbiettivo (PU) come appare dal punto di vista dell'oculare; la fig. 67 mostra in pianta ciò che nella 66 appare in sezione.

Ebbene, simmetricamente ai lati del massimo 0 , si formano i massimi diffratti. Poiché O è già al margine della pupilla verso destra, da quel lato si avrà una serie di massimi (è indicato solo il primo, I ') che cadono fuori di PU ; ma a sinistra vi è l'intero diametro della pupilla a disposizione dei fasci diffratti (non solo il fascio I come in fig. 65); in fig. 66 e 67 sono rappresentati il primo (I) ed il secondo (II); il terzo cade fuori dall'obbiettivo.

Dunque l'illuminazione obliqua elimina tutta la radiazione diffratta da un lato del massimo 0 , ma la accoglie con un'apertura doppia (di quella dell'obbiettivo) dall'altro lato. Se il massimo 0 è tangente all'orlo della pupilla, si può dire che l'apertura utile di quell'obbiettivo è raddoppiata. Inconveniente: la radiazione diffratta accolta dall'obbiettivo si trova tutta da un lato del massimo 0 ; senza entrare nei dettagli, è intuitivo che nella formazione dell'immagine intermedia si avranno delle asimmetrie: se una struttura dell'oggetto è allungata più o meno perpendicolarmente alla direzione di eccentricità del diaframma (cioè alla direzione II - I - 0 di fig. 67), si avrà un contrasto diverso dai due lati della struttura, più chiaro da un lato, più scuro dall'altro, in modo da simulare un'ombreggiatura. Se la struttura dell'oggetto è invece allungata in direzione parallela all'eccentricità del diaframma, essa apparirà con contrasto minimo.

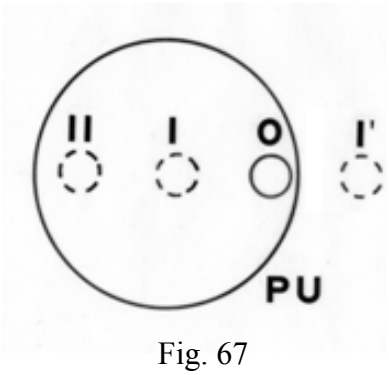


Fig. 67

Concludendo, l'**illuminazione obliqua** produce (a parità di ogni altra condizione) una maggiore risoluzione ed un contrasto più marcato che non l'illuminazione normale, con diaframma centrato. Il miglioramento del contrasto è anzi la ragione principale per cui essa è sempre stata consigliata, specialmente quando non esistevano ancora le **tecniche di contrasto** moderne, come il contrasto di fase ed il contrasto interferenziale. Essa è infatti realizzabile con mezzi tecnici assai semplici.

D'altra parte essa è stata molto contestata proprio per il fatto di fornire un contrasto non omogeneo, direzionale, legato ad una direzione preferenziale.

18.10 - L'APERTURA ed il CONTRASTO - Il CAMPO OSCURO

Si è detto nel capitolo precedente che l'allargamento del diaframma d'apertura porta ad un allargamento dei fasci diffratti e quindi facilita il loro accoglimento da parte dell'obbiettivo e ne migliora la risoluzione[76].

In pratica dunque, nel calcolare la risoluzione di un oggetto assimilabile ad un reticolo, non vale più la (52) (vedi il § 18.6):

$$d = 0{,}5\ \lambda/NA \qquad (52)$$

ma occorre introdurre in essa anche il valore dell'apertura del condensatore (NA_k) oltre quello dell'apertura dell'obbiettivo, che ora indicheremo con NA_o.

Un calcolo esatto non è facile, ma in pratica può bastare questa formula :

$$d = \frac{0{,}5\ \lambda}{\frac{NA_k + NA_o}{2}} = \frac{\lambda}{NA_k + NA_o} \qquad (53)$$

In essa, si considera la media aritmetica dei due valori di apertura; essa è ragionevolmente valida quando quei valori non sono troppo diversi. Infatti, il problema della risoluzione si sovrappone a questo punto con quello del contrasto.

Vediamo ora di abbandonare i casi teorici semplificati (star test, reticoli) e consideriamo

[76] Quando si considerano oggetti puntiformi luminosi, assimilabili allo star test, l'apertura del condensatore ha un'importanza quasi esclusivamente fotometrica; ma per strutture allungate occorre considerare ai fini della risoluzione i fasci diffratti e la loro apertura, legata all'apertura utile del condensatore.

un oggetto reale formato da gran numero di strutture di tutte le dimensioni e le forme possibili, con disposizione reciproca assai varia. Un tale oggetto produrrà un fascio diffratto assai complesso e, se le dimensioni delle sue strutture fini sono abbastanza varie, in quel fascio diffratto non sarà più possibile distinguere massimi o minimi, ma possiamo parlare di radiazione diffratta in tutto il semispazio al di sopra dell'oggetto. In queste condizioni, si può dire che l'obbiettivo, indipendentemente dall'apertura NA_k del condensatore, riceve tutta la radiazione diffratta che gli riesce: in altre parole, la sua pupilla d'uscita ne è totalmente riempita. A questo punto, ripensando alla fig. 65, dobbiamo immaginare la pupilla d'obbiettivo (PU) in cui non si distinguono più i fasci diffratti, ma si ha una sovrapposizione di gran numero di essi; al centro di PU si avrà invece, comunque, il fascio diretto (O).

Ed ora possiamo riprendere le considerazioni del § 18.6 sul significato informativo della diffrazione: l'informazione sulla struttura dell'oggetto proviene dalla radiazione da esso diffratta; il fascio diretto produce invece solo un fondo omogeneo.

Ora, se l'oggetto ha una struttura eterogenea e la radiazione diffratta riempie tutta la pupilla d'obbiettivo, il rapporto fra radiazione diffratta (che crea le strutture nell'immagine) e fascio diretto (che crea un'immagine senza contrasti) aumenta quanto più si riduce l'apertura del massimo 0 cioè del condensatore.

Semplificando, si può concludere che **il contrasto migliora chiudendo il diaframma d'apertura, anche solo perché aumenta il rapporto fra radiazione diffratta e diretta**.

In realtà, si è visto nel § 17.1 (in particolare, §§ 17.1.2 e 17.1.3) che la chiusura del diaframma d'apertura provoca un aumento del contrasto per vari motivi legati all'ottica geometrica ed alla "luce diffusa". Ora sappiamo che anche la diffrazione rientra in questo rapporto fra apertura del condensatore e contrasto.

Così: chiudendo il diaframma d'apertura, diminuisce la luminosità dell'immagine e la risoluzione, mentre aumenta la penetrazione ed il contrasto; aprendolo, si hanno effetti esattamente contrari.

Per finire, facciamo un'altra ipotesi sulla situazione di fig. 66: l'apertura massima del condensatore (NA_k) sia maggiore di quella dell'obbiettivo (NA_o); il diaframma d'apertura sia molto chiuso e molto eccentrico; il massimo 0 (O) sia così inclinato da sfuggire all'obbiettivo; nella pupilla di questo si vedranno allora solo i massimi diffratti. Il fondo dell'immagine apparirà scuro (proprio perché manca il fascio diretto) e l'oggetto apparirà chiaro su questo campo nero: l'immagine dell'oggetto sarà prodotta solo dalla radiazione diffratta. In base ai ragionamenti sopra fatti, il rapporto fra radiazione diffratta e diretta tende all'infinito, mancando il fascio diretto, ed il contrasto dovrà essere massimo. Ed infatti non vi può essere contrasto maggiore di quando l'oggetto è chiaro ed il fondo è scuro. In pratica, vi sarà sempre una perdita di contrasto a causa della radiazione diffusa ed il fondo dell'immagine non sarà mai nero; ma comunque è questa la tecnica di osservazione che produce i contrasti più forti.

Accanto all'illuminazione obliqua, sopra descritta, questo "**fondo scuro**" o "**campo nero**" è una delle **tecniche di contrasto** più facili da realizzare. È sufficiente disporre di un condensatore con un'apertura maggiore di quella dell'obbiettivo e di un diaframma decentrabile. In particolare, questa tecnica si chiama "**fondo nero unilaterale**". Si può avere però anche il "**fondo nero omnilaterale**"; infatti, per evitare l'effetto direzionale del contrasto legato all'illuminazione obliqua, si può illuminare l'oggetto da tutti i lati sostituendo il foro eccentrico discusso finora con un diaframma anulare centrato. Il fascio illuminante avrà così la forma di un cono cavo. È la forma più usata di fondo scuro, e fornisce un'immagine più luminosa poiché il fascio illuminante ha una sezione maggiore. Per forti ingrandimenti, esistono condensatori a fondo scuro speciali, a specchi, anche per obbiettivi ad immersione. Si veda in proposito il § 21.8 (fig. 90) ed il § 30.2.

18.11 - La MISURA dell'APERTURA e della RISOLUZIONE

Si è visto fin dall'inizio che la funzione essenziale del microscopio è la risoluzione (non l'ingrandimento) ed ora siamo in grado di capire che il parametro essenziale per determinarla è l'apertura dell'obbiettivo e del condensatore.

Un modo diretto, ottico-geometrico, di misurare l'apertura è stato accennato nel § 5.2.9, a proposito degli apertometri. Ma ora possiamo pensare ad una misura indiretta, basata sulla (52); si tratta di misurare il passo minimo risolto di un reticolo (d) e da quello risalire alla NA . Occorrerà eliminare con cura tutte le cause di perdita di risoluzione (sfocature, luce diffusa, sporcizia sulle lenti, ecc.), ottimizzare il sistema illuminante, usare un oculare forte per eliminare l'influenza di eventuali difetti visivi dell'osservatore, ecc.

Ma la difficoltà maggiore sta nell'oggetto-test. In linea di principio, bisognerebbe disporre di un reticolo di passo variabile, da circa 10 μ fino a 0,2 μ (massimo potere risolutivo degli obbiettivi ad immersione). Per realizzare tali reticoli con mezzi ottici bisognerebbe disporre di sistemi con risoluzione superiore a quella di un obbiettivo ad immersione, ma ciò non è possibile per le ragioni teoriche dette a suo tempo. Si sono fabbricati in passato reticoli molto fini con mezzi meccanici (come le famose "piastrine di Nobert"[77]), ma essi non sono più in commercio.

Non resta che ricorrere a reticoli naturali. Citiamo le scagliette che ricoprono il dermascheletro di molti insetti (zanzare, "pesciolini d'argento", farfalle, ecc.). Le più usate sono le scaglie delle ali della farfalla *Pyrameis (Vanessa) atalanta* Fab., con strie longitudinali di passo 2 μ, strie trasversali di passo 1 μ e fittissime punteggiature ("perle") di passo 0,5 μ o meno.

Più usati, anche se non facilmente reperibili, sono i vetrini-test contenenti frustoli di Diatomee (vedi il § 18.8 e le figg. 61 e 63) disposti in piccole serie, di passo digradante. Nella tabella che segue sono indicati il passo (ed il valore equivalente espresso in linee per mm) e l'apertura minima che occorre per risolvere la struttura di una serie di frustoli di varie specie.

Si può vedere che con 5 - 10 frustoli opportunamente scelti fra le specie elencate è possibile coprire tutta la gamma dei comuni obbiettivi da microscopio. Si dispongono (almeno idealmente) i frustoli in ordine decrescente di passo; si cerca quello col passo più fine che può essere risolto con un dato obbiettivo. Dal passo del frustolo, a mezzo della tabella, si risale al potere risolutivo del medesimo obbiettivo e da questo, con cautela, alla sua apertura. Le cautele si riferiscono a tutti i fattori che possono abbassare la risoluzione, senza ovviamente alterare l'apertura che è un dato costruttivo dell'obbiettivo. Molto importante nel determinare la risoluzione è infatti il contrasto, che è generalmente basso nel caso dei frustoli di Diatomee, essendo essi costituiti da silice trasparentissima. Per aumentare il contrasto, si usa in genere "montare" i frustoli, cioè conservarli fra porta-oggetto e lamella, dopo averli immersi in un liquido trasparente (che col tempo può indurire), che non abbia lo stesso indice del frustolo. Se la silice dei frustoli ha in media un indice di 1,434 , si ottiene un preparato permanente con buon contrasto usando come **mezzo di montaggio** quello di indice almeno 1,6 (Hyrax, n = 1,650; Aroclor 5442, n = 1,662; Naphrax, n = 1,700; Realgar, n = 2,400). È

[77] F. Adolf NOBERT, tecnico tedesco (1806 - 1881).

possibile anche il montaggio in acqua o aria, che hanno indice minore di 1,434.

Con questi ed analoghi metodi si può dunque misurare la risoluzione di un sistema condensatore-obbiettivo-oculare.

Ma finora abbiamo sempre trattato, senza dirlo apertamente, della risoluzione nel piano dell'oggetto. A volte può invece essere utile conoscere la risoluzione nel piano dell'immagine. Il caso più comune in cui si presenta questa necessità è quando l'immagine finale è reale e va proiettata su una superficie sensibile, come un sensore televisivo o un'emulsione fotografica. Questi sistemi sensibili, per le loro caratteristiche costruttive, possiedono una risoluzione propria, intesa come passo minimo dell'immagine di un reticolo, immagine che possa venire registrata con quel dato sensore. Normalmente, invece del passo **d** , espresso in mm, si usa la grandezza inversa "frequenza spaziale" espressa in "**linee per mm**" (l/mm), già citata, che è l'inverso di **d** , ed esprime il massimo numero di righe del reticolo (della sua immagine) che possono venir registrate su un mm della superficie sensibile[78].

Conoscendo poi le dimensioni della superficie sensibile (espresse in mm) e moltiplicando per la risoluzione (in l/mm) si ottiene il numero totale massimo di righe registrabili su quel dato sensore. Questo può essere utile nei sistemi televisivi, dove viene spesso dichiarato dal costruttore appunto il numero totale di "linee".

Ebbene, dalla risoluzione **d** espressa in mm si può calcolare la risoluzione in linee/mm (l/mm) o in linee totali. Ma come si calcola **d** dal lato dell'immagine ?

È sufficiente pensare che il piano dell'immagine (in questo caso l'immagine finale) ed il piano dell'oggetto sono coniugati; pertanto tutti i fenomeni ed i concetti descritti a proposito del piano oggetto (cerchio di confusione, centrica, risoluzione, ecc.) si possono trasferire da un piano all'altro, tenendo conto dell'ingrandimento. Così il valore **d** che abbiamo imparato a calcolare e misurare sul piano oggetto si può trasferire al piano dell'immagine finale (reale) moltiplicandolo per l'ingrandimento (lineare trasversale) totale del microscopio (M_M).

Quanto ad M_M , se ne è parlato nel § 12.7.

In quanto detto finora, si è fatto riferimento alla risoluzione di reticoli o di oggetti a strutture allungate. Per gli oggetti puntiformi, si è visto che c'è qualche differenza (il fattore 0,5 della (52) diviene 0,61 nella (50)), ma questo non cambia molto. Invece va precisato che, nel caso del microscopio, essendo l'oggetto e l'immagine posti a distanze generalmente piccole e su piani facilmente accessibili, conviene esprimere la risoluzione in lunghezze assolute, riferite al piano oggetto o immagine, come abbiamo fatto finora. Il valore di **d**, che lo si esprima in mm o in μ , rappresenta una distanza, una lunghezza, come anche **r** nella (50).

[78] Si intende un **mm** lineare in direzione perpendicolare alle righe del reticolo e perpendicolare all'asse ottico del sistema.

TABELLA IV

Specie di diatomee i cui frustoli possono servire da reticolo per il controllo del potere risolutivo e dell'apertura. I valori di apertura sono calcolati per $\lambda = 500$ nm e condizioni di osservazione ottimizzate. Molti valori sono arrotondati.

NOME	Passo equivalente (μ)	Linee per mm (l/mm)	Apertura minima richiesta per la risoluzione
Triceratium favus Ehrbg .	5 - 6	180	0,06
Navicula dactylus (strie trasversali)	2,2	450	0,15
Pinnularia nobilis	1,90	520	0,20
Pinnularia opulenta Hust	1,5	660	0,23
Pinnularia viridis	1,33	750	0,25
Nitzschia brebissoni	1,00	1000	0,35
Synedra pulchella	0,83	1200	0,4
Stauroneis phoenicenteron	0,7	1400	0,45
Navicula lyra Ehrbg. (perle)	0,7	1400	0,45
" " " (strie)	1	1000	0,35
Gyrosigma (Pleurosigma) balticum Ehrbg	0,7	1400	0,45
Nitzschia ungarica	0,62	1600	0,55
Pleurosigma attenuatum	0,62	1600	0,55
Grammatophora marina	0,62	1600	0,55
Nitzschia amphioxys	0,55	1800	0,6
Grammatophora serpentina	0,55	1800	0,6
Pleurosigma angulatum W.Sm.	0,51-0,6	1960-1660	0,65-0,6
Nitzschia sigma	0,50	2000	0,65
Grammatophora oceanica	0,46	2200	0,70
Nitzschia paradoxa	0,46	2200	0,70
Surirella gemma Ehrbg.	0,41-0,44	2350	0,9
Grammatophora macilenta	0,38	2600	0,95
Nitzschia sigmoidea	0,38	2600	0,95
Nitzschia obtusa Sm.	0,36	2800	1,0
Nitzschia linearis	0,33	3000	1,1
Navicula rhomboides	0,33	3000	1,1
Nitzschia vermicularis	0,31	3200	1,2
Nitzschia tenuis	0,31	3200	1,2
Nitzschia palea	0,29	3450	1,25
Nitzschia curvula	0,28	3570	1,3
Grammatophora subtilissima	0,26	3800	1,35
Amphipleura pellucida	0,24-0,25	4000	1,4

(Da Langeron, Van Heurck, ecc.)

In altri strumenti, destinati ad osservare oggetti lontani (binocoli, telescopi), data l'inaccessibilità del piano oggetto, non ha più senso parlare di lunghezze in quel piano; si può solo riferirsi all'angolo sotto cui appare una certa lunghezza posta nel piano oggetto. Il potere risolutivo di un cannocchiale o telescopio allora non è più **lineare** ma **angolare**: esso esprime l'angolo minimo sotto cui due punti nell'oggetto si trovano quando possono apparire ancora distinti da un osservatore che guardi attraverso lo strumento.

Per inciso, la formula che permette di calcolare il potere risolutivo angolare di un cannocchiale è :

$$\text{sen } \varepsilon = 1{,}2\ \lambda / d \qquad (54)$$

in cui **d** è il diametro utile dell'obbiettivo (λ e **d** espressi in mm).

Se si ricorda la (20) :

$$f_{\#} = \frac{f}{d}$$

e la (22) :

$$NA = \frac{1}{2\ f\#} \quad \text{ovvero} \quad f_{\#} = \frac{1}{2\ NA}$$

con poche trasformazioni la (54) diventa identica alla (50) e questo è significativo.

Con qualche arrotondamento e qualche semplificazione, la (54) si può esprimere direttamente come angolo di risoluzione ed in funzione del solo diametro dell'obbiettivo:

$$\varepsilon = 150 / d$$

(**d** sempre in mm, ε in secondi d'arco), ed è questo il "limite di Dawes".

18.12 - L'INGRANDIMENTO "UTILE"

Consideriamo ora l'occhio umano. Il suo potere risolutivo angolare, per l'occhio sano in condizioni ottimali, è di circa un minuto primo (1'), il sessantesimo di grado; il seno di questo angolo è 0,00029; se consideriamo la solita distanza convenzionale di osservazione (250 mm pari a 250˙000 μ), a quella distanza un angolo di 1' corrisponde ad una lunghezza di circa 73 μ pari a 14 linee/mm nel piano oggetto.

Per tener conto di qualche eventuale difetto della vista, consideriamo un limite maggiore, compreso fra 100 e 200 μ. Ora, confrontiamo questo potere risolutivo lineare convenzionale dell'occhio con quello del microscopio, sempre riferito al piano oggetto, alla distanza convenzionale di 250 mm. Supponiamo cioè che l'immagine finale del microscopio sia virtuale, a 250 mm dall'occhio dell'osservatore.

Possiamo a questo fine richiamare la

$$r = 0{,}61\ \lambda / NA \qquad (50)$$

ed adottare per λ il valore medio dello spettro ottico (0,55 μ); esprimendo quindi la distanza

minima risolta **r** in μ, si avrà:

$$r = 0{,}61 \cdot 0{,}55 / NA = 0{,}34 / NA \text{ (valore arrotondato).}$$

Ora abbiamo gli elementi per valutare quale è l'**ingrandimento** "**utile**" del microscopio. Intendiamo con questo termine quell'ingrandimento che permette di sfruttare appieno il potere risolutivo dello strumento, cioè il contenuto d'informazione, i dettagli presenti nell'immagine, senza però eccedere per non togliere definizione all'immagine. In altre parole, un ingrandimento inferiore a quello "utile" produrrebbe un'immagine contenente dettagli troppo fini, che l'occhio non potrebbe cogliere; il potere risolutivo del microscopio risulterebbe eccessivo rispetto a quello dell'occhio; un ingrandimento superiore è per contro inutile ("**ingrandimento a vuoto**") in quanto l'occhio "medio" ha già afferrato tutti i dettagli presenti nell'immagine ed un aumento dell'ingrandimento non ne fa comparire dei nuovi. È come ingrandire troppo un negativo fotografico: l'unico risultato è di perdere definizione e l'immagine appare "poco nitida".

Per calcolare l'ingrandimento utile è sufficiente fare il rapporto fra il potere risolutivo convenzionale dell'occhio (da 100 a 200 μ a 250 mm di distanza) e quello del microscopio (0,34 μ / NA); se ne ricavano i seguenti valori: da $\frac{100}{0{,}34}$ NA a $\frac{200}{0{,}34}$ NA cioè da 294 NA a 588 NA.

In pratica, si allarga ancora il margine di sicurezza e si considera l'ingrandimento utile (Vu) compreso fra questi estremi :

$$500 \text{ NA} < Vu < 1000 \text{ NA} \qquad (55)$$

S'intende che parliamo di ingrandimento visuale totale del microscopio.

Calcoliamo ora i limiti di **Vu** per quattro obbiettivi usuali, applicando la (55):

$$\begin{aligned} 4 / 0{,}10 &: 50 < Vu < 100 \\ 10 / 0{,}25 &: 125 < Vu < 250 \\ 40 / 0{,}65 &: 325 < Vu < 650 \\ 100 / 1{,}25 &: 625 < Vu < 1250 \end{aligned}$$

Ecco intanto chiarito che il massimo ingrandimento utile del microscopio è V = 1250 ×, elevabile al massimo a 1450 con obbiettivi apocromatici con NA = 1,45. Un ingrandimento maggiore può rendere più visibili certi dettagli ad un occhio dal visus modesto, ma non aggiunge risoluzione. Occorre perciò diffidare della serietà dei costruttori che offrono ingrandimenti maggiori.

Ora consideriamo qual'è l'ingrandimento di oculare che consente di non superare i limiti di Vu. Abbiamo per V_{ok} (ingrandimento visuale dell'oculare):

$$V_{ok} = \frac{Vu}{M_{ob}} \qquad (56)$$

in cui M_{ob} è l'ingrandimento (lineare) dell'obbiettivo.

Per i quattro casi citati sopra abbiamo, considerando i valori massimi per Vu:

Obb. 4/0,10 : V_{ok} = 100/4 = 25 ×
Obb. 10/0,25 : V_{ok} = 250/10 = 25 ×
Obb. 40/0,65 : V_{ok} = 650/40 = 16 ×
Obb. 100/1,25 : V_{ok} = 1250/100 = 12,5 ×

Come si vede, gli obbiettivi più deboli possono tollerare oculari più forti poiché possiedono un "margine" di risoluzione, nel senso che il loro rapporto apertura/ingrandimento è più forte. Tutti i micrografi esperti sanno che gli obbiettivi deboli danno un'immagine più "nitida" e sono quindi da preferire agli obbiettivi forti, da quel punto di vista.

Si vede anche che gli oculari per gli obbiettivi forti non debbono superare il valore di V_{ok} = 12 - 13 × , salvo casi particolari, ed è sottinteso che nel calcolo dell'ingrandimento utile dell'oculare deve essere inclusa l'influenza di eventuali sistemi intermedi dotati di un "fattore di tubo" (f_t) diverso da 1 (vedi il § 12.7.3).

Ora consideriamo il caso della fotografia. Qui il recettore è un'emulsione fotografica la cui risoluzione, per i tipi commerciali, può andare da 30 a 100 linee/mm (più elevata per le pellicole in bianco e nero e per quelle "dure"). Consideriamo indicativamente un valor medio di 50 linee/mm, per cui d = 1 mm / 50 = 1˙000 μ / 50 = 20 μ. Adesso facciamo il solito rapporto fra la risoluzione del recettore (20 μ) e quella del microscopio che abbiamo già derivato dalla (50) e risulta pari a 0,34 μ/NA. Avremo per l'ingrandimento utile in fotografia: $M_f = \frac{20}{0,34} NA = 59\ NA$. Anche qui conviene tenere un fattore di margine di almeno 2 ×, per cui si arriva alla:

$$100\ NA < M_f < 500\ NA \qquad (57)$$

e si è così sicuri che nessun dettaglio dell'immagine risulterà sommerso dalla grana o altre limitazioni della pellicola.

Come si vede, in fotografia l'ingrandimento totale deve essere assai inferiore a quello che si usa nell'osservazione; ciò significa che l'oculare dovrà essere più debole. Applicando ancora la (56) si ha per la fotografia e per i quattro obbiettivi tipici sopra citati, sempre considerando il valor massimo di M_f:

Obb. 4/0,10 : M_{ok} = 50/4 = 12,5 : 1 (500 NA = 50)
Obb. 10/0,25 : M_{ok} = 125/10 = 12,5 : 1 (500 NA = 125)
Obb. 40/0,65 : M_{ok} = 325/40 = 8 : 1 (500 NA = 325)
Obb. 100/1,25 : M_{ok} = 625/100 = 6,2 : 1 (500 NA = 625)

Si vede che l'ingrandimento utile massimo dell'oculare (ivi compreso un eventuale "fattore di camera" o un fattore di tubo diversi da 1) è in fotografia circa la metà rispetto all'osservazione visuale; in ogni caso, conviene dare ad M_{ok} ed a M_f il valor minimo possibile, non solo per questioni di definizione, ma per rendere meno visibili nella fotografia gli effetti di inevitabili vibrazioni, che vengono ingrandite assieme all'oggetto e producono un aspetto di "mosso". Questo è da tener presente quando si imposta un sistema foto-micrografico, poiché normalmente i costruttori offrono per la fotografia oculari (o i corrispondenti "proiettivi") di ingrandimento eccessivo; questo eccesso di M_{ok} porta anche al risultato che sul formato fotografico risulta utilizzata solo una piccola parte dell'immagine intermedia.

Nel fare queste considerazioni occorre però ricordare quanto si disse nel § 12.6 a proposito della formazione di un'immagine finale reale a distanza finita, come occorre in fotografia: dalla (14) si può calcolare l'ingrandimento lineare dell'oculare M_{ok} :

$$M_{ok} = x' / f \tag{14}$$

Per comodità, essendo più facilmente noto l'ingrandimento visuale $V_{ok} = 250/f_{ok}$ (vedi la (19)), si sostituisce f_{ok} con V_{ok} ; si può così trasformare la (19):

$$f_{ok} = 250 / V_{ok} \tag{58}$$

e la (14) :

$$M_{ok} = \frac{x' \cdot V_{ok}}{250} = V_{ok} \cdot \frac{x'}{250} \tag{59}$$

in cui **x'** è il "tiraggio" della microcamera, cioè la distanza fra emulsione e fuoco superiore dell'oculare[79].

Ebbene, molte microcamere commerciali, specie per il formato "piccolo" o "Leica" (24 × 36 mm) presentano un tiraggio x' inferiore a 250 mm, per cui $M_{ok} < V_{ok}$; l'ingrandimento fotografico (lineare) è così minore di quello visuale. Spesso x' è pari a 125 mm per cui:

$$M_{ok} = V_{ok} \cdot \frac{125}{250} = \frac{V_{ok}}{2}$$

si usa dire così che la microcamera presenta un "fattore di camera pari a 0,5 ×". In questo modo, un oculare 10 × fornisce un ingrandimento lineare M_{ok} = 5:1 ; ciò significa che, sull'emulsione, l'immagine intermedia risulta ingrandita 5 volte.

Comunque, volta per volta, si calcolerà la diagonale del formato fotografico utilizzato (circa 43 mm per il formato Leica), e si avrà cura che essa sia inferiore, ma non troppo, al diametro dell'immagine finale. Quest'ultimo sarà dato dall'indice di campo dell'oculare (§ 7.1) moltiplicato per M_{ok} (vedi la (59)).

Vogliamo infine affrontare il problema dell'ingrandimento utile nell'osservazione visuale (Vu) dal punto di vista della pupilla d'uscita dell'oculare (P) e del suo diametro ($Ø_p$).

Si è detto nel § 9 che tale diametro dovrebbe essere intorno ad 1 mm o di poco inferiore. Si è anche proposto la (26) per calcolare $Ø_p$:

$$Ø_p = 500\ NA / V_M \tag{26}$$

in cui V_M è l'ingrandimento visuale totale del microscopio. Se $Ø_p$ deve essere circa 1 mm, si può calcolare per V_M un valore "normale" :

$$V_M = \frac{500\ NA}{Ø_p} = \frac{500\ NA}{1} = 500\ NA \tag{60}$$

Come si vede, questo valore coincide con quello indicato sopra, nella (55).

---

[79] Questo è facilmente identificabile, come già detto, poiché è molto vicino al "disco di Ramsden" (vedi il § 4.4).

Tutti i ragionamenti fatti sui limiti e sui valori ottimali dell'ingrandimento sono, come è ovvio, soltanto indicativi. Essi tendono a dare la possibilità all'occhio "normale" o ad un'emulsione fotografica di sfruttare al meglio il contenuto, i dettagli, dell'immagine finale. Ma in ogni caso particolare entrano in gioco fattori difficilmente quantificabili e prevedibili: il "visus" dell'osservatore, il contrasto, le caratteristiche dell'emulsione o della superficie sensibile, la natura dei dettagli che più interessano in quel momento, ecc.

19 - GLI OBBIETTIVI DA MICROSCOPIO

Risulta da quanto detto finora che i sistemi ottici essenziali del microscopio composto sono l'obbiettivo e l'oculare.

L'obbiettivo (etimologicamente sarebbe meglio dire "obiettivo" con una b sola) è così chiamato poiché è il sistema che più si rivolge, che più è vicino all'oggetto. Esso inoltre fornisce spesso il massimo contributo all'ingrandimento totale dello strumento. Dovrebbe anche risultare chiaro che i fenomeni di diffrazione, aberrazioni, radiazione diffusa, ecc., che limitano la qualità dell'immagine finale, si verificano in prevalenza nella formazione dell'immagine intermedia, cioè nell'obbiettivo. Pertanto l'obbiettivo è quella parte del microscopio che determina il limite superiore della risoluzione, della definizione, del contrasto, della planarità dell'immagine.

Solo in rari casi (vedi sotto, gli oculari "compensatori", "complanetici", ecc., certe "lenti di tubo") le altre parti dello strumento possono dare un contributo determinante alla qualità dell'immagine o addirittura compensare più o meno completamente certi residui di aberrazioni dell'obbiettivo. *Ma generalmente tutto il sistema ottico del microscopio deve solo consentire il pieno manifestarsi delle prestazioni dell'obbiettivo senza peggiorarle.*

19.1 - LA MONTATURA MECCANICA

Come tutto il sistema ottico del microscopio, anche l'obbiettivo è costituito da lenti limitate da superfici sferiche o piane, tutte centrate su un asse ottico comune.

Ogni lente, che sia semplice o composta di due o tre elementi incollati (doppietto o tripletto), è montata in un cilindretto metallico detto **barilotto** e ad esso fissata con adesivi o mezzi meccanici. I mezzi meccanici possono essere reversibili (per es. anelli filettati che si possono smontare), ma più spesso le lenti dell'obbiettivo sono bloccate da una **ribaditura** (non è esatto dire "ribattitura") dell'orlo del barilotto: l'orlo della lente viene smussato; l'orlo del barilotto viene lasciato sporgere leggermente dall'orlo della lente; dopo l'inserzione della lente, quella parte sporgente viene compressa e ripiegata in modo da appoggiarsi sull'orlo smussato della lente stessa.

La ribaditura è un'operazione irreversibile, nel senso che, per smontare la lente, occorre distruggere l'orlo ribadito del barilotto. Lo smontaggio della lente può essere richiesto, ad es., in caso di alterazione del cemento che unisce i doppietti in modo da poter sostituire il cemento opacizzato ma, dopo, la lente andrà fissata con adesivo.

I barilotti delle singole lenti vanno fissati fra loro nel dovuto ordine. Anticamente, essi erano direttamente avvitati l'uno sull'altro, ma tale sistema difficilmente assicura la necessaria precisione nella centratura reciproca fra le varie lenti.

Da decenni è entrato nell'uso il dare ai barilotti una superficie esterna di forma cilindrica, il cui diametro è lavorato con la precisione di uno o pochi centesimi di mm (fa eccezione la lente "flottante" di cui al § 13.2.4, che ha un diametro più piccolo di 0,1 - 0,3 mm rispetto a quello delle altre lenti).

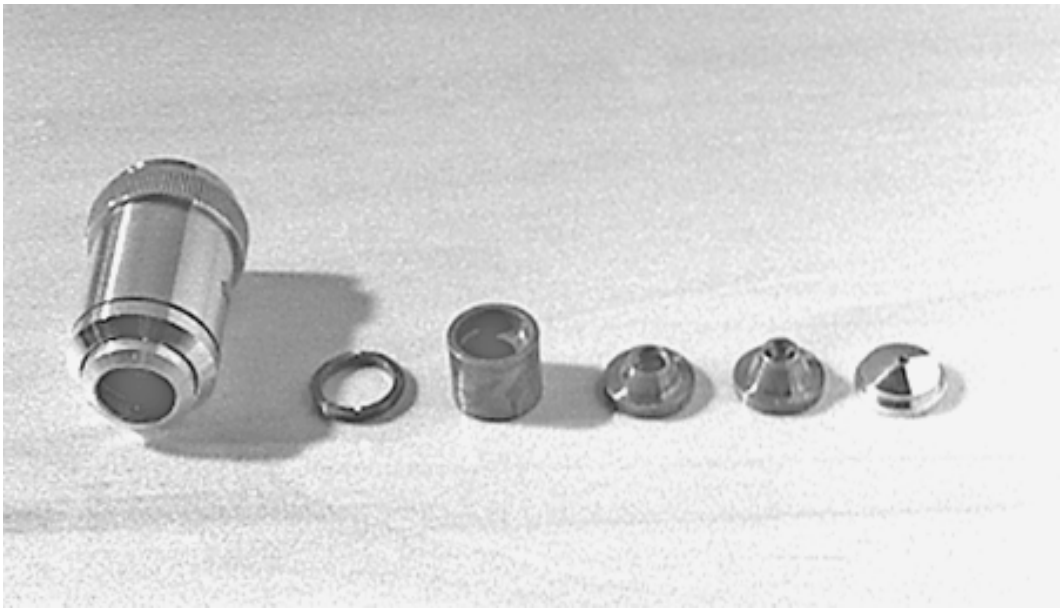


Fig. 68

Tutti i barilotti vengono alloggiati in una **montatura generale** (vedi la fig. 68) di forma cilindrica o conica, che internamente ha forma cilindrica (con un diametro appena un paio di centesimi di mm superiore al diametro esterno dei barilotti delle lenti).

Tale montatura può rappresentare l'ossatura stessa dell'obbiettivo nel senso che contiene le lenti e porta il dispositivo di fissaggio (filettatura o altro, vedi sotto) che lo collega allo stativo, come in fig. 68. Oppure la montatura generale delle lenti può essere un semplice cilindretto con parete sottile che porta le lenti, ma non si fissa direttamente allo stativo (vedi la fig. 69). Si tratta allora di un **barilotto generale** che contiene il sistema delle lenti (cioè i singoli barilotti), ma va alloggiato a sua volta in una vera **montatura** che va fissata allo stativo od al revolver porta-obbiettivi (vedi la fig. 69, a sinistra).

Il pacco delle lenti (o dei singoli barilotti) viene serrato nel barilotto generale, generalmente a mezzo di un anello a vite interno, e quindi può venir disassemblato.

A sua volta, il barilotto generale può venir fissato rigidamente alla montatura, con un passo di vite o altro. Più spesso, il barilotto generale ha una forma cilindrica e scorre all'interno della montatura come uno stantuffo nel cilindro. Poiché la posizione assiale del pacco delle lenti, cioè la distanza fra esso e l'oggetto, deve essere determinata con un errore non troppo superiore alla profondità di fuoco dell'obbiettivo, quindi anche meno di un centesimo di mm, il barilotto generale può essere spinto da una molla contro una battuta che faccia da riferimento: la molla spinge il barilotto in direzione dell'oggetto fino alla battuta che è ricavata dall'orlo inferiore della montatura; vi può essere anche una fenditura in cui scorre una vitolina avvitata sul barilotto stesso o altro congegno.

La battuta stessa può a volte essere regolabile in altezza, cioè permettere di variare la posizione assiale del pacco lenti, in quanto è dovuta ad un anello o cilindretto che si avvita più su o più giù sulla montatura. Tale anello permette così di variare la "lunghezza meccanica" dell'obbiettivo e di perfezionare la "parfocalità" (§ 19.1.2).

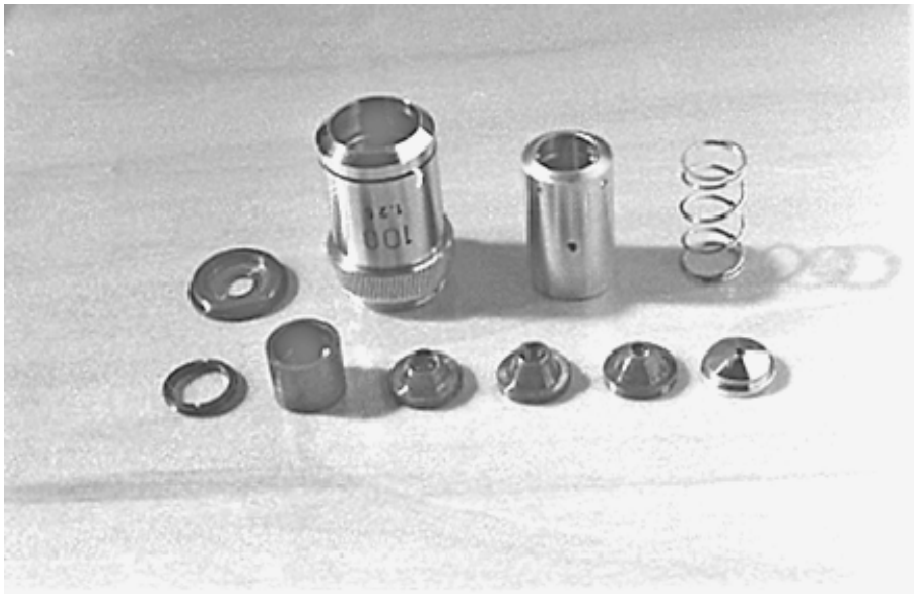


Fig. 69

Se il barilotto generale è spinto dalla molla verso l'oggetto fino a toccare la battuta (fig. 69 a destra), esso può anche rientrare nella montatura se viene spinto dalla parte dell'oggetto. Così un contatto fra obbiettivo ed oggetto difficilmente provoca danni, poiché il gruppo lenti rientra anche di molti millimetri assieme al barilotto generale. Gli obbiettivi così protetti si chiamano "a pompa" o "**molleggiati**" o "**a montatura telescopica**" o "a protezione" ("spring loaded" in inglese) (fig. 70, a sinistra normale, a destra compresso); essi furono introdotti da C. Zeiss nel 1950.

In altri casi, la molla è sostituita da un cilindretto cavo rigido; questo è ottimo per bloccare stabilmente il pacco lenti, ma impedisce la retrazione di esso e quindi l'obbiettivo non è "protetto" dagli urti col vetrino.

Certi obbiettivi, specialmente quelli ad immersione, sono forniti di un meccanismo "retrattore" ("retraction stopper"): il molleggio consente di spingere in alto il barilotto generale ma in più, al termine di questa corsa, il barilotto può venir ruotato di un piccolo angolo e con ciò rimanere bloccato in posizione retratta. Ruotando il barilotto in senso opposto, esso ritorna nella posizione normale. Ciò è prezioso quando si passa dall'immersione ad un obbiettivo a secco, poiché con l'obbiettivo retratto non si corre il rischio di strisciare l'olio sul resto del vetrino durante la rotazione del revolver oppure su un vetrino nuovo.

Spesso, la montatura dell'obbiettivo porta direttamente le varie notazioni che indicano le caratteristiche dell'obbiettivo (vedi il § 19.1.5); altre volte la montatura è ricoperta da un sottile cilindretto metallico o "**camicia**", fissato generalmente con una filettatura, che porta le notazioni e ricopre certe strutture interne dell'obbiettivo (vedi a sinistra nella fig. 69). Non vi sono regole generali sulla struttura meccanica di questa o di altre parti del microscopio.

La lente più esterna dell'obbiettivo, quella rivolta verso l'oggetto, si chiama "**frontale**"; quella più lontana dall'oggetto si chiama "**emergente**".

La lente emergente, specie negli obbiettivi forti di tipo classico, è in posizione ribassata all'interno della montatura e difficilmente visibile dall'esterno. Ciò ne rende difficile la pulizia. In altri casi, specie negli obbiettivi molto deboli ed in certi planari, la lente emergente può affiorare dall'orlo superiore della montatura.

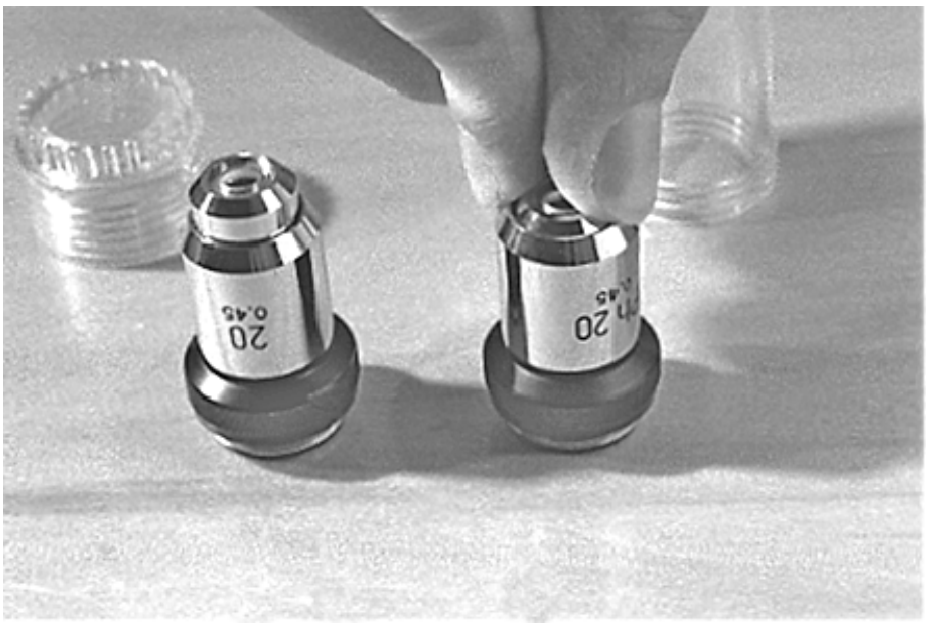


Fig. 70

La lente frontale, in certi obbiettivi molto deboli di tipo classico, può essere molto rientrante nella montatura e quindi ben protetta dalle ditate e da urti con l'oggetto; ma generalmente, specie nei planari, essa affiora sull'orlo della montatura dal lato dell'oggetto. Ciò avviene poiché lo spazio libero lente-oggetto, in questi casi, può essere assai piccolo e si cerca di non diminuirlo ulteriormente per colpa di una sporgenza della montatura. Generalmente, la montatura dal lato oggetto viene assottigliata o almeno resa di forma conica per facilitare l'accesso e la visibilità dell'oggetto. In certi obbiettivi destinati all'episcopia unilaterale (illuminazione di lato di oggetti opachi), la montatura è addirittura appuntita per facilitare l'illuminazione laterale dall'esterno.

Nonostante questo, non è generalmente consigliabile che la superficie esterna della lente frontale rappresenti la superficie più sporgente dell'obbiettivo dal lato oggetto per evitare soprattutto un possibile schiacciamento della lente medesima sull'oggetto durante la messa a fuoco. Nella gran maggioranza dei casi, infatti, la lente frontale è circondata da un orlo metallico che sporge rispetto alla lente di pochi centesimi o decimi di mm. Questa sporgenza, anche se minima, è sufficiente a proteggere la lente frontale in caso di contatto dell'obbiettivo con l'oggetto.

Negli obbiettivi classici, la superficie esterna della lente frontale è piana, e ciò ne facilita la pulizia. In rari casi (obbiettivi deboli, anche planari) essa è convessa; in obbiettivi planari medi e forti essa invece può essere concava, ed il raggio di curvatura di questa superficie può essere anche inferiore ad 1 mm, col risultato che l'obbiettivo appare terminato da un minuscolo pozzetto (§ 19.2.3.2). In questo piccolo incavo sferico si annida facilmente la polvere, dannosa ai fini del contrasto e dannosissima quando si opera in radiazione polarizzata, poiché essa è costituita in genere da materiali birifrangenti e riduce il grado di estinzione. Peggio ancora avviene quando in quell'incavo penetra olio da immersione, balsamo del Canadà o altri fluidi. In questi casi la formazione dell' immagine viene ostacolata ed occorre un'accurata pulizia, anche a mezzo di solventi come lo xilolo.

Certi costruttori evitano questo inconveniente fissando la lente frontale concava ad una sottile lamina plan-parallela di vetro che limita così verso l'esterno il pacco lenti. Fra la lamina e la superficie esterna concava della lente si crea un piccolo spazio pieno d'aria.

Negli obbiettivi ad immersione la superficie esterna della frontale è sempre piana: in

condizioni di immersione omogenea, cioè di uguaglianza di indice, una superficie concava o convessa si comporterebbe come una piana. Pertanto, se un obbiettivo mostra una frontale con la superficie esterna incavata, si può essere certi che è a secco.

19.1.1 - Il fissaggio dell'obbiettivo

L'obbiettivo va fissato rigidamente alla parte meccanica del microscopio (detta "**stativo**"), o direttamente sull'estremità inferiore del tubo (modelli molto semplici, casi particolari) o tramite un dispositivo per il cambio rapido, generalmente del tipo a "**revolver**" (disco girevole che porta due o più obbiettivi) o a slitta.

In ogni caso, i dispositivi di fissaggio dell'obbiettivo al tubo o al revolver devono assicurare un posizionamento rigido, ripetibile e rapido dell'obbiettivo stesso. La rigidità e la repetibilità nella posizione dell'obbiettivo possono solo consentire deviazioni elastiche o stabili contenute entro una piccola frazione del raggio del campo oggetto dell'obbiettivo più forte (pochi centesimi di mm) perpendicolarmente all'asse, o entro i limiti della penetrazione (pochi millesimi) parallelamente all'asse.

Questi dispositivi di fissaggio sono essenzialmente di due tipi:

◊◊ a slitta : si tratta di pattini a "coda di rondine" (ad incastro trapezoidale) o cuneiformi che consentono un'elevata repetibilità di posizionamento. Le slitte consentono il fissaggio di un solo obbiettivo per volta ed in qualche caso comprendono viti di centratura. In quest'ultimo caso, la centratura si fa su di un dato obbiettivo e solo su quello e non deve essere alterata dallo smontaggio e rimontaggio della slitta.

Il fissaggio a slitta viene usato quando la centratura è critica (certi microscopi polarizzatori) o quando l'obbiettivo ha dimensioni maggiori del solito (alcuni microscopi metallografici con obbiettivi episcopici a fondo scuro).

◊◊ a vite: si tratta di un filetto di vite presente sulla parte basale della montatura (dal lato della lente emergente) che si avvita su un'analoga filettatura femmina, ricavata nei fori all'estremità inferiore del tubo o sul revolver.

Storicamente, i parametri delle filettature degli obbiettivi sono variati molto finché, nel 1858 , la "Royal Microscopical Society" di Londra definì e poté rendere molto diffuso il "**passo inglese**" o "**passo RMS"**[80] o "**Society screw**" o "standard screw". Si tratta di un passo inglese con diametro 0,797" e 36 filetti per pollice (circa 20,24 × 0,706 mm), tuttora diffusissimo[81]. Per usi particolari, al fine di evitare l'interscambio di obbiettivi di tipo diverso, sono stati usati altri passi come il M 19 × 0,75 mm (Jena).

Le cose cambiano con gli obbiettivi "a **coniugata infinita**". Infatti questi ultimi lavorano spesso associati con una lente di tubo di focale f = 250 mm o poco inferiore, e tale focale si comporta come la seconda coniugata di un sistema convergente: negli obbiettivi a "**coniugata finita**" invece la seconda coniugata è di solito intorno a 160 mm. Ricordando che in un obbiettivo da microscopio con coniugata finita la coniugata immagine (a') è molto simile al tiraggio (x') e ricordando la (14) (M = x'/f), è chiaro che, a parità d'ingrandimento dell'obbiettivo (M), con una coniugata ed un tiraggio (x') maggiori, anche la focale (**f**) deve essere maggiore. In altre parole, a parità di ingrandimento, un obbiettivo a coniugata infinita ha spesso una focale maggiore del corrispondente obbiettivo a coniugata finita. Il rapporto fra le focali dei due tipi di obbiettivi è spesso 250/160 = 1,56.

---

[80] RMS = Royal Microscopical Society .

[81] Alcuni costruttori adottano oggi un passo metrico assai simile al RMS: 20 × 0,7 mm.

Però, ricordando la (20) ($f_{\#} = f/d$), è chiaro che, a parità di apertura ($f_{\#}$), una maggiore focale (**f**) implica un maggior diametro (**d**) delle lenti.

Concludendo, a parità di ingrandimento e di apertura, un obbiettivo "all'infinito" ha spesso un diametro maggiore di un obbiettivo a coniugata finita.

Perciò, per le moderne serie di obbiettivi "all'infinito", sono stati introdotti nuovi passi di vite con diametri superiori a 20 mm, fino a 26 mm. Il più diffuso è il passo M 25. Nel caso di obbiettivi episcopici a campo scuro, si ha poi una struttura complessa in cui il sistema ottico vero e proprio è circondato da un condensatore anulare. Ciò impone filetti di vite anche maggiori , come M 27 (Lomo), M 30, ecc. (la lettera M indica filetti a misure metriche).

19.1.2 - Lunghezza meccanica e parfocalità

La vite di fissaggio dell'obbiettivo appena descritta termina con una superficie anulare (perpendicolare all'asse) che fornisce un riferimento rigido e preciso per la posizione assiale dell'obbiettivo stesso. Tale superficie è detta "battuta" (fig. 71).

Quando si stringe la vite di fissaggio, cioè si ruota in senso orario l'obbiettivo (visto dalla lente frontale), poiché si tratta sempre di una vite "destra", la battuta va ad appoggiarsi su una corrispondente battuta ricavata attorno al foro filettato destinato ad accogliere l'obbiettivo. Tale foro è ricavato dall'orlo inferiore del tubo del microscopio (nei modelli più semplici) o su una slitta o sul "**revolver**".

Se la vite ha un gioco sufficiente, l'incontro fra le due battute (quella dell'obbiettivo e quella del foro) porta ad una coincidenza dei loro piani e da ciò consegue:

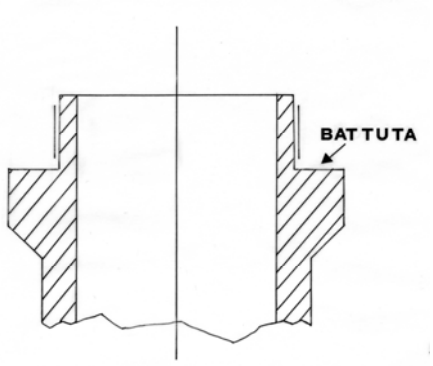


Fig. 71

1) L'asse dell'obbiettivo (perpendicolare alla battuta con buona tolleranza) coincide con l'asse del microscopio (supposto perpendicolare alla battuta del foro).

2) La posizione assiale dell'obbiettivo è ben definita.

Se la battuta dei vari fori presenti sul revolver fosse sempre alla stessa altezza, anche la posizione assiale dei vari obbiettivi sarebbe la stessa ed uno scambio degli obbiettivi sul revolver non altererebbe tale posizione assiale.

Supponiamo per ora che ciò sia vero.

Davanti all'obbiettivo sta l'oggetto, che supponiamo come al solito piano, privo di spessore e perpendicolare all'asse. Come abbiamo già detto, si ricopre spesso l'oggetto con una "lamella" (vedi il § 13.2.3) che è una lamina di vetro a facce piane e parallele, di

spessore modesto (di solito 0,17 mm).

Ebbene, supposto che il sistema di lenti abbia la posizione corretta all'interno della montatura e che la focheggiatura sia perfetta, la distanza assiale fra battuta dell'obbiettivo e piano-oggetto diventa un parametro importante dell'obbiettivo, ed è chiamata "**lunghezza meccanica dell'obbiettivo**". Tale parametro è indicato colla sigla **Lo** e non va confuso con la "lunghezza meccanica del tubo" che è indicata con **Lm** e descritta nel § 10.

La Lo è importante poiché determina la distanza fra il piano oggetto ed i piani principali dell'obbiettivo, cioè la sua coniugata-oggetto e quindi la posizione dell'immagine (vedi la (10)) e l'ingrandimento (vedi la (13)). Supponendo che la struttura dello strumento stabilisca rigidamente la distanza dell'immagine intermedia e delle lenti dell'obbiettivo dalla battuta, è ovvio che la Lo dipende dalle caratteristiche ottiche e dalla posizione delle lenti all'interno dell'obbiettivo.

Per ogni obbiettivo montato su un dato stativo, cioè con una data posizione dell'immagine intermedia, risulta fissata la lunghezza meccanica **Lo** dell'obbiettivo, quindi la posizione nominale dell'oggetto, cioè la posizione di miglior fuoco.

Questa lunga premessa per spiegare il concetto di **parfocalità**.

Consideriamo il caso di uno stativo senza revolver, con attacco a vite per gli obbiettivi. Sostituire l'obbiettivo significa allontanarlo dall'oggetto, svitarlo, avvitarne un altro, riavvicinarlo all'oggetto. Così il miglior fuoco va perso, occorre comunque rifocheggiare, ed a questo punto il valore di Lo non ha molta importanza.

Invece, nel caso di fissaggio a slitta dell'obbiettivo (vedi il § 19.1.1), a volte è possibile sostituire l'obbiettivo senza allontanarlo dall'oggetto. La stessa cosa avviene con i normali revolver. In queste condizioni (la quasi totalità dei casi) è assai comodo ritrovare la messa a fuoco dopo la sostituzione dell'obbiettivo. Questa caratteristica del microscopio si chiama "**parfocalità**" o (autori francesi) "**équilibrage**", e fu introdotta dagli stabilimenti C. Zeiss a Jena nel 1911 su suggerimento di A. Köhler.

I suoi vantaggi sono :

◊◊ dopo il cambio dell'obbiettivo, non si deve ripetere la messa a fuoco; sarà in genere necessario un ritocco, ma l'immagine dell'oggetto è ancora percepibile dopo il cambio, sia pure sfocata. Se il fuoco fosse perduto completamente, non solo si perderebbe tempo, ma in assenza di immagine riconoscibile non si saprebbe da che parte ruotare la manopola, si agirebbe a casaccio e si potrebbe schiacciare l'obbiettivo sul vetrino;

◊◊ non si rischia di incastrare il nuovo obbiettivo contro il vetrino a causa di una differenza di Lo : durante la rotazione del revolver, l'obbiettivo in genere esegue un movimento inclinato rispetto al vetrino (per la forma ricurva del revolver), e si ha l'effetto moltiplicatore del cuneo: una modesta spinta rotatoria sul revolver produce una pressione assai maggiore sul vetrino, se viene toccato. Per evitare ciò, non c'è che dare a tutti gli obbiettivi la stessa lunghezza Lo, cioè renderli parfocali.

Poiché la parfocalità è così utile, tutti i costruttori seri la offrono anche nei modelli economici. Per ottenere ciò, ovviamente il progettista deve determinare tutti i parametri geometrici dell'obbiettivo, in particolare la Lo, con tolleranza di poco superiore alla profondità di fuoco degli obbiettivi forti.

I valori della lunghezza meccanica dell'obbiettivo Lo sono stati in passato molto variabili da un costruttore all'altro: da 25 a 40 mm, ed anche variabili da un'obbiettivo all'altro dello stesso costruttore. Il valore più frequente era forse 33 o 37 mm (o 36,65), ma certi obbiettivi episcopici forti, allo scopo di lasciare più spazio all'oggetto (campioni di rocce, provini metallici, ecc.) erano accorciati fino a 10 mm.

Oggi si tende ad un valore standard (a livello mondiale) di 45 mm, anche per gli obbiettivi "all'infinito" (vedi il § 3.2), ma esistono anche obbiettivi con Lo = 60 mm (costruttori giapponesi), oppure Lo = 75 mm (obbiettivi catadiottrici, episcopici e speciali

{Jena}, ecc.). Un maggior valore della lunghezza di parfocalità è spesso utile nel progetto degli obbiettivi "a seconda coniugata infinita" (§ 3.2.3) i quali, a parità d'ingrandimento, hanno una focale maggiore degli obbiettivi a coniugata finita, come detto sopra.

Per conoscere la Lo di un dato obbiettivo, oltre a consultare i cataloghi del costruttore, si può procedere ad una misura diretta: si mette a fuoco un oggetto sottile (un vetrino) collo strumento corredato degli accessori normali; si ruota il revolver senza toccare la messa a fuoco; si smonta l'obbiettivo e si riporta il foro vuoto in posizione di lavoro; con un compasso si prende la distanza fra vetrino e battuta del revolver e la si riporta su un calibro, un regolo millimetrato o simili.

Con questo metodo si prende una misura per difetto, alla quale va aggiunto lo spessore **d** della lamella che copre l'oggetto; però tale spessore va corretto per l'indice della lamella (circa 1,51) in virtù del fenomeno dell'avanzamento dell'immagine operato dalle lamine plan-parallele (vedi il § 3.2 e la formula (16)). In altre parole, il valore di Lo si deve intendere come distanza fra battuta dell'obbiettivo e piano-oggetto, tenuto conto della presenza della lamella e dell'avanzamento dell'immagine da questa operato.

Vediamo ora, in pratica, quali sono le cause di perdita di parfocalità:

◊◊ i fori del revolver non sono tutti alla stessa altezza; lo si verifica invertendo la posizione di due o più obbiettivi sul revolver e controllando che la differenza di messa a fuoco non si inverta. Non c'è rimedio, a meno di rilavorare la battuta dell'obbiettivo o del revolver;

◊◊ la battuta degli obbiettivi non è lavorata bene: la differenza di messa a fuoco si inverte invertendo due obbiettivi; anche qui occorrerebbe ritornire la battuta;

◊◊ la lunghezza del tubo (**Lm**) non è adeguata. Raramente sono previsti dispositivi di correzione (vedi il § 24.1.1). Naturalmente, questo errore si ripercuote sulla posizione dell'immagine intermedia, quindi sulla coniugata immagine e su quella oggetto, e quindi sulla messa a fuoco, in misura crescente col crescere della focale dell'obbiettivo;

◊◊ analogo meccanismo ed analoghe conseguenze si possono presentare quando si introducono nello strumento certi "tubi intermedi" cioè accessori interposti fra revolver ed oculari per varie funzioni (episcopia, fluorescenza, luce polarizzata, ecc., § 25). In linea di principio, il costruttore dovrebbe provvedere affinché questi tubi non alterino la lunghezza otticamente equivalente del tubo, sia pure alterando la lunghezza meccanica; in altre parole tutti questi tubi dovrebbero essere anch'essi "parfocali". Ma la varietà di tali accessori è così grande che qualche inconveniente è sempre possibile;

◊◊ sempre ad un'alterazione della lunghezza del tubo è da attribuire l'effetto di una sostituzione del tubo porta-oculari (per es. mono o bi-oculare); vale quanto già detto per i tubi intermedi: anche i tubi porta-oculari dello stesso costruttore dovrebbero essere tutti equivalenti, cioè parfocali; ma anche qui non sono rare le brutte sorprese. Vi sono poi tubi mono-oculari e soprattutto bi-oculari in cui il singolo manicotto in cui s'infila l'oculare ha una lunghezza variabile. Questa regolazione ha lo scopo di compensare eventuali ametropie sferiche dell'osservatore, ma il suo effetto è di alterare la lunghezza totale del tubo e quindi la parfocalità (§ 24.1.6). In altri tubi bi-oculari la variazione della distanza fra gli assi degli oculari (necessaria per adattare lo strumento alla distanza interpupillare dell'osservatore) comporta ancora una variazione di Lm ed una perdita di parfocalità (§ 24.1.3);

◊◊ ancora un'alterazione della lunghezza del tubo e della parfocalità nasce da un oculare non adatto, in cui il primo fuoco (e l'immagine intermedia) non si trova all'altezza giusta. Tutti gli oculari previsti per un dato strumento dovrebbero essere controllati anche riguardo a questo aspetto; si può parlare di parfocalità degli oculari (vedi il § 20.2), ma anche qui c'è sempre da aspettarsi qualche sorpresa, specie in strumenti di vecchia data;

◊◊ vi sono poi oculari "regolabili" (vedi il § 12.1) in cui la posizione della lente oculare può variare in direzione assiale. Anche questo comporta una variazione della posizione dell'immagine intermedia con le solite conseguenze. Se però l'oculare regolabile contiene un

reticolo, l'osservatore sarà portato a focalizzare quest'ultimo e quindi a spostare l'immagine intermedia nella posizione corretta (affinché l'oggetto gli appaia a fuoco assieme al reticolo);

◊◊ infine, può accadere che, negli obbiettivi molleggiati (vedi il § 19.1), il barilotto generale non scorra bene nella montatura, o per indurimento del grasso o per penetrazione di polvere, o per deformazione della montatura, ecc. In questi casi, può accadere che il gruppo lenti rientri nella montatura e la molla interna non riesca più a riportarlo in posizione corretta. Ovviamente, ciò comporta una diminuzione di Lo e addio parfocalità.

19.1.3 - Distanza di lavoro

In ottica, si chiama genericamente "**distanza frontale**" di un sistema ottico la distanza assiale fra piano oggetto (o immagine) e superficie esterna della prima lente dal lato dell'oggetto (o dell'immagine).

Tale distanza frontale, a seconda della struttura del sistema, può essere molto maggiore o minore della lunghezza focale di esso; torneremo su questo punto nel § 19.2.3.2.

In microscopia, il concetto di distanza frontale è utile per conoscere la distanza libera (in aria o in olio da immersione) esistente fra obbiettivo ed oggetto, in quanto esso indica quale libertà di accesso all'oggetto vi sia durante l'osservazione. Si parla così di "**distanza libera di lavoro**" o "**distanza di lavoro**" ("**working distance**") e si indica con WD. Ma occorrono alcune precisazioni.

La distanza veramente "libera" non è la frontale in senso stretto, ma la distanza fra orlo della montatura della lente (si è detto che in genere la superficie della lente frontale è protetta da una lieve sporgenza della montatura metallica) e superficie superiore della lamella. Non tutti i costruttori si attengono però a queste precisazioni ed occorre prudenza nell'interpretare i dati di catalogo. Se la lente frontale è concava, si considera la WD rispetto all'orlo della lente (o della sua montatura). S'intende che il valore nominale di WD vale con messa a fuoco corretta e con lamella di spessore corretto. Se si tratta di obbiettivo episcopico o comunque destinato a lavorare senza lamella, la distanza di lavoro si misura rispetto alla superficie reale dell'oggetto.

Occorre anche che la lunghezza del tubo Lm sia corretta, poiché essa influisce sulla lunghezza dell'obbiettivo Lo e quindi sulla WD.

Si suppone infine che l'oggetto aderisca alla superficie inferiore della lamella, nel senso che fra lamella ed oggetto non vi siano spessori imprevisti del materiale di montaggio del preparato.

Naturalmente, un elevato valore della distanza di lavoro WD può essere molto utile quando si devono eseguire manipolazioni sull'oggetto oppure quando si deve esplorare in profondità un oggetto spesso e trasparente; o ancora quando si deve illuminare obliquamente da sopra un oggetto opaco, o quando l'oggetto è contenuto in "camere" riscaldate o refrigerate o sotto vuoto o sotto pressione: tali camere sono in genere chiuse da una finestra di vetro o silice di notevole spessore (vedi il § 27.7.4).

In genere, più elevato è l'ingrandimento e l'apertura dell'obbiettivo, minore è la distanza di lavoro WD. Negli obbiettivi normali forti (da 40:1 in su) la WD può scendere a meno di 0,1 mm; in obbiettivi forti speciali, anche ad immersione, può salire a circa 2 mm. Ma un obbiettivo forte con distanza di lavoro superiore a 2 mm è spesso costruito con ricette completamente diverse, cioè con specchi (obbiettivi catottrici) o con combinazioni di specchi e lenti (catadiottrici, vedi il § 19.3.4).

Negli obbiettivi intorno a 10:1 la WD può aggirarsi fra 5 e 15 mm nei tipi normali,

molto meno nei planari. Intorno a 5:1, la WD nei tipi più semplici può superare 30 mm.

Per misurare la distanza di lavoro di un obbiettivo, lo si mette a fuoco correttamente su un oggetto piano (con lamella se l'obbiettivo è previsto per questo); poi si introduce fra obbiettivo e vetrino una serie di striscie di carta o cartoncino fino a riempire lo spazio disponibile, che è appunto la distanza di lavoro. Si avrà cura di non forzare le striscie di carta per non sollevare gli obbiettivi molleggiati. In seguito, non è difficile con un calibro misurare lo spessore del pacco di striscie. Non è il caso di usare uno spessimetro a lamelle d'acciaio per il rischio di graffiare la lente frontale.

La montatura telescopica degli obbiettivi, di cui si è parlato nel § 19.1, viene oggigiorno usata sempre negli obbiettivi più forti proprio perché la loro distanza di lavoro è minore ed il contatto col vetrino più probabile. Anzi, i costruttori accorti dispongono nei movimenti di messa a fuoco un fine corsa, cioè un dispositivo d'arresto (§§ 26.5.5 e 27.2.2), in modo tale che gli obbiettivi più deboli e più corti (in genere fino al 10:1) non possano mai toccare l'oggetto, e questi sono quindi forniti con montatura rigida. Per gli obbiettivi più forti si usa invece la montatura telescopica poiché la WD è troppo piccola ed il contatto col vetrino è inevitabile; la posizione del suddetto fine corsa deve infatti essere tale da tener conto dello spessore variabile dei porta-oggetti; per poter focalizzare quelli più sottili occorre rischiare il contatto con quelli più grossi: la variazione di spessore dei porta-oggetti può superare 1 mm mentre la distanza di lavoro, si è detto, può essere minore di 0,1 mm.

19.1.4 - La parcentralità o parcentratura

Quando si sostituisce un obbiettivo con un altro, a mezzo di slitte, di revolver o altro, l'asse ottico di un obbiettivo non potrà mai coincidere perfettamente con l'altro; in altre parole, un punto che si trova al centro del campo con un dato obbiettivo, sarà fuori centro con l'altro.

Per ragioni pratiche, si intuisce che questa perdita di centratura non deve essere tale da obbligare ad una nuova ricerca del punto interessato dell'oggetto. In altre parole, dopo qualunque sostituzione dell'obbiettivo, il punto centrale del campo visivo non deve uscire dal campo del nuovo obbiettivo. Come in tutte le cose, c'è una "tolleranza".

La centratura reciproca dei campi dei vari obbiettivi si chiama "**parcentralità**" o "**parcentratura**". Su di essa influiscono alcune cause, tutte di tipo meccanico:

◊◊ Le posizioni di arresto del revolver, ottenute in genere con una molla che penetra in apposite fessure, possono non essere sempre congruenti ed equidistanti.

◊◊ I fori del revolver possono trovarsi in posizione diversa rispetto alle posizioni di arresto o rispetto all'asse di rotazione del revolver.

◊◊ L'asse di rotazione può non essere ben definito a causa di giochi.

◊◊ Il sistema ottico dell'obbiettivo non ha la stessa posizione in tutti gli obbiettivi rispetto alla montatura meccanica.

◊◊ L'attacco a vite sulla montatura dell'obbiettivo non assicura sempre una posizione repetibile in direzione normale all'asse.

Occorre poi che la posizione dei singoli obbiettivi sia stabile nel tempo, indipendentemente dalla posizione rispetto agli altri obbiettivi. Anche qui, si deve pretendere che l'immagine osservata nell'oculare non si sposti apprezzabilmente durante le normali operazioni. Spostamenti laterali stabili dell'immagine osservata sono naturalmente imputabili a tutte le parti meccaniche che reggono sia l'oggetto (tavolino, guida-oggetti, ecc.) sia l'obbiettivo (revolver, braccio, ecc.). Sono però da tollerare spostamenti reversibili, elastici,

che si verificano per pressioni anche lievi sull'obbiettivo, sul revolver, sul tavolino, ecc. Infatti nessun materiale è rigido a sufficienza, e ragioni di peso e d'ingombro vietano di aumentare oltre un certo limite le dimensioni dei vari supporti per irrigidirli. Quello che invece si può pretendere dal costruttore serio è l'assenza o la ripresa dei giochi nelle guide che reggono il tavolino, il revolver, ecc., sempre per evitare fastidiosi spostamenti laterali *irreversibili* dell'oggetto o dell'obbiettivo (vedi il § 26.5.2).

In certi casi, per es. nel contrasto interferenziale, può essere necessario interporre fra obbiettivo e revolver un raccordo contenente opportune parti ottiche. Tale raccordo può introdurre errori nella posizione laterale (ed assiale) dell'obbiettivo e far perdere la parcentratura (e la parfocalità).

Anche un'errata inclinazione del revolver fa perdere la parcentratura (vedi il § 27.2.3).

19.1.4.1 - Obbiettivi centrabili

Per applicazioni particolari, esistono degli obbiettivi in cui il gruppo lenti (o il barilotto generale che lo porta) è centrabile rispetto alla montatura. È chiaro che con questi obbiettivi, a parte la presenza di giochi, è possibile ottenere una parcentratura perfetta o perfezionabile in qualunque momento.

Questi obbiettivi si usano in radiazione polarizzata al fine di centrare tutti gli obbiettivi rispetto al condensatore ed ottimizzare le osservazioni "conoscopiche", oppure rispetto al tavolino girevole. La centratura del gruppo lenti rispetto alla montatura dell'obbiettivo viene ottenuta o con viti perpendicolari all'asse ottico (Wild, ad es.), o con una coppia di anelli eccentrici che affiorano dalla superficie della montatura (Zeiss). Questi movimenti trasversali del gruppo lenti possono coesistere negli obbiettivi forti col movimento telescopico (verticale) degli obbiettivi a pompa. A questo punto, la struttura meccanica diviene assai complessa.

Anche per i movimenti trasversali di centratura, si possono presentare i soliti inconvenienti meccanici: giochi ed instabilità, indurimento e blocco del movimento a causa di grassi induriti o polvere, ecc.

19.1.5 - La notazione sugli obbiettivi

La montatura dell'obbiettivo o la "camicia" che la ricopre (vedi il § 19.1) porta in genere molte indicazioni con cifre, lettere o simboli, incisi al pantografo, disegnati a vernice con metodo serigrafico o altro.

Tali indicazioni possono essere molte, e riportare importanti caratteristiche dell'obbiettivo. Ecco le più comuni.

◊◊ Il nome od il simbolo grafico del costruttore.

◊◊ Il numero di catalogo del costruttore (raramente).

◊◊ Il numero di matricola, formato da quattro, cinque o più cifre decimali (non sempre).

◊◊ L'ingrandimento lineare trasversale indicato come semplice cifra o come rapporto di scala per gli obbiettivi a coniugata finita (es. 25:1) o come cifra seguita da "×" per gli obbiettivi all'infinito (es. 25 ×).

◊◊ L'apertura numerica, magari preceduta dal simbolo NA (Numerical Aperture) o A (Apertur) o ON (Ouverture Numerique).

◊◊ La lunghezza meccanica equivalente del tubo (Lm) espressa in mm, spesso 160 per gli obbiettivi a coniugata finita o ∞ per gli obbiettivi a coniugata infinita.

◊◊ Lo spessore consigliato del coprioggetto (d) espresso in mm, spesso 0,17, oppure 0 per gli obbiettivi episcopici. A volte viene specificato: d = 0,17 oppure d = 0 o simili. Le ultime quattro indicazioni sono in genere riunite a formare un gruppo compatto, con un ordine costante. Es.

40 / 0,65
160 / 0,17

il che indica M = 40:1, NA = 0,65, Lm = 160 mm, d = 0,17 mm. Oppure:

10 / 0,35
∞ / —

il che indica: M = 10 ×, NA = 0,35, Lm = ∞; il segno — (a volte sostituito da DO oppure da 0 (0,17) oppure 0,17(0)) indica che è indifferente la presenza o l'assenza di lamella[82].

È sottinteso che i valori indicati di M ed NA sono nominali, nel senso che possono essere approssimati, e comunque sono validi solo con i prescritti valori di Lm, d, tipo di oculare, ecc.

◊◊ d = 0 oppure 0 oppure OD o NCG indicano obbiettivi da usare senza lamella[83].

◊◊ D indica obbiettivi da usare con lamella normale (d = 0,17).

◊◊ HI, Öl, Oel, Oil o Imm indicano obbiettivi ad immersione omogenea. Quelli ad immersione "quasi omogenea" sono indicati da "Oil" o simili, ma non da HI .

◊◊ WI o W o Wasser indicano obbiettivi ad immersione in acqua; Glyz o Glyc per l'immersione in glicerina. SI per l'immersione in silicone (per la fluorescenza). VI indica obbiettivi ad immersione indifferenti al tipo di liquido (olio, acqua, ecc.; VI = Variable Immersion).

◊◊ Pol o P o SF (strain free) indica obbiettivi predisposti per l'uso in radiazione polarizzata.

◊◊ Ph o Phaco o DL o DM, ecc. indicano obbiettivi a contrasto di fase.

◊◊ P o Pl o Plan indicano obbiettivi a campo spianato (vedi il § 19.2.3.2). SPL o S o S Plan possono indicare obbiettivi "semiplanari" con curvatura di campo ridotta, ma non del tutto "planari".

◊◊ L o LD [84] o LWD indicano obbiettivi a distanza di lavoro elevata.

◊◊ M può indicare obbiettivi episcopici per metallografia;

◊◊ NC o NCG (no cover glass) indica obbiettivi da usare senza lamella (d = 0);

◊◊ HD[85] o BD[86] indica obbiettivi episcopici per campo chiaro e scuro.

◊◊ H[87] indica obbiettivi episcopici per solo campo chiaro oppure per tavolino riscaldante.

◊◊ Iris o "mi" (mit iris) indica obbiettivi per campo scuro con diaframma ad iride incorporato.

◊◊ Corr o Korr o C indicano obbiettivi con anello di correzione per lo spessore della lamella (§ 13.2.3).

◊◊ Q può indicare obbiettivi con lenti in quarzo o silice da usare nella gamma UV. Una L può indicare "uso con Laser" (in episcopia).

◊◊ DI o MI o TI indica obbiettivi per sistemi interferenziali.

◊◊ DIC o NIC indica obbiettivi per contrasto interferenziale differenziale sec. Nomarski.

◊◊ Vi sono poi abbreviazioni che indicano il tipo di correzione cromatica (§ 19.3); gli

---

[82] Questa è una semplificazione: vedi l'ultima nota nel § 16.2.

[83] "OD" è l'acronimo di "Ohne Deckglas" (= senza coprioggetto, in tedesco); "NCG" è l'acronimo di "No Cover Glass" (in inglese).

[84] LD = Long Distance ; LWD = Long Working Distance, sempre in inglese.

[85] HD = Hellfeld-Dunkelfeld = Campo chiaro e scuro, in tedesco.

[86] BD = Bright and Dark field (campo chiaro e scuro, in inglese).

[87] H = Hellfeld (= campo chiaro) oppure = Heiz (= calore, sempre in tedesco = obbiettivi per tavolino riscaldante).

acromatici, i più comuni, non portano in genere alcuna indicazione. I semi-apocromatici portano spesso la sigla Fl o nomi commerciali (Fluotar, Neofluar, ecc.). Gli apocromatici sono indicati con Apo o simili. Vi sono poi combinazioni di abbreviazioni nel caso dei planari: ad es. PlanApo o PApo indica un obbiettivo Apocromatico planare.

◊◊ Le sigle GF o WF o EF[88] o simili indicano gli obbiettivi a grande campo (vedi anche il § 19.2.4). N indica obbiettivi a campo normale; ICS o UIS o CFI (Infinity Corrected System o Universal Infinity System o Chrome-Free Infinity) indicano gli obbiettivi "a coniugata infinita".

◊◊ Spesso si notano sotto alle varie diciture uno o due anelli colorati. Un anello nero (raramente bianco) indica spesso un obbiettivo ad immersione; un anello doppio può indicare un obbiettivo planare; uno o due anelli ondulati possono indicare un obbiettivo a contrasto di fase.

◊◊ "C" (vecchi obbiettivi Leitz) indica "Coated" (con trattamento antiriflesso).

Altre notazioni particolari vengono usate in casi particolari dai vari costruttori.

19.2 - IL SISTEMA OTTICO DELL'OBBIETTIVO DA MICROSCOPIO

Come si è già detto, le caratteristiche dell'immagine finale del microscopio dipendono in buona parte dalle prestazioni dell'obbiettivo, e si è visto a suo tempo come, almeno in centro al campo ("sull'asse"), tale obbiettivo sia otticamente perfetto, cioè "diffraction limited", tranne il caso di strumenti giocattolo.

Degli obbiettivi destinati ad altri usi, solo pochi tipi specialissimi (ad es. quelli destinati alla micro-litografia) possono vantare un simile livello di correzione.

Questa posizione previlegiata dell'obbiettivo da microscopio si spiega in base ad alcune condizioni favorevoli di cui esso gode in via quasi esclusiva e che sono state già accennate nel § 13.3:

1) L'ingrandimento M , salvo casi assai particolari, è fisso.

2) L'apertura NA , in genere, è fissa.

Queste due condizioni consentono di ottimizzare il progetto su valori fissi di M ed NA.

3) La focale e le coniugate sono piccole e pertanto, in scala, è piccolo il cerchio di confusione dovuto alle aberrazioni.

4) Le piccole dimensioni consentono, senza aumentare troppo l'ingombro delle lenti, di raggiungere le massime aperture, e quindi il minimo diametro della centrica. Anche le eventuali disomogeneità dei vetri ottici hanno minor peso in minori dimensioni.

5) Se non esistono in genere problemi di peso ed ingombro, quindi di dimensioni delle lenti, si rende possibile l'uso di materiali particolari e costosi come la fluorite, che facilitano la correzione di certe aberrazioni (cromatiche e sferica, soprattutto).

6) Il campo angolare è piccolo, difficilmente superiore a 3° (semicampo).

7) In certi casi (oculari compensatori, vedi il § 19.3.1, o certe lenti di tubo, § 3.2.3) alcuni residui di aberrazioni dell'obbiettivo possono venir corretti dall'oculare.

8) Di solito è possibile accettare valori molto bassi di penetrazione e ciò permette di raggiungere valori molto elevati di apertura.

9) In molti casi, si può tollerare la curvatura di campo dell'immagine.

Si pensi, per confronto, ad un obbiettivo fotografico che deve lavorare con ingrandimento ed apertura variabile, campo angolare grande, molti limiti di ingombro e peso, l'esigenza di

[88] GF = Grossfeld; WF = Wide Field; EF = Extended Field.

fornire un'immagine piana e con forte profondità di fuoco, focale elevata, ecc. e si capirà la posizione favorevole dell'obbiettivo da microscopio.

19.2.1 - La "luminosità" dell'obbiettivo

Se per luminosità si intende l'illuminazione E sul piano dell'immagine finale del microscopio, si può esprimere E in Lux e definirla come rapporto fra il flusso luminoso totale che giunge sul piano dell'immagine (ϕ[89], espresso in lumen) e la superficie dell'immagine stessa S (espressa in m^2). Si può dimostrare che :

$$E = \frac{\phi}{S} = \frac{\pi \cdot t \cdot B \cdot NA^2}{M_M^2} \qquad (61)$$

in cui **t** indica la "trasparenza" globale del sistema, legata alle perdite per assorbimento nella massa dei vetri, per riflessione alle superfici aria-vetro o per diffusione operata dalle impurità di varia natura; B esprime la brillanza[90] nel piano dell'oggetto, legata alla brillanza Bo della sorgente ed alle caratteristiche del sistema illuminante; NA rappresenta l'apertura utile dell'obbiettivo e per questa si prende il più piccolo dei valori di apertura dell'obbiettivo e del condensatore; M_M indica l'ingrandimento totale del microscopio, ricavabile dalla (32) (o dalla (31) per l'osservazione visuale), come detto nel § 12.7.

È ovvio dalla (61) che, a parità di ogni altra condizione, le immagini più luminose si ottengono: 1) dagli obbiettivi con la massima NA a condizione che l'apertura del condensatore non sia inferiore; 2) dagli obbiettivi più deboli; 3) dagli oculari più deboli. Si noti che M_M figura al quadrato, per cui, passando da un oculare ad es. 10 × ad un 7 ×, la luminosità circa raddoppia: $(10/7)^2 = 2{,}02$. Ciò è da tener presente quando si usano tecniche in cui la luminosità è generalmente bassa (fluorescenza, radiazione polarizzata, campo scuro, ecc.): la tendenza ad aumentare l'ingrandimento si paga cara, sia con la perdita di luminosità, sia con una minore definizione, penetrazione, ecc.

Riguardo all'ingrandimento dell'obbiettivo (M_{ob}) si ricordi che il discorso vale quando l'immagine di un dato oggetto è governata dalle leggi dell'ottica geometrica (ingrandimento, ecc.). Se invece si osserva un oggetto molto piccolo e luminoso (un granulo fluorescente, ad es.), la cui immagine geometrica è più piccola dell'immagine di diffrazione (§ 18.3), le dimensioni dell'immagine sono legate solo alle dimensioni "da diffrazione", cioè all'apertura dell'obbiettivo, e l'ingrandimento non c'entra più.

19.2.2 - La "nitidezza"

Il termine comune "**nitidezza**" corrisponde all'impressione soggettiva prodotta da un'immagine ottica che mostra contorni netti, dettagli fini e contrasti vivi.

Dopo quanto abbiamo detto finora, è chiaro che la nitidezza dell'immagine del

[89] ϕ è la lettera F maiuscola greca (o "fi").

[90] Oggi si dice meglio "luminanza" ed esprime il flusso emesso nell'unità di angolo solido dall'unità di superficie della sorgente.

microscopio dipende in buona parte dall'obbiettivo, ma è legata a fenomeni assai diversi, esaminati a suo tempo. Riassumiamoli:

◊◊ **Definizione**: è una proprietà delle immagini ottiche legata al raggio del "cerchio di confusione" (§ 13.2) inteso come somma degli effetti di tutte le aberrazioni del punto, di eventuali sfocature, di impurità nelle o sulle lenti, ecc. Come si è detto nel § 13.2, il valore del raggio del cerchio di confusione influisce sia sulla risoluzione, sia sul micro-contrasto.

Si noti che definizione e risoluzione, riferiti al piano oggetto, sono indipendenti dall'ingrandimento totale del microscopio (M_M o V_M) a parità di ogni altra condizione. In altre parole, essendo il piano dell'immagine finale ed il piano oggetto coniugati fra loro, si può immaginare che il cerchio di confusione prodotto nell'immagine finale da un punto oggetto, venga riportato nel piano oggetto, tenuto conto dell'ingrandimento; a questo punto si costruisce un oggetto fittizio che non è altro che l'immagine geometrica rimpiccolita del cerchio di confusione quale è presente nell'immagine finale. Ebbene, è intuitivo che il raggio di questo oggetto fittizio (il cerchio di confusione nel piano oggetto), non dipende dall'ingrandimento poiché nel costruirlo si traversa il sistema ottico prima in un senso e poi nell'altro.

In conclusione, la risoluzione o la distanza minima risolta nel piano oggetto non dipende dall'ingrandimento dell'obbiettivo o dell'oculare o da qualche fattore di tubo. Se però si ragiona in termini di risoluzione nel piano dell'immagine finale (indichiamolo con R_{IF}), espressa in linee/mm (vedi il § 18.11), essa dipende dall'ingrandimento totale M_M come espresso dalla (32) nel § 12.7. In altre parole, se nel piano oggetto ho la risoluzione di 0,5μ ed M_M è pari a 200:1, nell'immagine finale la risoluzione R_{IF} sarà di 100μ, pari a 10 linee/mm. Facendo i conti con una serie di obbiettivi reali, ci si accorge che, nel piano dell'immagine finale, si supera difficilmente il valore di $R_{IF} = 30$ linee/mm; poiché una buona emulsione fotografica supera facilmente le 50 l/mm, almeno in B - N, è chiaro che conviene aumentare il più possibile la R_{IF} riducendo M_M . Questa è un'altra ragione per cui gli oculari deboli, almeno in fotografia, sono da preferire. Considerazioni analoghe si sono fatte quando si è parlato dell'ingrandimento utile e del suo calcolo (§ 18.12).

◊◊ **Risoluzione**. Del concetto di risoluzione si è già parlato ripetutamente e si è visto che, in un microscopio di qualità anche modesta, almeno in centro al campo visivo, il limite della risoluzione non è dato tanto dalle aberrazioni del punto quanto dalla diffrazione. In altre parole, in quelle condizioni, il cerchio di confusione dato dalle aberrazioni del punto è più piccolo della centrica (vedi il § 18.3). Il fattore determinante della risoluzione nel piano oggetto è allora l'apertura dell'obbiettivo NA (vedi la (50) o la (51)), non certo l'ingrandimento.

Ricordiamo però che tutti i discorsi fatti sulla risoluzione riguardano il valore superiore, il limite massimo di essa; il valore reale può venir ridotto da varie cause, cui si è già accennato: scarso contrasto nell'oggetto, perdita di contrasto nello strumento (luce diffusa per varie cause, ecc., vedi il § 17); difetti ed aberrazioni del sistema ottico, cattiva pulizia delle lenti, difetti nel vetro ottico, errata regolazione del sistema illuminante (insufficiente apertura del condensatore, errori di centratura, ecc.), errori di messa a fuoco, luminosità eccessiva o insufficiente dell'immagine, vibrazioni che giungono allo strumento da varie sorgenti, difetti nel recettore (emulsione fotografica, occhio, ecc.).

◊◊ **Contrasto**. Quando il contrasto nell'immagine finale del microscopio è basso, anche l'apprezzamento dei dettagli fini viene ostacolato; la risoluzione dello strumento quindi diviene solo parzialmente utilizzabile. Dal punto di vista dell'osservazione o della fotografia, cioè della lettura dell'immagine, una perdita di contrasto porta così una perdita di risoluzione ed ogni recettore (retina dell'occhio, emulsione fotografica, sensore televisivo, ecc.) ha una soglia minima di contrasto al di sotto della quale il campo appare omogeneo (risoluzione nulla).

Questo fatto non va dimenticato mai; nelle migliori condizioni di apertura, risoluzione, ecc. un'immagine poco contrastata può essere difficilmente leggibile ed i dettagli vanno persi. Si è visto nel § 17 il concetto di contrasto ed i fattori che influiscono sul suo valore. Ma non basta preoccuparsi di quelle caratteristiche dello strumento o di quelle manipolazioni che influiscono sulla perdita di contrasto prodotta dallo strumento. Occorre preoccuparsi anche del contrasto nell'oggetto stesso. Su questo si può influire in certi casi con tecniche opportune (colorazioni, ecc.), ma quando ciò non è possibile o non basta, si possono cercare le "tecniche di contrasto" (vedi il § 30) che sono opportune disposizioni strumentali per cui il microscopio può fornire immagini assai più contrastate dell'oggetto o immagini colorate da un oggetto trasparente. Abbiamo già accennato ad alcune di esse (contrasto di fase, contrasto interferenziale in tutte le sue varianti, fondo scuro, fluorescenza, radiazione polarizzata, ecc.), ma di questo si parla più avanti (§ 30).

◊◊ **Penetrazione** . Di penetrazione o profondità di campo si è già parlato nel § 14. Qui vogliamo solo far notare che tutto ciò che si è detto a proposito di definizione, risoluzione, contrasto, ecc. si riferiva ad oggetti piani senza spessore. Quando l'oggetto ha spessore non nullo, ogni punto di esso che è fuori dai limiti della penetrazione appare "sfocato" cioè come alone più o meno confuso vicino o sovrapposto ai punti a fuoco.

Facciamo il caso che il punto sfocato si trovi SOTTO il punto a fuoco. Se la sfocatura è forte, l'immagine di quel punto oggetto è molto allargata e può solo aumentare o diminuire la luminosità del fondo immagine; se la sfocatura è lieve, un altro punto oggetto perfettamente a fuoco viene sovrapposto all'alone creato dal punto sfocato ed il contrasto diminuisce, con le conseguenze che abbiamo discusso poco sopra.

Se invece il punto sfocato è SOPRA il punto a fuoco, si crea una vera e propria mascheratura di quest'ultimo. Ma difficilmente il punto inferiore scomparirà del tutto: in un obbiettivo medio-forte come quello di fig. 72 (poco oltre), l'apertura è sempre elevata; se sopra il punto a fuoco (O in figura) si trova un oggetto non troppo grande e sfocato (O'), i raggi più aperti accettati dall'obbiettivo (tratteggiati in figura) riescono a concorrere alla formazione dell'immagine di O poiché passano intorno al punto O' in virtù della loro forte inclinazione.

Comunque, in questo caso il contrasto verrà maggiormente peggiorato.

Nella tecnica del campo scuro le cose vanno anche peggio, poiché i punti sfocati creano comunque una velatura chiara che impedisce la formazione del fondo nero.

Dunque, il solo fatto che la penetrazione abbia un valore limitato, crea una perdita di contrasto tutte le volte che l'oggetto non è infinitamente sottile.

19.2.3 - La struttura dell'obbiettivo

Si è già parlato nel § 19.1 della struttura meccanica dell'obbiettivo da microscopio; ora parliamo di quella ottica.

Ogni modello di obbiettivo ed ogni costruttore presenta soluzioni differenti, cioè "**ricette**" che puntano da un lato a migliorare le prestazioni del sistema, dall'altro a ridurne la complessità e quindi il costo. L'abilità del progettista e del costruttore sta appunto nel migliorare il rapporto prestazioni/prezzo facendo appello a tutte le risorse scientifiche e tecnologiche (mezzi di calcolo, vetri ottici con le più diverse caratteristiche, tecniche di lavorazione e controllo, ecc.).

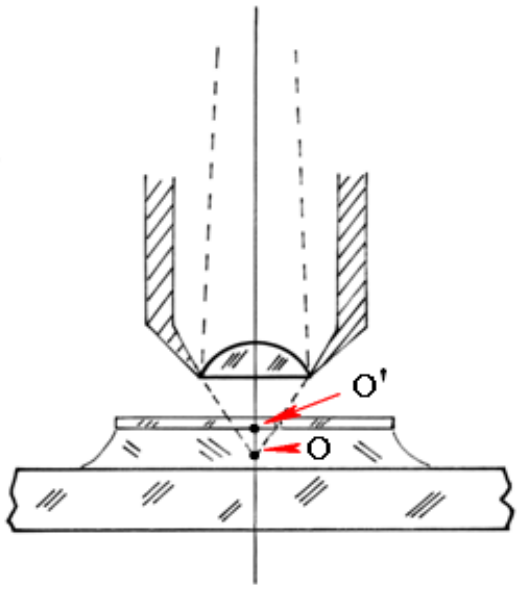


Fig. 72

Qui diamo solo una descrizione sommaria dei principali tipi di ricette di obbiettivi da microscopio.

19.2.3.1 - Obbiettivi classici, a campo non spianato

I modelli più deboli, fino a 6:1, possono essere costituiti semplicemente da un **doppietto** o un **tripletto** (due o tre lenti incollate fra loro) con focale fra 20 e 60 mm.

La distanza frontale è elevata ed a volte superiore alla lunghezza meccanica Lo degli altri obbiettivi, per cui gli obbiettivi molto deboli possono non essere parfocali cogli altri in quanto impongono un forte aumento della distanza obbiettivo-oggetto (ritocco di messa a fuoco).

I modelli di medio ingrandimento (da 10:1 a 20:1) sono spesso formati da due doppietti di cui l'uno compensa le aberrazioni dell'altro (vedi la fig. 73 A e B); la maggior libertà data al progettista può consentire ottimi risultati. Il primo doppietto sta a metà strada fra l'oggetto ed il secondo doppietto; il diaframma è dato dal barilotto del secondo; la distanza fra i due doppietti è uguale alla focale del primo doppietto per cui il piano focale superiore si trova sul secondo doppietto. La focale di quest'ultimo è doppia di quella del primo. In entrambi i doppietti, le lenti divergenti di vetro flint sono rivolte verso l'oggetto. È questa la ricetta degli obbiettivi da proiezione "di Petzval[91]".

Negli obbiettivi forti, da 20:1 in su (fig. 73 C e D), la focale è inferiore a 10 mm, e lo schema più diffuso è quello di Amici[92] (1816), grande innovatore, cui si deve la prima introduzione dell'immersione, come già detto. La lente frontale è semisferica, semplice, di vetro leggero crown; le sue aberrazioni vengono corrette da due doppietti che le stanno sopra, a breve distanza. Quando l'obbiettivo è ad immersione, la frontale si comporta come un **diottro** (superficie semplice di separazione fra due mezzi ottici di diverso indice) in quanto la sua superficie esterna è in contatto con l'olio e quindi otticamente è come se non esistesse.[93]

---

[91] Citato nel § 13.1.1 .

[92] Citato nel § 16.1 .

[93] Uno dei primi costruttori di obbiettivi acromatici (Selligue, Parigi, 1823), ed altri dopo di lui, sovrapponevano 3 – 4 doppietti incollati, singolarmente acromatici. Data la difficoltà di costruire doppietti di forte potenza, e quindi di forte

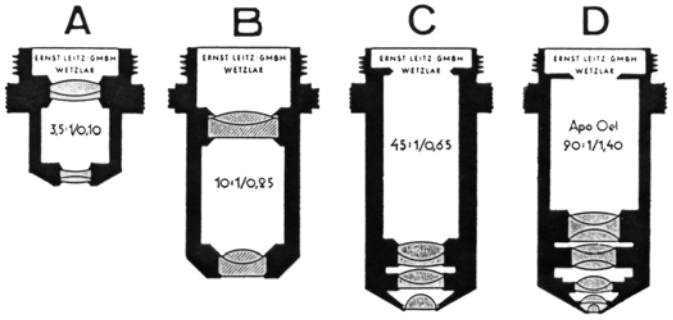


Fig. 73 - Da: H. Detreman e F. Lepush, "Le microscope et son utilisation", Ed. Leitz, Wetzlar, 512-69°, 1974

Ebbene, un diottro sferico risulta corretto di sferica e coma quando si verifica la seguente condizione :

$$a = \frac{n' + n}{n} \cdot r \qquad (62)$$

in cui **a** è la coniugata oggetto del diottro, **r** il suo raggio di curvatura, **n** ed **n'** gli indici lato oggetto e lato immagine. Negli obbiettivi ad immersione questa fortunata condizione, detta "**caso aplanatico**", può esser soddisfatta più o meno perfettamente anche per forti aperture. E c'è un altro vantaggio: si può dimostrare che l'apertura del diottro lato immagine (NA') è pari a quella lato oggetto (NA) diviso il quadrato dell'indice lato oggetto (n), supponendo che l'indice lato immagine (n') sia uguale ad 1, come è il caso della lente frontale di un obbiettivo ad immersione:

$$NA' = \frac{NA}{n^2} \qquad (63)$$

Così, se un obbiettivo ad immersione possiede un'apertura NA = 1,35, dopo la lente frontale la NA' si riduce a 0,6[94], il che facilita la correzione di tutte le aberrazioni acromatiche. C'è però un inconveniente: il caso aplanatico si può verificare solo per una data lunghezza d'onda e quindi il problema delle aberrazioni cromatiche rimane forte.

Negli obbiettivi a secco con frontale semisferica − sempre con la ricetta di Amici − la prima superficie, quando è piana, introduce una forte aberrazione sferica. Si vedrà a proposito degli obbiettivi planari come il caso aplanatico sia realizzabile anche negli obbiettivi a secco.

Comunque, la **sferica zonale** (residuo di sferica nelle zone intermedie quando è corretta l'aberrazione per le zone marginale e parassiale) si riduce diminuendo la distanza di lavoro, che infatti è generalmente piccola.

I due doppietti sovrastanti la frontale sono piano-convessi o a menisco; negli obbiettivi apocromatici (vedi oltre) si può trattare di tripletti (fig. 73 D). Nei modelli più raffinati, sopra la lente frontale vi può essere uno o due menischi sottili convergenti (vedi fig. 8 nel § 2.5), secondo l'innovazione degli americani Tolles e Spencer, chiamata "Duplexfront". Con opportuni accorgimenti, il "caso aplanatico" si può realizzare anche per il menisco sottile sovrastante alla frontale, e ciò spiega l'ampia diffusione di questa ricetta.

---

curvatura e di piccole dimensioni, l'idea geniale di G.B. Amici fu proprio quella di concentrare la potenza dell'obbiettivo in una piccola frontale singola, lasciando le correzioni ai doppietti successivi, più grandi.

[94] Supposto che $n = 1,5$ per cui $n^2 = 2,25$.

19.2.3.2 - Obbiettivi a campo spianato

Abbiamo parlato nel § 13.1.1 dell'aberrazione chiamata **curvatura di campo**, del modo di valutarla, delle sue conseguenze. Abbiamo anche detto che, nell'osservazione visuale, si può compensare la curvatura di campo con un continuo movimento della messa a fuoco, in modo da vedere a fuoco, sia pure in tempi successivi, ogni punto del campo oggetto, supponendo un oggetto sottile.

Ma in fotografia è molto utile poter registrare un'immagine tutta simultaneamente a fuoco.

Gli **obbiettivi** "**planari**" dovrebbero essere quelli in cui la freccia[95] della superficie di miglior fuoco (vedi il § 13.1.1) è minore o uguale alla penetrazione, in modo che la curvatura di campo residua scompare all'interno della penetrazione. Sia la superficie di miglior fuoco che la penetrazione si riferiscono qui allo spazio oggetto e per penetrazione si intende qui la componente "fotografica" come è espressa dalla (36) e dalla (37) nel § 14 .

Tali obbiettivi comparvero ad opera della casa Zeiss di Jena nel 1937 su progetto di H. Böghehold, ma solo nel 1950 sono divenuti disponibili serie complete, anche apocromatiche.

Fino a quell'epoca, gli accorgimenti contro la curvatura di campo erano essenzialmente tre, a carico dell'oculare:

◊◊ Oculari **divergenti** (come gli "Homal" di Zeiss) che si comportano come oculari "galileiani" da cannocchiale, ancora in uso nei binocoli deboli e da teatro; poiché la curvatura di campo di una lente divergente è di segno opposto a quella di una lente convergente, si può avere una parziale compensazione della curvatura dell'obbiettivo. Poiché gli oculari divergenti hanno la pupilla bassa, al di sotto della lente, non possono essere usati per la visione: darebbero un campo angolare piccolissimo; si usano solo per la fotografia.

◊◊ Oculari convergenti "**fotografici"**: si tratta di oculari normali, positivi o negativi, in cui si cerca di ottenere una curvatura di campo di segno opposto a quella dell'obbiettivo. Poiché ciò viene ottenuto introducendo un sensibile astigmatismo, questa soluzione non è diffusa.

◊◊ Oculari **forti**: si può proiettare con essi sul formato fotografico solo la parte centrale dell'immagine intermedia, dove la curvatura è minore (si è detto che questa è proporzionale al quadrato del campo). Questa soluzione è ancora molto diffusa, ma riduce la definizione lato immagine (vedi il § 19.2.2): in fotografia, si è detto, l'ingrandimento totale del microscopio darà immagini tanto più definite quanto più è piccolo.

Al giorno d'oggi, la curvatura del campo viene affrontata nell'obbiettivo stesso. In questo modo, si complica sempre la ricetta dell'obbiettivo ed aumenta il numero delle lenti: vedi la fig. 74 in cui sono confrontati due obbiettivi forti ad immersione; a sinistra, una ricetta classica (due doppietti sopra la frontale, più due menischi sottili); a destra, un planare.

Per diminuire i costi, molti costruttori, anche di fama mondiale, producono obbiettivi planari con forti residui di altre aberrazioni, specie astigmatismo, ed occorre controllare, osservando lo star test ai margini del campo.

Un buon planare può avere un numero di lenti più che doppio del corrispondente non planare, e la presenza di lenti a forte curvatura (i menischi spessi sotto citati) rende molto critica la centratura delle lenti stesse. Da qui la tendenza di certi costruttori a ridurre i costi diminuendo il numero delle lenti (e spesso le prestazioni).

C'è la tendenza a considerare gli obbiettivi planari come migliori di qualunque altro; a parte il caso appena citato di ricette che ottengono la spianatura del campo a spese di altre

[95] Per "freccia" s'intende la massima distanza di una superficie curva dal piano che è tangente al suo orlo.

aberrazioni, a parte quei casi in cui la spianatura si accompagna ad una riduzione di apertura, c'è un inconveniente più generale: la spianatura, si è detto, comporta sempre un aumento del numero delle lenti, ed ogni lente presenta due superfici aria-vetro, che producono una parziale riflessione della radiazione che l'attraversa. Tutta questa radiazione contribuisce alla "luce diffusa" generata all'interno dello strumento e provoca una perdita di contrasto (vedi il § 17.1.2). Gli obbiettivi planari presentano quindi in genere un minor contrasto dei corrispondenti non planari.

La spianatura del campo è comunque indipendente, sul piano concettuale, dalla correzione delle altre aberrazioni: è una difficoltà in più per il progettista (e per il costruttore).

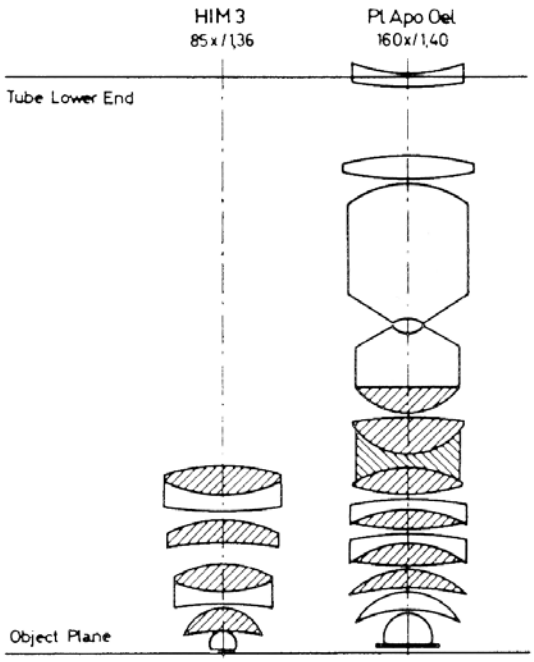


Fig. 74 Da: H. C. Claussen, "Microscope objectives with plano correction", Applied Optics, 3, pag. 993, 1964

È ben vero che, per ridurre i riflessi, esistono i "**trattamenti anti-riflettenti**" (sempre nel § 17.1.2), ma si è anche detto che essi non possono svolgere appieno la loro funzione, sia per la forte curvatura delle lenti (e quindi l'angolo di incidenza variabile), sia perché essi non possono essere usati sulla lente frontale che va pulita spesso.

Anche per l'uso in radiazione polarizzata, gli obbiettivi planari possono avere qualche inconveniente, come una cattiva "estinzione" (le cause di ciò sono varie).

Aggiungiamo ora qualche considerazione a quanto si disse nel § 13.1.1 sulla curvatura dell'immagine. Esprimendo tale curvatura come raggio di curvatura della porzione centrale dell'immagine, ove si suppone che essa sia assimilabile ad una calotta sferica, si può scrivere in prima approssimazione:

$$r = n \cdot f \qquad (64)$$

in cui **r** è il raggio di curvatura dell'immagine, **n** l'indice ed **f** la focale della lente. La (64) si può applicare ad una lente semplice sottile. Questo tipo di curvatura (detto "di Petzval") rappresenta un fenomeno astratto, in assenza di astigmatismo. In un obbiettivo da microscopio, causa il forte spessore delle lenti, che abbassa la loro potenza e richiede un aumento di curvatura delle facce, **r** presenta valori anche minori, per es.:

$$r = f \qquad (65)$$

Ora, in una lente divergente la curvatura è di segno opposto, come si è detto, a quella di una lente convergente. Se si immagina un menisco divergente (§ 2.5) e si prova ad aumentarne lo spessore, si può dimostrare che la sua potenza diminuisce fino ad annullarsi ed invertirsi. In un "**menisco spesso**", in cui lo spessore è simile al raggio di curvatura della faccia convessa[96], la potenza può divenire positiva pur essendo la superficie concava più curva di quella convessa. Un tale "menisco spesso" può diventare quindi convergente, pur conservando una curvatura di campo negativa. Tale menisco può quindi compensare almeno in parte la curvatura di campo delle altre lenti convergenti dell'obbiettivo. In fig. 74 (a destra) si vedono due menischi spessi con le piccole superfici fortemente concave una di fronte all'altra.

Altri mezzi per ridurre la curvatura sono: l'uso di vetri molto rifrangenti (Klein), la riduzione della potenza della lente frontale, ecc. Si usa di frequente negli obbiettivi planari a secco una lente frontale a menisco di elevato spessore, cioè una frontale in cui la superficie esterna non è piana, ma concava con raggio minore della superficie interna convessa. Anche questo è un menisco "spesso" che aiuta a ridurre la curvatura totale dell'obbiettivo, ma con un vantaggio: la superficie esterna, concava, della lente frontale può essere concentrica all'oggetto, vale a dire può costituire una calotta sferica il cui centro è nel punto assiale del piano oggetto. In questo modo, i raggi emergenti da questo punto attraversano la superficie concava della frontale secondo la normale e non vengono rifratti. Si realizza così il caso aplanatico citato sopra, con tutti i vantaggi descritti. La frontale a menisco "spesso" tende però a ridurre la distanza di lavoro WD.

Attualmente, si vanno diffondendo gli obbiettivi "semi-planari", spesso indicati dalla sigla NPl o S o S Plan o SPL, che offrono una parziale correzione della curvatura, in cambio di un ridotto numero di lenti ed un ridotto costo. Sono una via di mezzo fra quelli classici e quelli planari.

Nei planari in senso stretto, si possono distinguere alcuni gruppi :

◊◊ Deboli: vi è un elemento (doppietto o altro) convergente lato immagine ed uno divergente lato oggetto. L'elemento divergente abbassa la distanza di lavoro WD e permette di rendere questi obbiettivi, anche se molto deboli, parfocali cogli altri. Questa ricetta è simile a quella dei tele-obbiettivi fotografici, ma rovesciata; si può avere una focale molto più lunga della frontale.

◊◊ Medi a secco: vi è in genere un menisco spesso in luogo della frontale semisferica; a volte una divergente sottile più in alto. La concavità della frontale ha l'inconveniente già citato di riempirsi facilmente di liquidi o polvere e di rendere difficile la pulizia. L'elemento divergente superiore può trovarsi molto in alto e funzionare come finestra di chiusura superiore dell'obbiettivo. Ciò invece facilita la pulizia.

◊◊ Forti: presso la lente emergente (che può essere negativa) si trovano uno o due menischi spessi con le concavità affacciate; questa combinazione può permettere di avere una distanza di lavoro elevata. Nei tipi a secco vi può essere anche la frontale a menisco. Si possono trovare ancora uno o più elementi divergenti sottili, biconcavi o menischi (fig. 74, a destra).

---

[96] In realtà lo spessore deve essere superiore ad un certo valore: $d \geq \frac{n\,(r' - r'')}{n - 1}$ (66)

in cui r' ed r'' sono i due raggi di curvatura della lente.

19.2.4 - Obbiettivi a grande campo

In ciò che segue parliamo di "campo" dell'obbiettivo in quanto campo lineare immagine: vedi il § 7.

In quella sede si è detto che fra campo immagine Ci e campo oggetto Co vi è un rapporto (fra i loro diametri) pari all'ingrandimento lineare M (formula (13), (14) e (15) nel § 2.6.2.2). Si è detto anche (§ 3.1) che l'immagine data dall'obbiettivo è detta "**immagine intermedia**" e che essa deve formarsi (§ 4.4) nel primo fuoco dell'oculare; in quella sede (vedi il § 5) vi è un diaframma detto "**di campo visivo**" che definisce la porzione di immagine intermedia utilizzata dall'oculare. Il diametro di tale diaframma (o "**indice di campo**", vedi il § 7.1) è quindi il diametro del campo lineare immagine dell'obbiettivo o, più semplicemente "il campo" dell'obbiettivo.

Nel § 7.2 abbiamo poi visto che, negli **oculari** "**negativi**", la lente di campo opera una contrazione dell'immagine intermedia ed il diaframma di campo visivo è più piccolo della immagine intermedia quale si avrebbe in assenza di lente di campo. Ma questo non cambia il concetto di "indice di campo", che si riferisce all'immagine intermedia effettivamente utilizzata, ignorandone la contrazione.

Così chiarito il concetto di campo immagine dell'obbiettivo, è anche chiaro che il corrispettivo **campo oggetto** è dato dal valore del campo immagine diviso per l'ingrandimento lineare trasversale dell'obbiettivo (Mob). A volte è utile conoscere il campo oggetto dell'obbiettivo, per es. per sapere se un dato oggetto verrà "visto tutto" attraverso l'obbiettivo, ed i dati sono normalmente noti: l'ingrandimento dell'obbiettivo (Mob) e l'indice di campo dell'oculare (s'). Il diametro del campo oggetto sarà allora :

$$s = \frac{s'}{M_{ob}} \qquad (67)$$

Nel caso di obbiettivi a coniugata infinita, quanto detto finora resta valido, tenendo conto, nel computo di Mob, dell'effetto della lente di tubo. Se poi esistono accessori intermedi fra obbiettivo ed oculare con un fattore di tubo (f_t) diverso da 1, occorre tener conto anche di quello nel calcolo di Mob.

Parliamo dunque del campo immagine dell'obbiettivo, o dell'obbiettivo + lente di tubo, cioè dell'indice di campo **s'** dell'oculare. Risulta che è l'oculare (o il suo diaframma di campo visivo DV) a determinare il campo dell'obbiettivo, e si è anche detto a suo tempo che un costruttore serio non consiglia mai per un dato obbiettivo l'uso di oculari con un indice di campo **s'** superiore al campo nominale dell'obbiettivo. Per "**campo nominale**" intendiamo il campo dell'obbiettivo all'interno del quale il progettista ha realizzato una correzione delle varie aberrazioni (del punto e del piano) che ha giudicato sufficiente. Fuori del campo nominale, certe aberrazioni possono peggiorare bruscamente ed occorre quindi limitarsi a quegli oculari il cui indice **s'** non supera il diametro del campo nominale.

È anche comodo che una data serie di obbiettivi destinata ad un certo strumento mostri un valore costante di campo nominale in modo da dare prestazioni uguali con un dato oculare.

Ebbene, in passato, ed anche oggi per molti strumenti economici, il campo nominale dell'obbiettivo non supera 18 mm. In queste condizioni, con un normale oculare 10 ×, con indice s' = 18 mm, il campo angolare 2 α (sempre dell'oculare) è pari a circa 40° e questo è definito dai costruttori come il limite verso il "campo grande", in ossequio ad una

convenzione internazionale (vedi il § 20.1). Un obbiettivo con campo inferiore (o uguale) a 18 mm si può allora considerare "normale". Per contro, gli obbiettivi con campo nominale superiore a 18 mm si possono definire "**a campo grande**"; in genere tali obbiettivi presentano un campo da 24 a 32 mm.

Come è possibile però sfruttare campi così grandi con oculari normali? Questi ultimi hanno un diametro esterno di 23,2 mm, per cui il diametro del diaframma di campo visivo non può superare circa 20 mm; come vedremo, si aggira l'ostacolo con oculari di diametro esterno di 30 mm. Ma anche con questi il valore dell'indice di campo s' non può superare 26 - 28 mm. Per sfruttare un campo nominale dell'obbiettivo fino a 32 mm si ricorre allora a "sistemi di tubo" o "**cambiatori d'ingrandimento**" (vedi i §§ 25.1 e 25.2) con un fattore di tubo di 0,8 × o anche meno, il che permette di contrarre l'immagine intermedia nella misura richiesta. Come si è detto più volte, una riduzione dell'ingrandimento totale va sempre a vantaggio della definizione.

Se l'oggetto è sottile e piano (come uno striscio), va da sé che un campo grande dell'obbiettivo non è sfruttabile appieno se non è planare, nel senso che sarebbe poco utile avere un campo grande di cui solo una parte centrale (corrispondente ad es. al 30 % in diametro) fosse a fuoco; l'uso della messa a fuoco dovrebbe essere troppo frequente. Quasi tutti gli obbiettivi a grande campo moderni sono infatti del tipo planare.

Le notazioni per indicare gli obbiettivi a grande campo sono GF ("Grossfeld" in tedesco), WF o EF ("Wide field" o "Extended Field" in inglese) o simili. Quelli a campo normale possono invece essere indicati con una N ("Normal") o NPL (Normal Plan).

19.2.5 - Obbiettivi (da usare) senza lamella

Si è già detto (§ 13.2.3) che spesso l'oggetto del microscopio è coperto da una lamina di vetro a facce piane e parallele, con spessore di solito pari a d = 0,17 mm; tale "**lamella**" o "**copri-oggetto**" funge da protezione, da impermeabilizzazione del preparato e da "finestra ottica"; essa cioè presenta all'obbiettivo una superficie ragionevolmente piana, mentre le irregolarità dell'oggetto vengono livellate (otticamente neutralizzate) da un mezzo di inclusione o di "**montaggio**" (liquido, che eventualmente indurisce col tempo) che riempie lo spazio fra lamella e porta-oggetto, compenetra l'oggetto e lo rende otticamente equivalente a ciò che lo circonda.

Il mezzo di montaggio impregna l'oggetto, lo ricopre, e la lamella lo obbliga a terminare con una superficie piana dalla parte dell'obbiettivo. Se tale mezzo ha un indice simile a quello del vetro, come avviene col classico "balsamo del Canadà" o con i suoi surrogati sintetici, si può dire che fra oggetto e lamella il sistema è otticamente omogeneo, come se l'oggetto facesse parte di un unico mezzo trasparente omogeneo, limitato sopra e sotto da una superficie piana perpendicolare all'asse.

Si è anche detto che tale sistema trasparente fra oggetto ed obbiettivo fa parte del sistema formatore d'immagine del microscopio e fornisce un contributo importante alle aberrazioni dell'obbiettivo, specialmente alla sferica. Il suo spessore va quindi rispettato con cura, e la tolleranza sul suo valore arriva ad 1 o 2 μ con gli obbiettivi più forti a secco. Sulla maggioranza degli obbiettivi è infatti presente la notazione "0,17" oppure "d = 0,17" che indica appunto lo spessore corretto del mezzo interposto fra oggetto ed obbiettivo (lamella + eventuale strato di "mezzo di montaggio").

Per quanto riguarda gli obbiettivi deboli, essi, in virtù della loro limitata apertura, sono poco sensibili allo spessore della lamella fra 0 ed 1 mm ad es. Tali obbiettivi sono marcati con un trattino (vedi il § 19.1.5). La notazione 160/– indica perciò: lunghezza meccanica di tubo

Lm = 160 mm / spessore di lamella indifferente.

Occorre ora parlare di un'altra categoria di obbiettivi, progettati espressamente per lavorare senza lamella. Essi vengono contrassegnati con la notazione d = 0 o semplicemente 0 (es. ∞ / 0 indica Lm = ∞; d = 0). Tali obbiettivi sono mirati ad oggetti particolari: •• oggetti opachi (leghe metalliche, rocce, carboni, materiali ceramici, semiconduttori, ecc.) di cui si osserva una superficie levigata; •• strisci sottili di cellule, sangue, sedimenti urinari, escreti, ecc. che, per l'alto numero di esami esigito dalla routine medico-clinica, richiedono un'osservazione veloce senza lamella.

Nel primo caso, l'illuminazione dall'alto ("illuminazione verticale" o "incidente" o "riflessa" o "**episcopica**", § 30.1), esige dall'obbiettivo una riduzione dei riflessi sulle lenti per limitare le perdite di contrasto. Infatti, il fascio illuminante di solito ("campo chiaro") giunge all'oggetto opaco attraverso le stesse lenti dell'obbiettivo, che funge da condensatore; ogni riflessione sulle lenti crea un velo di luce diffusa che si sovrappone all'immagine dell'oggetto togliendole contrasto; se l'oggetto è poco riflettente (carboni, leghe scure, ecc.) la luce diffusa può essere più intensa dell'immagine utile. Occorre allora evitare almeno il riflesso sulla lamella; l'oggetto viene osservato direttamente, sia pure dopo una levigatura o altri tipi di preparazione. L'obbiettivo deve perciò essere progettato per operare senza lamella.

Nel secondo caso (osservazione di strisci sottili), l'illuminazione è normale, per "luce trasmessa" o "**diascopica**", ma l'assenza di lamella esige ancora un progetto che ne tenga conto. C'è solo un problema, normalmente ignorato dai praticanti; gli elementi depositati sul portaoggetto (cellule, batteri, ecc.) dopo l'essiccazione sporgono dalla superficie del vetrino ed i loro margini costituiscono un piccolo gradino. Lungo il gradino si hanno fenomeni di rifrazione e riflessione totale che presentano il gradino stesso nell'immagine come un orlo nero che nasconde i dettagli. Per evitare questo fenomeno occorre creare una sottile copertura del vetrino con un materiale trasparente; sottile, si è detto, per non creare di nuovo un contributo di sferica come farebbe una lamella non prevista dal calcolo dell'obbiettivo.

In pratica, basta spennellare o spruzzare a "spray" sul vetrino un velo di vernice trasparente qualunque. Esistono prodotti appositi, ma la sottigliezza dello strato non esige un preciso rispetto dei valori di indice, dispersione, ecc. Questa **laccatura** dei vetrini non è priva di inconvenienti, ma è normalmente assai preferibile all'osservazione degli strisci semplicemente essiccati.

Gli obbiettivi senza lamella (d = 0) per questa applicazione, in diascopia, possono strutturalmente essere assai simili a quelli episcopici sopra citati, ma per essi si può avere minor cura nell'eliminazione dei riflessi. Infatti, i fasci riflessi dalle superfici delle lenti in episcopia giungono direttamente all'oculare, mentre in diascopia vengono diretti in basso e solo con una seconda riflessione verso l'alto possono disturbare l'immagine utile. La seconda riflessione ovviamente attenua molto il riflesso.

Per quanto si è detto nel § 13.2.3, dovrebbe riuscire chiaro che, con aperture superiori a circa 0,4, non si può ignorare il contributo portato dalla lamella alla sferica globale del sistema formatore d'immagine; specialmente al di sopra di NA = 0,6, non è possibile usare un obbiettivo normale (d = 0,17) con preparati senza lamella[97], né un obbiettivo "senza lamella" (d = 0) con vetrini coperti da lamella: l'immagine sarebbe affetta da un intollerabile residuo di aberrazione sferica, mostrando un basso contrasto e perdita di risoluzione.

Parlando dell'immersione omogenea (§ 16.5) si è anche detto che l'obbiettivo ad immersione è relativamente insensibile alla presenza o assenza di lamella, e questo sia in

[97] In pratica, si può usare un obbiettivo normale (d = 0,17) anche con oggetti non coperti da lamella con un semplice accorgimento: o si appoggia semplicemente la lamella sull'oggetto (magari interponendovi un velo d'olio da immersione se l'oggetto è piano), oppure si ritaglia un dischetto da una lamella (controllare prima lo spessore con un "Palmer") e lo si incolla per i bordi sulla montatura della lente frontale dell'obbiettivo. Questo metodo è valido in diascopia, ma in episcopia la lamella produce un dannoso riflesso.

diascopia che in episcopia. In diascopia, questo significa che tutti i vetrini potrebbero essere confezionati senza lamella; basta disporre di obbiettivi ad immersione per i vari ingrandimenti desiderati, e di ciò si è già parlato nel § 16.3. Nel caso dell'immersione "quasi omogenea" (§ 16.1) l'obbiettivo ad immersione non è del tutto indifferente all'assenza di lamella proprio per la non identità di indice fra olio e lamella.

Per il caso dell'episcopia, l'obbiettivo ad immersione non offre solo il vantaggio dell'insensibilità allo spessore della lamella; l'omogeneità di indice fra oggetto, olio ed obbiettivo elimina o riduce molto il riflesso alla superficie dell'oggetto (specie quando l'oggetto è lucidato) ed alla superficie esterna della lente frontale. Si è detto nel § 16.2 che esistono obbiettivi episcopici ad immersione calcolati per funzionare con liquidi ad elevato indice; si può avere così una migliore corrispondenza fra indice dell'olio ed indice dell'oggetto ed una migliore riduzione dei riflessi.

19.2.6 - Il diaframma ad iride incorporato

Per ragioni che esamineremo in altra sede (§ 30.2), un obbiettivo destinato alla tecnica del fondo scuro non può mai avere una NA superiore ad 1,1 circa.

Dovendo quindi usare per il campo scuro un obbiettivo ad immersione normale, con apertura di solito eccedente 1,1, occorre limitarne l'apertura con apposito diaframma interno che può essere fisso ("**cilindretti limitatori**", infilati dall'alto nell'obbiettivo) o regolabile (ad iride) con apposito anello esterno. La regolazione di tale diaframma porta ad una riduzione di NA e quindi di risoluzione e luminosità dell'obbiettivo, ma va protratta finché il fondo dell'immagine non appare scuro (supponendo tutto il sistema ben centrato).

Certi costruttori forniscono "di serie" tutti gli obbiettivi ad immersione con diaframma ad iride, cioè tutti predisposti per il campo scuro, ma **ciò è pericolosissimo poiché accade spesso di chiudere inavvertitamente il diaframma**, **anche senza campo scuro**, **e ciò porta l'operatore distratto a lavorare anche per lungo tempo con risoluzione e luminosità ridotta senza rendersene conto**; **e queste sono prestazioni sempre insufficienti in un obbiettivo forte**.

19.3 - LE CLASSI DI CORREZIONE DELL'OBBIETTIVO DA MICROSCOPIO

Parliamo qui di correzione delle aberrazioni, di riduzione di esse più spinta possibile, compatibilmente con difficoltà tecniche ed economiche.

Per quanto riguarda la curvatura di campo, si è già discusso nel § 19.2.3.2, e si è visto che si tratta di un problema tecnicamente risolto, sia pure con aumento di costi.

La distorsione non è in genere così forte da disturbare, e spesso viene ridotta dagli stessi accorgimenti che si usano per ridurre la curvatura di campo.

Rimane da parlare delle aberrazioni del punto. Per quanto riguarda quelle acromatiche (sferica, coma, astigmatismo), si può dire che ogni tipo di obbiettivo cerca di minimizzarle, compatibilmente con la complessità di struttura consentita dai costi di produzione. Nelle classiche ricette degli "apocromatici" di Abbe, quelle tre aberrazioni erano ridotte in limiti

trascurabili; oggi si tende ad una maggiore permissività, specie per l'astigmatismo.

Per le aberrazioni cromatiche il discorso è diverso. Cominciamo con l'aberrazione cromatica assiale (§ 13.2.1).

Lasciando da parte gli strumenti giocattolo, tutti gli obbiettivi, anche di modesta qualità, mostrano almeno una correzione "**acromatica**", di cui si è già descritto il principio. Nella fig. 40 si mostrarono le curve che esprimono il valore della coniugata immagine **a'** (cioè la posizione del punto di miglior fuoco) in funzione della lunghezza d'onda λ. Nell'obbiettivo acromatico (fig. 40 B, § 13.2.1, pag. 111) si è visto come la curva sia ripiegata in modo che, entro certi valori estremi, è possibile trovare infinite coppie di valori di λ per cui la coniugata **a'** è la stessa; in pratica, l'occhio giudica come posizione di miglior fuoco quella che mostra le minime bordature colorate, e ciò avviene quando coincidono le immagini dai colori più vivi ("blu" e "rosso"); spostando il fuoco in un senso, si potrà mettere a fuoco sull'immagine di color "verde"[98], cioè nel punto corrispondente alla minima coniugata, ed apparirà con la massima sfocatura l'immagine costruita da lunghezze d'onda agli estremi dello spettro ottico, dove la coniugata è massima; tale immagine corrisponderà alle regioni spettrali del "viola" e del "rosso" ed apparirà color magenta o porpora. L'oggetto apparirà più o meno nitido ma circondato da un alone porpora. Spostando il fuoco dalla parte opposta, si può mettere a fuoco sull'immagine color "viola" e "rosso estremo", ed avremo la sfocatura dell'immagine formata dalle radiazioni nella regione "del verde". Così l'immagine dell'oggetto sarà circondata da un alone verde. Analoghi aloni di analogo colore appaiono nell'illuminazione obliqua unilaterale (§ 18.9), ma sono asimmetrici: per un oggetto al centro del campo, si vedranno colori diversi ai due lati di esso, mentre gli aloni formati da un'illuminazione normale, centrata, sono simmetrici. L'intensità, la larghezza e la distanza assiale (la distanza fra le due posizioni di focheggiatura appena descritte) degli aloni colorati sono assai diverse da un obbiettivo all'altro; si deve almeno pretendere da un acromatico che esista una posizione di focheggiatura nella quale gli aloni colorati siano impercettibili e l'immagine appaia neutra, cioè senza colori, almeno al centro del campo. Se poi l'immagine rimane senza aloni colorati apprezzabili anche fuori del miglior fuoco, si tratterà di una soluzione sopraffina. Modernamente, l'uso di vetri o materiali speciali e metodi di calcolo automatico consentono anche ad obbiettivi di prezzo medio di raggiungere quella raffinatezza, e l'immagine appare sempre neutra anche con focalizzazione imperfetta. D'altro canto si trovano obbiettivi acromatici, anche di fabbricanti prestigiosi, che mostrano aloni vistosamente colorati al minimo accenno di sfocatura.

Un controllo di questa situazione può essere eseguito usando un oculare medio-forte (del tipo previsto dal costruttore) ed un oggetto a bordi netti e forte contrasto, come un micrometro oggetto (§ 12.1) o una sospensione di limatura metallica o, meglio ancora, un reticolo metallizzato a righe chiare e scure alternate (§ 19.5.4). L'osservazione degli aloni sia eseguita al centro del campo.

La presenza di aloni colorati cogli acromatici può essere in buona parte attenuata con l'uso (nel sistema illuminante) di un filtro verde, che riduce l'intensità dei due estremi dello spettro ottico. Naturalmente, il filtro verde ha qualche inconveniente, specie nella fotografia a colori; con gli obbiettivi ben corretti esso può essere del tutto inutile.

Nel § 13.2.3 si è accennato allo "**sferocromatismo**", cioè al fatto che l'aberrazione sferica è legata alla lunghezza d'onda λ della radiazione che attraversa un sistema ottico. La correzione della sferica può essere buona ad una certa λ , ma decadere per altre regioni spettrali. Ebbene, anche supponendo di avere corretto completamente la cromatica assiale, la sferica risulterà corretta solo per certe regioni dello spettro.

---

[98] Le virgolette per indicare che i colori rappresentano sensazioni soggettive e non realtà obbiettive definibili con termini non equivoci. Sono state omesse per brevità le indicazioni dei valori corrispondenti di λ , che invece sarebbero obbiettive.

Negli obbiettivi **acromatici** classici, la sferica viene corretta per la regione centrale dello spettro ("verde"), per il fatto che in essa l'occhio umano presenta la massima sensibilità. Per le altre regioni dello spettro, la sferica risulterà meno corretta, in relazione all'abilità del progettista ed ai mezzi consentiti dal costruttore (numero di lenti, uso di materiali speciali, tolleranze di fabbricazione, ecc.). In genere la sferica sarà sovracorretta per il "blu" e sottocorretta per il "rosso".

Nel § 13.2.1 si è visto che lo spettro secondario residuo della correzione acromatica può venir di molto attenuato con un aumento della complessità del sistema e con maggiore uso di vetri speciali o materiali costosi come la fluorite, una volta di origine naturale, oggi spesso ottenuta sinteticamente. La **fluorite** o fluorina o spato-fluore (fluoruro di calcio) è un minerale monometrico, e quindi monorifrangente; esso è utile nella correzione sia della sferica, sia della cromatica a causa del suo basso indice (n_D = 1,4339) e della sua bassa dispersione (ν = 97) (vedi il § 13.2.1). Purtroppo, essa è molto tenera e, specialmente quando costituisce la lente emergente dell'obbiettivo, rende le operazioni di pulizia molto critiche.

Negli obbiettivi "**semi-apocromatici"** con i mezzi descritti si ottiene una riduzione dello spettro secondario e quindi un appiattimento della curva di fig. 40 B. Il tipo di correzione è quello degli obbiettivi acromatici, ma la correzione è migliore. Inoltre, il miglior controllo della sferica consente il raggiungimento di maggiori aperture, a parità di altre condizioni. Come già detto nel § 13.2.1, gli obbiettivi semi-apocromatici rappresentano una gloria italiana; la casa milanese **Koristka** infatti, non volendo accettare tutti gli inconvenienti degli apocromatici (vedi sotto) né le limitazioni degli acromatici, escogitò un tipo di correzione a metà strada, con notevole semplificazione costruttiva e riduzione di costo. I semi-apocromatici, detti anche "**a fluorite**" o denominati con nomi particolari, rappresentano un compromesso assai vantaggioso; le correzioni sono ottime, l'apertura di poco inferiore a quella dei corrispondenti apocromatici, la resistenza agli agenti meccanici o chimici è ottima, il costo ragionevole. Questa soluzione viene tuttora adottata da moltisimi costruttori.

Negli obbiettivi "**apocromatici"** si realizza invece la correzione apocromatica (§ 13.2.1) della aberrazione cromatica longitudinale. Nel 1886 il Prof. E. Abbe, avendo alle spalle una lunga esperienza in fatto di ottica del microscopio, volle liberarsi dei compromessi legati alla correzione acromatica ed ottenere dalle conoscenze scientifiche e tecnologiche di allora i migliori risultati possibili. Presso gli stabilimenti Zeiss di Jena e con la collaborazione delle vetrerie di Otto Schott[99], furono realizzati nuovi vetri ottici e nuove "ricette". Nacquero così i migliori obbiettivi possibili a quel tempo. Il ripiegamento della curva che esprime la coniugata immagine **a'** in funzione di λ (vedi fig. 40 C) portò al risultato che era possibile avere un'immagine di miglior fuoco col contributo di tre regioni dello spettro. Nelle regioni intermedie, la variazione residua della coniugata ("**spettro terziario**") era così ridotta da poter considerare la cromatica assiale come del tutto irrilevante. Inoltre, il maggior numero di lenti e l'ampio uso di fluorite e vetri speciali consentirono di correggere la sferica per due regioni spettrali e ridurre a livelli impercettibili la sferica zonale, la coma e l'astigmatismo. Si trattava di obbiettivi "diffraction limited" su tutto il campo. Anche l'apertura poteva raggiungere i massimi valori possibili (0,95 per obbiettivi a secco ed 1,4 per quelli ad immersione, vedi il § 16) e lo stesso si può dire della risoluzione. Ancora oggi, è difficile superare gli apocromatici di Abbe in fatto di cromatica assiale ed altre aberrazioni del punto. I migliori risultati che si ottengono oggi riguardano la planeità del campo (§ 19.2.3.2), l'ampiezza del campo (§ 19.2.4) e la cromatica laterale (§ 19.3.1)[100].

Accanto a questi vantaggi, gli apocromatici classici, costruiti ancora oggi secondo lo

---

[99] Friedrich Otto SCHOTT, chimico ed industriale del vetro, tedesco (1851-1935).

[100] Alcuni costruttori offrono oggi obbiettivi apocromatici corretti di cromatica assiale **e** di sferica per quattro diverse lunghezze d'onda.

schema di Abbe, presentano vari svantaggi. Ecco i principali.

◊◊ Il numero di lenti è molto maggiore di quello di un equivalente acromatico; oltre al costo, aumenta il numero delle superfici aria-vetro, quindi la quantità di radiazione riflessa e diffusa; il contrasto per oggetti estesi peggiora.

◊◊ Certi vetri ottici, specie nei vecchi modelli, sono chimicamente instabili e si opacizzano col tempo; in casi estremi, le lenti costituite da questi vetri vengono incollate in mezzo ad altre due lenti di vetro stabile, costituendo un tripletto.

◊◊ La curvatura di campo, nei tipi classici, è maggiore che negli equivalenti acromatici.

◊◊ La lente frontale può essere più che emisferica, per cui non può essere serrata nella montatura, ma solo poggiata per i bordi ed incollata; così si stacca facilmente.

◊◊ A parte il minor contrasto, già citato, sarà più difficile poter usare gli obbiettivi apocromatici in radiazione polarizzata, a causa della fluorite, non sempre del tutto isotropa.

Nel complesso, la maggiore apertura e la maggior definizione degli apocromatici li raccomandano per l'osservazione di strutture fini ed il riconoscimento del loro colore; la maggiore apertura e quindi la maggior luminosità dell'immagine li fa preferire per le tecniche "poco luminose" come la fluorescenza (vedi la (61) nel § 19.2.1); la maggior risoluzione consente l'uso di oculari più forti.

A questo punto occorre notare che le tre classi descritte di obbiettivi (acro- , semiapo- ed apo-cromatici) rappresentano oggi dei residui di valore storico, nel senso che il progresso tecnologico consente ormai di realizzare serie di obbiettivi che difficilmente rientrano in quelle tre classi. Salvo le serie più economiche, che possono spesso rientrare negli acromatici classici, oggi si producono obbiettivi con prestazioni migliorate, semiplanari, acromatici migliorati con limitato uso di fluorite, ecc., che non è facile classificare. Se poi si considerano gli obbiettivi planari (§ 19.2.3.2) e quelli a grande campo (§ 19.2.4), si hanno tutte le combinazioni Plan-acromatiche, Plan-semiapocromatiche, Plan-apocromatiche, o altrettante versioni a grande campo (GF) che sono spesso anche planari; ma può capitare di trovare dei Plan-apocromatici con forti residui di aberrazioni extra-assiali, peggiori che in un acromatico classico, oppure acromatici così ben fatti da essere classificabili come semi-apocromatici. Spesso, la distinzione fra acromatici ed apocromatici riposa essenzialmente sulla minor apertura dei primi.

Il contributo dell'oculare alla cromatica assiale è generalmente modesto, ma non trascurabile ed è consigliabile usare con ogni obbiettivo l'oculare indicato dal costruttore, oppure eseguire attenti controlli (con un opportuno reticolo od oggetto a forti contrasti) sugli aloni visibili al centro del campo.

19.3.1 - La compensazione

È venuta l'ora di parlare di cromatica laterale (§ 13.2.2) detta anche "differenza **cromatica d'ingrandimento**" (CVD = Chromatische Vergrösserungsdifferenz).

Questa aberrazione, come la cromatica assiale, dipende dalla **dispersione dell'indice**, cioè dalla variazione dell'indice di rifrazione **n** dei solidi trasparenti al variare della lunghezza d'onda λ. Essa però contempla non la variazione di coniugata che consegue alla variazione di indice e di focale, come nel caso della cromatica assiale, ma la variazione d'ingrandimento: due manifestazioni della stessa causa. L'immagine di un oggetto è dunque formata in realtà da tante immagini di diverso colore e di diverse dimensioni quante sono le lunghezze d'onda presenti nella radiazione incidente. Il punto assiale di tutte queste immagini può essere unico, se è corretta la cromatica assiale, ma, aumentando il campo, cioè la distanza dall'asse,

aumenta la differenza di posizione fra le immagini di vario colore corrispondenti ad un dato punto oggetto. Un oggetto fuori asse appare quindi accompagnato da aloni colorati (con i colori dell'iride in luce bianca) diretti radialmente. La risoluzione ed il riconoscimento del colore di oggetti piccoli fuori centro risulta difficile. È una delle aberrazioni più fastidiose.

Ricordiamo ora quanto detto nel § 19.2.3.1; i sistemi classici a basso ingrandimento (fino a 16:1 circa) possono essere costituiti da uno o due doppietti o tripletti, singolarmente corretti; l'obbiettivo nel suo complesso può essere ben corretto di cromatica laterale ed assiale. Con questi obbiettivi conviene usare **oculari acromatici** (§ 20.4.4) cioè corretti anch'essi al meglio rispetto alle aberrazioni cromatiche.

Se invece consideriamo gli obbiettivi acromatici medio-forti (dal 20:1 in su), generalmente essi si basano sulla ricetta di Amici, a suo tempo descritta: vi è una lente frontale semplice di forte curvatura, anche semisferica, ed almeno un paio di doppietti susseguenti. Poiché la frontale è semplice, essa sarà necessariamente sottocorretta, almeno rispetto alla cromatica; tale aberrazione potrà essere compensata da una sovracorrezione degli elementi ottici seguenti. Il risultato finale può essere buono, come si è detto parlando degli obbiettivi acromatici, ma solo per la cromatica assiale. Infatti, la frontale è più o meno distante dagli elementi successivi e su questi il punto d'incidenza di un raggio obliquo varia al variare di λ; così varia l'apertura lato immagine α' e, applicando la "**condizione dei seni**" di Abbe:

$$\frac{y'}{y} = \frac{n \operatorname{sen} \alpha}{n' \operatorname{sen} \alpha'} \qquad (68)$$

si spiega come vari anche l'altezza dell'immagine y', cioè l'ingrandimento (i fattori y ed n sen α non dipendono da λ). Colle ricette classiche, questo residuo di cromatica laterale CVD degli acromatici forti è inevitabile e lo si ritrova pure negli apocromatici e semi-apocromatici forti; esso corrisponde ad una sottocorrezione. Per ovviare all'inconveniente, E. Abbe progettò degli oculari speciali detti "**compensatori**", in cui veniva creato ad arte un residuo di cromatica laterale della stessa entità e di segno opposto rispetto a quello dell'obbiettivo. L'immagine finale può così essere completamente corretta.

Questo sistema di **compensazione** nell'oculare risolve abbastanza bene uno dei difetti degli obbiettivi forti classici di buon livello (che sono la curvatura di campo e la cromatica laterale), ma non è privo di inconvenienti: •• il numero delle lenti ed il costo possono essere superiori a quelli di un corrispettivo oculare acromatico; •• l'immagine intermedia, che si forma prima dell'oculare, è ancora affetta da cromatica laterale CVD e non può essere usata direttamente, come si fa in certi sistemi macrografici o televisivi, in assenza di compensazione; •• la cromatica laterale sovracorretta dell'oculare compensatore mostra con aloni colorati quegli oggetti che si trovano nel primo fuoco dell'oculare (diaframma di campo visivo, reticoli di ogni genere, puntatori, ecc.); •• gli oculari compensatori non possono venir usati con obbiettivi acromatici deboli, perché si troverebbe nell'immagine finale la sovracorrezione della CVD; così occorre possedere una doppia serie di oculari: acromatici per gli obbiettivi acromatici deboli, compensatori per gli obbiettivi forti di ogni tipo; •• la CVD , espressa come lunghezza dello spettro (larghezza degli aloni, ovvero differenza di posizione di un punto immagine nel "rosso" e nel "blu") è all'incirca proporzionale al campo (distanza dall'asse) negli obbiettivi, mentre cresce con una legge non lineare negli oculari compensatori; ciò significa che la compensazione può essere perfetta ai bordi del campo o in qualche zona intermedia, ma resterà incompleta nelle altre zone; •• il residuo di CVD non è lo stesso in tutti gli obbiettivi forti e la compensazione può essere imperfetta.

Tutti questi difetti vengono eliminati nei moderni sistemi "CF" sotto descritti.

Va da sé che, nel caso degli obbiettivi con coniugata infinita, tutti i discorsi sulla correzione della CVD vanno applicati al sistema complessivo obbiettivo + lente di tubo,

poiché è solo dopo quest'ultima che si forma l'immagine intermedia[101].

Per riconoscere in pratica un oculare compensatore da uno acromatico si può osservare la sigla incisavi dal costruttore: C o K o "Compens" o altro. Ma in certi casi si possono commettere errori di interpretazione. Se l'oculare compensatore è positivo (§ 7.2), mettendoselo all'occhio e puntandolo verso una finestra si vedrà l'orlo del diaframma di campo visivo con un alone rosso-arancio (segno di sovracorrezione della CVD); se l'oculare compensatore è negativo, tale alone può essere meno distinto. In un oculare acromatico positivo l'orlo del diaframma di campo apparirà in genere senza colori mentre, se è negativo, apparirà orlato di blu, poiché la correzione della CVD è operata in parte dalla lente di campo, in parte dalla lente oculare, ed il diaframma di campo viene visto nell'oculare negativo solo attraverso la lente oculare. Questa regola empirica risolve in genere qualsiasi dubbio, ma è sempre bene operare un controllo globale del sistema obbiettivo-oculare: si ponga sotto l'obbiettivo un preparato con dettagli ben contrastati dai bordi netti (sospensione di limatura, micrometro oggetto, reticoli appositi), e lo si osservi attentamente ai bordi del campo visuale: se lo spessore di lamella è corretto, il sistema illuminante centrato, l'apertura del condensatore di poco inferiore a quella dell'obbiettivo, la focalizzazione ottimizzata ai bordi del campo, ecc. si osserveranno sui margini dei dettagli scuri dell'oggetto che sono lontani dall'asse tutti i residui di CVD. Se la linea di contatto fra una zona chiara ed una scura dell'immagine (parte scura all'esterno) appare colorata in blu, significa che la compensazione della CVD è insufficiente, se è colorata in arancio è eccessiva. E si ricordi che tutti i sistemi interposti fra obbiettivo ed oculare (lenti di tubo, prismi, variatori d'ingrandimento, ecc.) possono dare un contributo alla CVD e quindi il controllo di questa aberrazione va fatto sul sistema ottico completo. Una coppia obbiettivo-oculare che risulta ben corretta con un tubo monoculare, ad es., può mostrare un residuo di CVD con un tubo bioculare, a causa del maggiore spessore in vetro dei prismi, oppure viceversa.

Si ricordi anche che gli oculari compensatori non sono tutti uguali: il residuo massimo di CVD e la legge di variazione della CVD stessa al variare del campo possono differire da un costruttore all'altro e da un oculare all'altro. La correzione della CVD, come si è appena detto, è un fatto globale ed il risultato finale dipende da tutto ciò che si trova fra l'oggetto e l'occhio (o l'emulsione fotografica): la scelta dell'oculare è quindi molto critica e sostituire un oculare compensatore con un altro è sempre rischioso. Dovrebbe risultare ovvio che un obbiettivo acromatico forte con un oculare acromatico mostrerà un residuo di CVD sottocorretta, mentre un obbiettivo acromatico debole o un sistema CF (vedi sotto) con un compensatore darà una CVD sovracorretta.

Finora, riguardo alla CVD, abbiamo stabilito una distinzione fra obbiettivi acromatici deboli (uno o più doppietti) e forti (formula di Amici, con lente frontale semplice), e si è visto che questa situazione impone l'uso di due serie distinte di oculari: acromatici e compensatori. Ma cosa succede negli apocromatici e semi-apocromatici? Da oltre un secolo, i costruttori hanno cercato di semplificare le cose. Le serie economiche di obbiettivi acromatici sono ancora costruite col criterio di cui sopra e si dividono in due gruppi: deboli, totalmente acromatici, e forti, con residuo di CVD (residuo neppure costante per tutti gli obbiettivi forti). Sempre per economia, vengono forniti con questi obbiettivi solo oculari di un tipo: o acromatici (che non sono adatti agli obbiettivi forti) o compensatori (inadatti per gli obbiettivi deboli) o "semi-compensatori" come soluzione di compromesso. Si tratta dunque di un ripiego.

Invece, per gli obbiettivi di maggior pregio (apo- o semiapo-cromatici) é invalso l'uso di imporre anche agli obbiettivi deboli (che potrebbero essere corretti completamente di CVD) lo stesso residuo di CVD che è inevitabile nei forti. Così, con

[101] Certi costruttori (Zeiss ad es.) usano lenti di tubo non corrette per compensare un residuo di CVD degli obbiettivi; è ovvio che tale residuo deve essere lo stesso per tutti gli obbiettivi, visto che la lente di tubo è unica.

un'unica serie di oculari, ovviamente compensatori, si dovrebbe avere sempre una correzione totale della CVD. Le riserve fatte sopra rimangono valide: è sempre bene controllare una per una tutte le combinazioni: «obbiettivo-oculare-mezzi intermedi» di cui si dispone. La composizione di queste combinazioni è sempre una faccenda critica.

19.3.2 - L'acromatismo totale ed i sistemi CF

Si sono appena descritti gli inconvenienti del sistema della compensazione, in particolare la variazione non lineare della cromatica laterale CVD negli oculari compensatori.

L'ideale sarebbe di eliminare da tutti gli obbiettivi la CVD di modo che, con oculari acromatici, non si abbiano aloni colorati apprezzabili su tutto il campo, neppure con oggetti molto contrastati. Se anche la coma, la sferica e l'astigmatismo fossero ben corretti, si verrebbe a disporre di serie complete di obbiettivi che risulterebbero "diffraction limited" (vedi il § 18.3) su tutto il campo. Quest'ultima condizione, si disse, è ben realizzata da tutti gli obbiettivi da microscopio, ma solo "in asse" (al centro del campo).

Naturalmente, un sistema ottico "diffraction limited" non è PRIVO di aberrazioni; semplicemente, il cerchio di confusione globale delle sue aberrazioni del punto non è più grande della "centrica". Di ciò si è già parlato, ma ora sappiamo come l'ultimo ostacolo da superare per avere la condizione "diffraction limited" su tutto il campo sia proprio la CVD, ed anche il sistema di compensazione riesce ad eliminare la CVD su certe zone ma non su tutte.

Ecco così che i costruttori[102], negli ultimi decenni, hanno cercato ed ottenuto l'eliminazione di questo ostacolo, la CVD; eliminazione entro i limiti della centrica, s'intende. Per questo scopo è stato necessario correggere da CVD la frontale degli obbiettivi forti, sostituendo la lente semplice della formula di Amici con un doppietto o con altri sistemi. Nel complesso, la ricetta dell'obbiettivo si complica e questo tipo di correzione è riservato ai sistemi di maggior costo. Ma il risultato può essere ottimo. Oltre al costo, gli obbiettivi totalmente corretti da CVD (chiamati "**sistemi CF**" o "color free" o "chrome free") possono avere un solo difetto: il maggior numero di lenti, e quindi di superfici aria-vetro, e perciò di luce riflessa e diffusa, che può abbassare il contrasto. Ma in teoria essi possono essere otticamente perfetti su tutto il campo avendo quasi eliminato l'ultimo scoglio su cui si erano arenati gli apocromatici classici.

Un vantaggio del sistema CF sta in questo, che la correzione della CVD nell'obbiettivo rende inutile la sovracorrezione nell'oculare compensatore; quindi la non linearità della CVD nell'oculare rimane senza effetto. Altri vantaggi sono: •• Tutti gli obbiettivi di qualunque serie possono essere totalmente acromatici e pertanto intercambiabili (almeno dal punto di vista della CVD, vedi su questo problema il § 19.4.2). Naturalmente, anche gli oculari dovranno essere tutti acromatici, e nella stessa misura. •• Gli oculari, non dovendo essere sovracorretti, possono avere struttura più semplice degli equivalenti compensatori. •• L'immagine intermedia è già corretta da CVD e può essere direttamente usata per la fotografia, la ripresa televisiva, ecc. •• L'orlo del diaframma di campo visivo, i micrometri-oculare e simili vengono visti attraverso un oculare acromatico e pertanto senza aloni colorati. •• La correzione della CVD consente di raggiungere valori di campo (fino a 32 mm, Jena) che non sarebbero possibili con sistemi a compensazione a causa della non linearità della CVD. •• Le varianti strutturali degli obbiettivi CF aiutano anche nella correzione della

[102] Horst Riesenberg alla Zeiss e Zenji Wahimoto alla Nikon.

curvatura di campo.

Naturalmente, la correzione della CVD non interferisce con le altre caratteristiche degli obbiettivi; pertanto, gli obbiettivi a sistema CF possono presentare una correzione (della cromatica longitudinale) di tipo acromatico o apocromatico, possono essere a campo spianato o non, a campo grande o normale, corretti per l'uso di lamella o non, a secco o ad immersione, a seconda coniugata finita o infinita, ecc. In realtà, dato l'impegno tecnologico richiesto da queste soluzioni, è frequente che i nuovi obbiettivi CF siano anche planari, a grande campo, a seconda coniugata infinita.

19.3.3 - Obbiettivi monocromatici e policromatici

Solo un cenno a questo punto su obbiettivi speciali, mirati su applicazioni particolari.

Vi sono casi in cui è utile illuminare l'oggetto del microscopio con radiazioni non ottiche: esistono strumenti basati su raggi X o elettroni o ultrasuoni, ma sono casi che si allontanano molto dalla microscopia ottica, sia dal punto di vista tecnico che applicativo.

Più simili al microscopio ottico classico sono i microscopi che utilizzano radiazione ultravioletta (UV) o infrarossa (IR) (vedi il § 1.1). Queste radiazioni vengono usate per osservare oggetti che sarebbero troppo trasparenti o troppo opachi nello spettro ottico ("visibile"). Per es. l'esoscheletro degli insetti, opaco in condizioni normali, trasparente in IR; certe strutture del nucleo cellulare, ben contrastate in UV, ecc. A volte l' UV è usato per misure quantitative di assorbimento e quindi per una valutazione volumetrica del DNA ed altre sostanze opache all'UV.

In questi casi si presentano due principali problemi:

◊◊ I normali vetri ottici sono poco trasparenti sia all' UV, sia all' IR, tanto più quanto più la lunghezza d'onda si allontana dai limiti ottici (circa 0,4 - 0,8 μ = 400 - 800 nm).

◊◊ Tutto il sistema ottico deve essere più o meno corretto dalle aberrazioni per quelle radiazioni speciali.

Se poi si pensa che l'occhio umano è insensibile sia all' UV che all' IR, si presentano due soluzioni possibili per consentire all'osservatore di preparare il lavoro (inquadrare, focalizzare, ecc.) con un'immagine visibile, prima della fotografia:

◊◊ si "converte" l'immagine UV (o IR) in immagine ottica con opportuni dispositivi elettronici "**convertitori d'immagine**"; questi dispositivi possiedono una superficie sensibile d'ingresso su cui si proietta l'immagine UV o IR, ed uno schermo luminescente in uscita in cui riappare l'immagine in radiazione ottica; così si osserva nel visibile e si irradia l'oggetto nell'UV o nell'IR;

◊◊ si illumina l'oggetto con radiazione mista UV + visibile (o IR + visibile) in modo che l'UV (o IR) permette il lavoro specifico ed il visibile permette l'osservazione visuale.

Vi sono poi le osservazioni della fluorescenza presentata da certi oggetti illuminati in UV , ma si tratta qui di una tecnica che rientra nella microscopia speciale, trattata nel § 30.6.

Ormai relegati al passato sono gli obbiettivi "**monocromatici**[103], costituiti da sole lenti in silice fusa; poiché in essi si sfrutta la sola rifrazione, si possono far rientrare nella generale categoria dei sistemi "**diottrici"**. Vedremo al capitolo seguente che esistono anche sistemi "**catottrici"** che sfruttano la sola riflessione o "**cata-diottrici**", contenenti sia specchi (mezzi riflettenti) che lenti (mezzi rifrangenti).

Anche per la "**silice fusa**" occorre una precisazione: si tratta di un materiale vetroso

[103] Si tratta di un progetto iniziale di A. Köhler e M. von Rohr del 1904 (stabilimenti Zeiss di Jena).

ottenuto dal raffreddamento di una pasta contenente sabbia quarzosa riscaldata fino al punto di fusione. Il **quarzo** è però un minerale naturale allo stato cristallino, mentre la silice fusa è un materiale artificiale allo stato vetroso. Anche le lampadine elettriche "al quarzo-iodio" hanno un bulbo costituito non da quarzo ma da silice fusa. Comunque i due materiali sono chimicamente identici: si tratta di biossido di silicio (SiO_2), almeno in massima parte. Ebbene, la silice è abbastanza trasparente all'UV e quindi è stata usata per obbiettivi diottrici "**monocromatici**" destinati all'UV . Questi sistemi, non essendo acromatizzati, vanno usati in radiazione monocromatica, entro bande determinate dell'UV.

Più pratici sono gli obbiettivi diottrici "**policromatici**" in cui si porta a coincidere l'immagine per un valore di lunghezza d'onda nell' UV ed uno o due valori nello spettro ottico. Inquadratura e messa a fuoco possono dunque essere effettuate visivamente. Per questi ultimi obbiettivi si usa anche fluorite. Vi sono anche tipi ad immersione, ma come liquido si usa la glicerina per via della trasparenza in UV.

Tipico esempio della categoria degli obbiettivi diottrici policromatici sono gli "Ultrafluar", realizzati da C. Zeiss nel 1959 e destinati alla microspettrofotometria ed alla ricerca sui tumori.

19.3.4 - Obbiettivi catottrici e "long distance"

Come è noto, le leggi della riflessione sono indipendenti dalla lunghezza d'onda λ: il decorso di un raggio riflesso non dipende da λ, a differenza di quanto avviene nella rifrazione (fenomeno della dispersione, vedi il § 2.3.1). Se è così, un sistema ottico formato da specchi, di qualunque forma, è sempre perfettamente acromatico. È questa una delle ragioni per cui si costruiscono con specchi (paraboloidici o simili) gli obbiettivi della maggioranza dei telescopi.

Parlando di UV ed IR, e dell'opportunità di avere degli obbiettivi da microscopio corretti per ampie bande dello spettro, sembrerebbe che un obbiettivo formato da specchi dovesse essere capace di dare un'immagine corretta da cromatica per qualunque regione spettrale. Questo è vero, ma vi sono altre limitazioni come quella del potere riflettente degli specchi, che non è indipendente da λ.

Lo schema di base degli obbiettivi da microscopio formati da soli specchi (catottrici) è quello classico a due specchi sferici; il primo specchio a ricevere il fascio proveniente dall'oggetto (fig. 75) è quello concavo, più lontano dall'oggetto stesso; esso trasforma il fascio divergente proveniente dall'oggetto in un fascio convergente, che incide sul secondo specchio, più piccolo; il fascio viene reso più o meno parallelo (dipende dalla seconda coniugata dell'obbiettivo, che può essere come al solito finita {160 mm o simili} o infinita) dal secondo specchio, che è convesso a differenza del primo. Il secondo specchio crea una zona d'ombra centrata, cioè oblitera la zona centrale del fascio incidente sull'obbiettivo, ed in corrispondenza di essa il primo specchio porta un foro che serve al passaggio del fascio che concorre nell'immagine intermedia. La pupilla d'obbiettivo non è dunque tutta libera come in un normale obbiettivo diottrico, ma porta un'otturazione centrale: guardando dalla parte dell'oculare si vede un'immagine impiccolita del primo specchio (creata dal secondo specchio) ed al centro di essa una macchia scura che è l'immagine, rimpiccolita anch'essa, del foro al centro dello specchio medesimo.

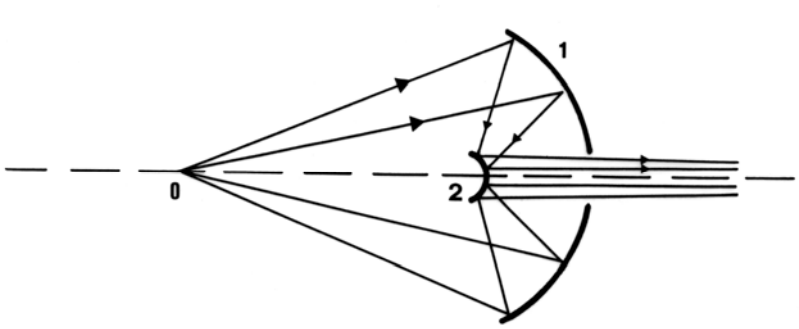


Fig. 75

Tale otturazione porta ad una alterazione della forma della centrica, cioè ad una riduzione di intensità (fino al 20% nei casi pratici) del disco di Airy (vedi il § 18.3) e ad un aumento di intensità degli anelli (fino al quadruplo), il tutto in relazione al rapporto fra apertura massima e minima della pupilla anulare, creata dall'otturazione. In pratica, l'otturazione non occupa più del 20% della superficie della pupilla. Tutto ciò corrisponde al funzionamento di un obbiettivo diottrico affetto da aberrazione sferica.

Per ridurre questo effetto nefasto dell'otturazione centrale, non c'è che ridurre l'otturazione stessa, il che riesce meglio con gli obbiettivi cata-diottrici che, oltre ai due specchi, contengono anche lenti. Vi sono diverse soluzioni pratiche per gli obbiettivi cata-diottrici, ma la disponibilità di mercato è ridotta a pochi costruttori.

Gli obbiettivi catottrici e cata-diottrici hanno in genere una distanza di lavoro (vedi il § 19.1.3) molto elevata, in virtù della struttura schematizzata in fig. 75. Perciò molti costruttori scelgono questa struttura quando intendono offrire obbiettivi con distanza di lavoro (WD) particolarmente elevata. Sono comuni gli obbiettivi catottrici con M = 40:1 e WD = 10 - 15 mm; si ricordi però che, se un comune obbiettivo diottrico con M = 40 ha una WD di meno di 1 mm, ha però una NA di almeno 0,65; il corrispondente catottrico ha una NA difficilmente maggiore di 0,5. L'aumento di WD consentito dall'obbiettivo catottrico si paga quindi in termini di:

1) ridotta NA;

2) alterazione della centrica e quindi lieve perdita di definizione;

3) aumento dell'ingombro dell'obbiettivo, per il grande diametro del primo specchio (su un normale revolver, ai due lati di un obbiettivo catottrico occorre spesso lasciare due fori vuoti).

Per un ridotto aumento della distanza di lavoro WD, molti costruttori rimangono perciò fedeli alle classiche ricette diottriche, a sole lenti. Esistono in commercio obbiettivi forti, anche ad immersione, per applicazioni speciali, con distanza di lavoro dell'ordine di 2 mm. Questi obbiettivi diottrici forti con elevata WD, a parità di ingrandimento e quindi di focale, debbono avere almeno la lente frontale più grande del solito per conservare un'apertura analoga a quella dei tipi normali. Le ragioni di ciò sono intuitive e questo fatto permette di riconoscerli a prima vista.

Tutti questi obbiettivi con distanza di lavoro sensibilmente superiore a quella di un classico diottrico, vengono commercializzati col nome di "**long distance**" (LD) o "**long working distance**" (LWD). Spesso, la loro lunghezza meccanica Lo è superiore al normale, almeno nei tipi catottrici.

Per finire, si è già detto che la riflessione è acromatica e pertanto un obbiettivo catottrico puro (soli specchi) risulta essere assolutamente acromatizzato, cioè privo di aberrazioni

cromatiche, e poter funzionare sia in UV che nel "visibile" (cioè nello spettro ottico) e nell' IR. Ma si è già accennato all'esistenza di difficoltà (potere riflettente variabile degli specchi, aberrazione sferica, ecc.), per cui solo in certi casi gli obbiettivi catottrici vengono destinati alle bande UV o IR; più spesso si ricorre a formule miste (cata-diottrici) con lenti in silice, fluorite o altri materiali trasparenti all'UV o all'IR. Del resto, se un obbiettivo catottrico viene usato con preparati coperti da lamella, esso diventa "ipso facto" un catadiottrico poiché la lamella fa parte del sistema formatore d'immagine e fornisce un contributo alle aberrazioni del sistema (in specie sferica e cromatiche) per via della rifrazione alla sua superficie superiore. Occorre, come al solito, attenersi alle indicazioni del costruttore.

Per scrupolo di completezza, vogliamo citare qui gli obbiettivi "**per segmenti**" destinati alle osservazioni in radiazione polarizzata col "tavolino universale" su preparati racchiusi fra "segmenti" (o semisfere di vetro, vedi i §§ 27.7.4 e 30.7): si tratta di obbiettivi diottrici a forte distanza di lavoro, a basso ingrandimento, opportunamente calcolati in vista della presenza dei segmenti.

Sono stati fabbricati anche obbiettivi "zoom" (a focale variabile) di basso ingrandimento; si tratta in genere di sistemi economici, a correzioni limitate, in uso su strumenti per dilettanti.

19.4 - La SCELTA e l'EQUIPOLLENZA degli OBBIETTIVI

Da quanto detto, risulta evidente che i parametri che un obbiettivo da microscopio presenta sono molti, e tali parametri definiscono le proprietà strutturali e funzionali del sistema, consentendo l'esistenza di molte versioni apparentemente simili.

19.4.1 - Parametri meccanici

- ◊◊ Tipo di attacco, passo del filetto, ecc.
- ◊◊ Lunghezza meccanica Lo
- ◊◊ Distanza di lavoro WD
- ◊◊ Dimensioni esterne

Quando due o più obbiettivi vanno montati sullo stesso stativo (o revolver), essi debbono essere intercambiabili, cioè **equipollenti** dal punto di vista meccanico; ciò avviene quando hanno lo stesso tipo di attacco, la stessa lunghezza meccanica Lo, ed un diametro esterno non superiore alla distanza fra i fori del revolver.

Indipendentemente dall'intercambiabilità, occorre anche accertare la **compatibilità** meccanica fra obbiettivo e stativo, che può essere impedita da un diverso tipo di attacco, dalle dimensioni (si è detto che certi obbiettivi catottrici o episcopici a fondo scuro hanno un diametro esterno di molti cm) ed anche dalla lunghezza meccanica Lo . Infatti, se la Lo è troppo piccola, può darsi che l'obbiettivo non riesca ad avvicinarsi abbastanza all'oggetto, cioè la corsa della messa a fuoco sia insufficiente e non si riesca a mettere a fuoco. Per contro, una Lo eccessiva non solo può non consentire la messa a fuoco, ma provoca il contatto fra obbiettivo e vetrino quando si ruota il revolver passando da un obbiettivo a bassa Lo con uno ad Lo maggiore.

Si è già detto che, da uno strumento di qualità, si deve pretendere la parfocalità (§ 19.1.2) e nessun altro obbiettivo deve toccare il preparato quando si mette a fuoco con un primo obbiettivo e poi si ruota il revolver.

19.4.2 - Parametri ottici

Dal punto di vista dell'intercambiabilità o equipollenza ottica occorre considerare:

◊◊ Il campo immagine "nominale" dell'obbiettivo (§ 19.2.4), quello entro cui il costruttore ritiene di fornire una sufficiente correzione delle aberrazioni; dato un certo oculare con un indice di campo **s'** (vedi il § 7.1), se si usano obbiettivi con un campo di pari diametro, va tutto bene; se il campo dell'obbiettivo è più grande di **s'** , esso va parzialmente perduto; se è più piccolo di **s'**, allora l'oculare accoglie una zona marginale del campo dell'obbiettivo in cui il costruttore non garantisce le correzioni, e la definizione sarà cattiva.

◊◊ La correzione della curvatura di campo: se si imposta un sistema foto-micrografico su un campo immagine medio-grande con obbiettivi planari, e poi si commuta su un obbiettivo non planare, c'è caso di trovare l'immagine sfocata ai margini della foto.

◊◊ Correzione della cromatica laterale CVD (§ 19.3.1); si è già detto che gli obbiettivi acromatici deboli ed i sistemi CF (§ 19.3.2) esigono oculari acromatici, mentre gli obbiettivi acromatici forti, apocromatici e semi-apocromatici esigono oculari compensatori e non sempre collo stesso grado di compensazione. Un errore di accoppiamento obbiettivo-oculare può danneggiare molto la definizione.

◊◊ Correzione dell'astigmatismo, che può essere compensato in parte da un oculare di tipo speciale (§ 20.4.3).

◊◊ Parfocalità; si è già visto nel § 19.1.2 quali sono le cause di perdita di parfocalità; le più importanti: lunghezza meccanica del tubo (Lm) scorretta; presenza di "tubi intermedi" o tubi portaoculari non corretti; regolazione errata delle boccole porta-oculari o (in certi casi) della distanza inter-pupillare; oculare con diaframma di campo visivo in posizione errata; oculare regolabile non disposto sulla posizione 0. Nel sistema obbiettivo-oculare entrano quindi come causa di errori anche il tubo, i sistemi intermedi, i tubi porta-oculari, le boccole porta-oculari. Ma comunque gli obbiettivi, per essere intercambiabili, debbono possedere la stessa lunghezza Lo, sopra citata.

◊◊ Correzione per uso con o senza lamella: due obbiettivi di apertura superiore a 0,4 sono intercambiabili solo se entrambi sono calcolati per l'uso con o senza lamella, a meno di cambiare il preparato quando si cambia l'obbiettivo.

Concludendo, vari obbiettivi di uguale o diverso ingrandimento sono intercambiabili, e si possono correttamente usare sullo stesso stativo e cogli stessi oculari, solo se sono soddisfatte le condizioni sopra elencate.

19.4.3 - La scelta

Consideriamo il caso che si disponga o si debba scegliere fra due o più strumenti o almeno fra due o più serie di obbiettivi di tipo diverso.

Vi sono serie dedicate ad applicazioni particolari. Vediamo le più comuni, senza entrare nei dettagli:

◊◊ Obbiettivi a contrasto di fase; insieme ad opportuni diaframmi, sono dedicati all'osservazione di oggetti trasparenti non colorati (§ 30.4).

◊◊ Obbiettivi per radiazione polarizzata; insieme ad opportuni filtri, servono all'osservazione ed a certe misure su oggetti anisotropi, otticamente birifrangenti (materiali cristallini, pareti cellulari vegetali, amido, tessuto corneo, osseo o muscolare, componenti nucleari, fibre di vario tipo, composti chimici, ecc.)(§ 30.7).

◊◊ Obbiettivi episcopici, per l'osservazione di corpi opachi o comunque di oggetti non coperti da lamella (§ 30.1).

◊◊ Obbiettivi per l'UV e l'IR (vedi il § 19.3.3).

Vi sono poi le serie per usi generali, già elencate, dotate di particolari correzioni:

- acromatici, apocromatici, semi-apocromatici e CF (§ 19.3);
- planari e non (§ 19.2.3.2);
- a campo grande o normale (§ 19.2.4);
- "long distance" per l'uso con "camere" o tavolini speciali, ecc. (§ 19.3.4).

Fra le categorie precedenti vi è di solito ampia scelta, almeno all'atto dell'acquisto. Ecco qualche criterio di scelta.

− Se si cerca il miglior contrasto, un acromatico classico può dare i migliori risultati, almeno per oggetti estesi, in virtù del minor numero di lenti (vedi il § 17.1.2). Esso può funzionare abbastanza bene, di solito, anche in radiazione polarizzata.

− Se si cerca la miglior risoluzione (valor massimo teorico), si sceglieranno i tipi con la massima apertura (§ 18.6), e quindi gli apocromatici, magari ad immersione. Ciò vale anche per la fluorescenza (§ 30.6), data la bassa luminosità delle immagini[104].

− Per la miglior definizione, sarebbero ancora da preferire gli apocromatici o i sistemi CF, ma con qualche riserva sulle aberrazioni extra-assiali (che possono esser trascurate in certi modelli) e sul contrasto, e senza riferimento all'apertura, che sarà in genere maggiore.

− La risoluzione fotografica, quella che si esprime in linee/mm nell'immagine finale, è migliore nei sistemi col minimo ingrandimento (sia di obbiettivo che di oculare), e ciò è facilitato, a parità di formato fotografico, dai sistemi a grande campo. Nella fotografia di oggetti sottili sono da preferire i planari.

− A prima vista, un obbiettivo planare a grande campo e CF dovrebbe essere sempre il migliore[105], ma esso contiene un maggior numero di lenti ed il suo contrasto può essere minore che nei tipi più semplici. Inoltre esso non sarà in genere adatto alla radiazione polarizzata ed al DIC (contrasto interferenziale differenziale sec. Nomarski) e può avere un rendimento fotometrico minore dei corrispondenti tipi normali, sempre per il maggior numero di superfici aria-vetro. Un minor rendimento è sgradito nelle osservazioni in fluorescenza, per le quali è preferibile ricorrere ai sistemi più semplici, magari ad immersione, e possibilmente apocromatici non planari (per la maggiore apertura e quindi luminosità). Sempre per aumentare il rendimento fotometrico, è bene ridurre l'ingrandimento complessivo (senza ridurre l'apertura dell'obbiettivo).

Del resto, lo spianamento dell'immagine provoca spesso un peggioramento dell'astigmatismo.

− Se si cerca la massima profondità di fuoco o penetrazione (§ 14) si cercherà di usare un obbiettivo a piccola apertura; poiché questo avrà in genere un piccolo ingrandimento, lo si potrà accoppiare ad un oculare forte ignorando i limiti dell'ingrandimento utile (§ 18.12). Se invece si desidera eseguire una "**sezione ottica**" (cioè mettere a fuoco uno strato più sottile possibile in un oggetto spesso) si cercherà la minima penetrazione, quindi la massima apertura (il massimo ingrandimento giova solo nell'osservazione visuale, vedi la (41) nel § 14.1).

---

[104] Attenzione: in fluorescenza si preferiscono in genere obbiettivi apocromatici per la maggiore apertura, ma il maggior numero di lenti e l'uso di vetri speciali ne riducono la trasparenza, specialmente in UV.

[105] Comunque, lo spianamento del campo è indipendente dalla correzione delle altre aberrazioni.

− Per avere una maggior distanza di lavoro WD , a parte i tipi speciali sopra citati, si farà ricorso ai tipi più deboli, ma non si possono dare regole precise; in genere, gli obbiettivi planari hanno una ridotta WD; tutto dipende dalla struttura ottica o "ricetta" dell'obbiettivo.

Si ricordi anche che gli apo- e semiapo-cromatici non planari possono avere una curvatura di campo più forte degli acromatici corrispondenti.

Complessivamente, accoppiando un obbiettivo debole con un oculare forte aumenta la penetrazione, la distanza di lavoro ed il campo oggetto; diminuisce l'apertura, la risoluzione e la luminosità. Un obbiettivo forte + oculare debole darà invece una maggiore NA, risoluzione e luminosità, ma anche una minore penetrazione e distanza di lavoro. Dall'oculare debole c'è anche da attendersi un minor campo angolare.

Molto dipende poi dall'oggetto: un oggetto a forti contrasti su zone estese, specie dove i colori non hanno peso, si legge meglio con un acromatico semplice; oggetti fini che si riconoscono in base al colore (come le granulazioni dei leucociti) si leggono meglio con un buon apocromatico o un CF. Quando è possibile, usare sempre sistemi ad immersione, i cui vantaggi sono stati elencati nel § 16.2.

È infine sottinteso che le prestazioni dell'obbiettivo possono decadere bruscamente per varie cause, tutte citate a suo tempo: errata lunghezza Lm del tubo (§ 13.2.3) o errato spessore della lamella (ancora § 13.2.3), dispositivi intermedi errati (§ 25), tipo di oculare non adatto, illuminazione non centrata, diaframma di apertura troppo chiuso (§ 18.9) o troppo aperto (§ 18.10), diaframma di campo troppo aperto (§ 17.1.1), difetti di pulizia o di fabbricazione, olio da immersione sugli obbiettivi a secco, olio da immersione con caratteristiche non adatte (§ 16.1), ecc.

Dal punto di vista meccanico, gli obbiettivi molleggiati (§ 19.1) sono ovviamente i più protetti da errori di messa a fuoco; e sono molto consigliati quando sono forti (bassa WD).

19.5 - Il CONTROLLO dell'OBBIETTIVO

I discorsi che seguono si riferiscono all'obbiettivo, che è l'organo più determinante riguardo alle proprietà dell'immagine finale del microscopio ma, almeno sotto certi aspetti, si applicano anche all'oculare ed ai sistemi intermedi di tutto il sistema formatore d'immagine.

I controlli su un sistema ottico possono riguardare tre aspetti distinti.

19.5.1 - Difetti contingenti, legati a condizioni temporanee

◊◊ Pulizia difettosa.

Si tratta di esaminare, magari con una lente d'ingrandimento o uno stereo-microscopio, la lente frontale e la lente emergente dell'obbiettivo. Oltre alla polvere, impronte digitali ecc., è facile trovare sulla frontale qualche residuo di olio da immersione o di liquido di montaggio (sospensione acquosa di cellule, balsamo del Canadà, ecc.). Per l'olio ed il balsamo si consiglia in genere un vecchio tessuto di cotone ben lavato, inumidito con xilolo od altri solventi delle resine. Certi olii sono solubili in alcool o solventi non usuali. In certi obbiettivi, specialmente apo- o semiapo-cromatici, la lente emergente può essere costituita da fluorite o altri materiali teneri; occorre quindi procedere con molta cura alla pulizia, a mezzo di carta morbida (per es. carta "ottica") o vecchi fazzoletti di cotone ben puliti ed asciugati lontano

dalla polvere[106]. Nel caso della lente emergente, raramente servirà un solvente, salvo il caso di impronte digitali; meglio provare con lo xilolo, in caso di fallimento con alcool, sempre in quantità minime: se il liquido cola all'interno del sistema o fra vetro e metallo può danneggiare i cementi delle lenti; a volte può bastare alitare sulla lente, con la certezza che si tratta di acqua distillata. Abbiamo detto "alitare", cioè a bocca aperta, e non "soffiare" a labbra strette per non proiettare sulle lenti qualche goccia di saliva che sarebbe poi difficile da togliere.

La lente emergente può possedere un "**trattamento**" antiriflettente, che è più delicato della superficie del vetro e si riga facilmente. La presenza di un trattamento si rivela bene poiché i riflessi alla superficie della lente appaiono colorati (di solito in blu-viola)[107].

Durante la pulizia, è di solito inutile accanirsi su un singolo granello di **polvere**, e per due buoni motivi. Intanto, il granulo occuperà sempre una frazione irrisoria della superficie della lente e la radiazione da esso assorbita o diffusa sarà sempre trascurabile. In secondo luogo, le lenti possono venir rigate da quel granello durante lo sfregamento a fini di pulizia (i granuli di natura minerale sono spesso più duri del vetro). Del resto, le lenti dell'obbiettivo con la polvere ivi depositata si trovano molto lontane dall'immagine intermedia e non vengono viste a fuoco assieme all'oggetto.

Viceversa, la polvere è dannosissima in alcuni casi particolari, specie se presente sulle superfici del vetrino o delle lenti frontali del condensatore e dell'obbiettivo: in campo scuro, a causa della luce diffusa e della perdita di contrasto (§ 18.10); in fluorescenza, in quanto molte fibre tessili sono fluorescenti; in radiazione polarizzata, in quanto la polvere minerale, vegetale o anche di origine sintetica è generalmente birifrangente; in contrasto di fase in quanto può apparire molto contrastata anche se fuori fuoco.

A volte si appannano le lenti interne dell'obbiettivo, o per sublimazione e condensazione di sostanze contenute nelle vernici o nei cementi, o per penetrazione di liquidi, specie dell'olio nei tipi ad immersione. Nella prassi, l'olio non viene tolto dall'obbiettivo dopo l'uso; ciò porta ad una alterazione delle sue caratteristiche fisiche e quindi della bontà dell'immagine; inoltre esso penetra, prima o poi, all'interno dell'obbiettivo. Può essere questione di uno o più anni, ma è inevitabile. Il risultato è disastroso e per togliere l'olio occorre smontare completamente l'obbiettivo e poi ricentrarlo. Non è possibile in questa sede illustrare le procedure relative.

Le **appannature** e condensazioni, al contrario della polvere, occupano più o meno tutta la superficie della lente e possono essere dannosissime, specie in termini di luce diffusa e perdita di contrasto, anche se sono poco appariscenti; infatti possono essere perfettamente omogenee e non rivelarsi all'occhio senza un'intensa illuminazione radente. E non si creda che le appannature si formino solo sulle superfici interne per le cause sopra citate. L'aria, specialmente nei centri urbani e lungo le grandi strade, non porta in sospensione solo granuli solidi (polvere), ma anche gocce di liquidi, spesso molto vischiose. L'aria atmosferica non è dunque un gas, ma un **aerosol**. Si tratta di idrocarburi poco volatili che condensano dai gas di scarico di autoveicoli, impianti di riscaldamento, impianti industriali, centrali termiche, ecc. Questi materiali si possono riassumere sotto il termine di catrame e formano sulle lenti uno strato diffondente assai difficile da togliere senza appositi solventi (può bastare lo xilolo). Le gocce di idrocarburi sono assai piccole, anche meno di 1μ e penetrano dappertutto, anche all'interno degli imballaggi di legno o cartone. Anche qui, è solo questione di tempo. La velocità di deposizione dipende comunque dal tipo di vetro, da eventuali trattamenti, ecc. e varia molto da una lente all'altra (vedi anche il § 27.6).

---

[106] In molti casi è utilissimo un pezzo di polistirolo espanso del tipo "ad alta densità" (il più consistente), spezzato di fresco, magari appuntito con una lametta da barba; è necessario operare a secco.

[107] Per contro, la lente frontale è sempre costruita con vetri chimicamente stabili (per es., resistenti a soluzioni 0,1 molari di ac. nitrico, all'acqua, ecc.) e meccanicamente duri.

◊◊ Cementi alterati.

Molte lenti sono composte di due o tre elementi incollati con i materiali più svariati. Si possono verificare alterazioni dei cementi che cristallizzano e diventano opachi oppure scollature. Le scollature si riempiono d'aria e provocano riflessi irregolari (a volte colorati, del tipo degli "anelli di Newton", quando si forma uno strato d'aria sottile che produce fenomeni interferenziali, vedi il § 17.1.2) facilmente visibili osservando l'obbiettivo dalla lente emergente. Solo in certi casi, e con particolari accorgimenti, è possibile rimediare questi difetti.

◊◊ Urti meccanici.

Oltre alle rotture, più facili a rivelarsi, gli urti meccanici possono provocare deformazione dei barilotti e spostamenti delle lenti che simulano errori di montaggio. Se ne parlerà più sotto. Inoltre, le deformazioni provocano tensioni interne nei vetri, dannosissime in radiazione polarizzata poiché rendono birifrangente il vetro.

È bene anche controllare il movimento degli obbiettivi a correzione (§ 13.2.3.2) e degli obbiettivi molleggiati (§ 19.1), che possono risultare bloccati da una deformazione in seguito ad un urto, dalla polvere o, più spesso, dall'indurimento dei grassi. Così si può dire dei meccanismi di centratura presenti in certi obbiettivi per radiazione polarizzata (§§ 19.1.4.1 e 30.7) e del diaframma ad iride presente in certi obbiettivi ad immersione per campo scuro (§§ 19.2.6 e 30.2).

19.5.2 - Difetti di montaggio

Si tratta di difetti legati ad errori nella realizzazione fisica dell'obbiettivo.

◊◊ Difetti strettamente **meccanici**. Si può trattare di cattivo scorrimento delle parti mobili sopra citate (anelli di correzione, movimenti a pompa, diaframmi). Si può trattare di dimensioni inesatte del filetto della vite di fissaggio (difficoltà di montaggio), di errata posizione della battuta (§ 19.1.2) con perdita di parfocalità, di errori di centratura del filetto rispetto all'asse ottico, con perdita di parcentralità (§ 19.1.4), di parti avvitate male, come la "camicia" (§ 19.1) che si svita al primo sforzo per smontare l'obbiettivo, ecc.

◊◊ Difetti di **centratura**. Un sistema ottico è centrato quando i centri ottici di tutti gli elementi che lo compongono giacciono sulla stessa retta. Poiché si è già parlato nel § 13.2.4 della coma e di come essa si manifesti, ricordiamo qui solo che la presenza di "coma in asse" (al centro del campo) è segno di cattiva centratura di uno o più elementi. Questo difetto, entro certi limiti, può essere facilmente corretto (se l'obbiettivo è stato a ciò predisposto), ma si richiede l'uso dello star test (§ 18.4) e di qualche utensile per accedere alla lente flottante (vedi i §§ 13.2.4 e 13.5). Per rivelare il difetto, o almeno la sua manifestazione, cioè la coma in asse, si dispone il microscopio come per l'osservazione usuale, mettendo lo star test al posto del preparato. È bene usare un oculare forte, almeno 10 ×, ed una sorgente più intensa possibile; curare che il condensatore sia correttamente a fuoco (controllare senza star test, visto che questo è quasi tutto opaco) ed il diaframma d'apertura tutto aperto. Scegliere un condensatore con la massima apertura possibile e montare la sua lente frontale nel caso che essa sia asportabile. Si muove il vetrino fino a portare al centro del campo, una dopo l'altra, varie figure di diffrazione o centriche (vedi sempre il § 18.4) e si osserverà la loro forma prevalente, specie nelle più piccole. Se la forma prevalente non è circolare, o almeno non mostra una simmetria di rotazione attorno al disco di Airy, si osservino gli anelli di diffrazione; se sono irregolari e formano da un lato del disco stesso un alone a forma di cometa, cioè la classica "coda" della coma, e se tutte le centriche hanno la coda dalla stessa parte, è coma sull'asse e l'obbiettivo va centrato. Come spostare la lente flottante per far scomparire la coda della coma dipende dalla struttura meccanica dell'obbiettivo e non si

danno regole generali. Si può comunque dire che in genere la lente flottante è accessibile da tre o quattro piccoli fori presenti sulla montatura dell'obbiettivo e nascosti sotto la "camicia".

◊◊ Difetti di **allineamento**. Un sistema ottico è allineato quando è centrato (vedi sopra) ed inoltre gli assi ottici di tutti gli elementi sono paralleli. Può quindi avvenire che in un obbiettivo perfettamente centrato un elemento sia inclinato. Ciò provoca l'insorgenza di astigmatismo in asse, rivelabile osservando lo star test con gli stessi accorgimenti visti sopra (vedi anche il § 13.2.5). Una centrica al centro del campo apparirà allungata, ma focheggiando leggermente sopra e sotto il miglior fuoco si vedrà la direzione di allungamento della centrica che assume due posizioni diverse, a 90° l'una rispetto all'altra. Questo difetto non ha praticamente rimedio.

◊◊ Difetti di **distanziamento** delle lenti. Nel § 13.2.3.2 si è accennato al fatto che un errore nella distanza fra le lenti dell'obbiettivo provoca l'insorgenza di aberrazione sferica, con perdita di definizione e microcontrasto. Alla fine del § 18.4 si è spiegato come lo star test riveli la sferica e permetta di valutarne quantità e segno. Un errore di questo tipo si corregge variando la distanza fra le lenti o fra i loro barilotti, ma questa operazione è assai delicata poiché si tratta di inserire fra un barilotto e l'altro degli anelli molto sottili e del corretto spessore e diametro. Più facile è compensare il residuo di sferica nell'obbiettivo usando lamelle di spessore diverso dal nominale o variando la lunghezza del tubo (vedi la fine del § 13.2.3).

19.5.3 - Difetti di progetto

A questo punto non si può più parlare di veri difetti, ma piuttosto di limiti nelle prestazioni dell'obbiettivo imposti dalle scelte che il progettista compie nel suo lavoro.

Le scelte si impongono fra miglioramento delle prestazioni del sistema (con aumento di complessità, di controlli qualitativi e di costi di produzione) e riduzione di costi (con scelta di materiali più economici, di tolleranze di lavorazione più larghe, di ricette più semplici). L'economia di progetto si può accompagnare con controlli di qualità "di manica larga", il che può portare a non rilevare i difetti di montaggio sopra descritti. Ma essenzialmente si tradurrà in limitazioni di prestazioni ottiche:

- limitazioni del campo utilizzabile,
- limitazioni dell'apertura e quindi della risoluzione,
- residui di aberrazioni e perdita di definizione,
- trattamenti antiriflettenti inadatti, insufficienti annerimenti e diaframmature interne, ecc., con formazione di "luce diffusa" e perdita di contrasto.

Contro questi limiti è difficile porre rimedio. Per quanto riguarda la sferica, si è appena detto come si può intervenire variando lo spessore della lamella o la lunghezza del tubo. Contro le aberrazioni cromatiche in genere si può usare un filtro verde, a banda non troppo stretta, cioè di vetro colorato e si ricordi che anche altre aberrazioni, come la sferica, sono meglio corrette al centro dello spettro ottico. Ma un fondo immagine verde è sgradevole all'occhio ed inaccettabile nella fotografia a colori. Contro la cromatica laterale si può provare a cambiare oculare o tubo intermedio: si ricordi che gli oculari, acromatici o compensatori, non sono tutti eguali; vi sono infinite gradazioni nell'acromatismo e nella compensazione. Inoltre, ogni pezzo interposto fra obbiettivo ed oculare può dare un contributo alle aberrazioni complessive, specie alla cromatica laterale.

I limiti funzionali dell'obbiettivo dunque in genere non ammettono molti rimedi. In base alle caratteristiche dell'oggetto, ai risultati che ci si aspetta ed a considerazioni economiche, si tratterà piuttosto di effettuare una scelta oculata all'atto dell'acquisto, secondo i criteri illustrati nel paragrafo 19.4.3. Ideale sarebbe il possedere più di una serie di obbiettivi, per

poter effettuare una scelta al momento dell'uso: acromatici in vista del massimo contrasto, apocromatici per la massima risoluzione e luminosità, ecc. (vedi il § 19.4.3).

19.5.4 - I reticoli

Riprendiamo ora il concetto di "**reticolo**", definito nei §§ 17.2 e 18.5 come un oggetto senza spessore (o con spessore inferiore alla penetrazione degli obbiettivi più forti) costituito da righe alternate e parallele, trasparenti ed opache, a bordi netti.

Tale oggetto deve essere piano. In pratica, si tratta di strati metallici (cromo, ecc.) depositati alla superficie di un normale vetrino portaoggetto per evaporazione sotto vuoto.

Per gli obbiettivi deboli, sarebbe utile un reticolo con passo circa 100 μ; per i forti occorrerebbe un passo di 8 – 10 μ. In genere, è sufficiente per tutti un passo intermedio, per es. 40 μ. Se il reticolo va usato con obbiettivi normali calcolati per l'uso di una lamella (d = 0,17 mm), esso andrà coperto con una lamella di spessore 0,17 ± 0,01 mm (controllare con un centesimale). La lamella va incollata con balsamo del Canadà, sovrapponendovi un piccolo peso per qualche settimana, in modo che lo strato di resina sia più sottile possibile.

Ebbene, si è già accennato nel § 19.3 all'utilità di un reticolo per il controllo delle aberrazioni cromatiche. Vediamo di allargare il discorso. In fondo al volume, sono indicati alcuni indirizzi ove reperire accessori per microscopìa; ma è possibile fabbricare da sé qualche reticolo spalmando un porta-oggetti con uno strato uniforme di inchiostro di china. Dopo essiccamento, si incide lo strato con lo spigolo di una lametta da barba o un bisturi ben affilato, in modo da creare tagli sottili e paralleli. Se i bordi dei tagli appaiono dentellati, non ha importanza. Basta che il passaggio da zone opache a zone trasparenti sia netto. Se le parti scure non risultassero del tutto opache, va ripetuto il processo con uno strato più spesso di china.

Osservando un simile reticolo, si possono rivelare molti difetti dell'obbiettivo e del microscopio, ed è bene entrare nei dettagli. Le caratteristiche geometriche ed ottiche del reticolo lo rendono ideale per molti test, che sono assai meno significativi se eseguiti con un normale preparato biologico (abitudine assai diffusa). Il reticolo, per il fatto di essere piano e sottile, rivela assai bene la curvatura di campo. Per questo esame, è bene usare un oculare col massimo indice di campo consentito dall'obbiettivo. Per il fatto di presentare delle righe diritte, il reticolo rivela assai bene anche la distorsione: basta osservare se le righe sono curve ai bordi del campo. Per il fatto di presentare passaggi netti fra zone chiare e scure, esso consente di rivelare (anche se meno efficacemente dello star test) la struttura del cerchio di confusione (vedi il § 13.2), l'andamento del microcontrasto (§ 17.2) e della definizione (ancora § 13.2). Infatti, l'andamento fotometrico del passaggio zona chiara-zona scura è nell'oggetto rappresentabile da una curva a gradino (vedi la fig. 51 nel § 18.1): la trasparenza dell'oggetto passa da un valore molto elevato ad uno quasi nullo in uno spazio che si può considerare nullo in quanto è normalmente più piccolo del potere risolutivo dell'obbiettivo. Se questo "gradino" nell'immagine non è altrettanto netto che nell'oggetto significa che il "cerchio di confusione" (§§ 13.2 e 18.3) non ha diametro nullo. Sappiamo già che in tale "cerchio" vi è una componente ineliminabile dovuta alla diffrazione (e legata essenzialmente all'apertura) ed una dovuta alle aberrazioni del punto.

Se l'obbiettivo è "otticamente perfetto" (§ 18.3), un po' di esperienza consentirà di riconoscerlo non solo con lo star test, come si è visto, ma anche osservando i bordi delle righe del reticolo: non vi saranno orli colorati, si vedranno una o due frange di diffrazione ben nette (meglio visibili chiudendo il diaframma d'apertura) e gli effetti della sfocatura saranno simmetrici *da entrambe le parti della riga del reticolo ed in entrambe le direzioni di sfocatura, nonché su tutto il campo.* Sempre osservando i margini delle righe del reticolo, si

rivela la coma quando ai due lati della riga si vedono aloni non colorati, più larghi da una parte, ma sempre dalla stessa parte mentre si focheggia da ambo i lati del miglior fuoco. Sarà bene eseguire questa verifica con diversi orientamenti del reticolo per evitare che la coda della coma risulti parallela alle righe e venga nascosta.

Per l'astigmatismo (supponendo di non potere o volere usare lo star test) conviene osservare i dentelli che vi sono sempre ai margini delle righe; focheggiando, in presenza di astigmatismo si vedranno i dentelli che si allungano in due diverse direzioni, ortogonali fra loro. Anche qui, gli aloni debbono essere acromatici.

Se invece si vedono aloni colorati, si deve distinguere. Per la cromatica longitudinale, si deve osservare il centro del campo: se non si trova alcuna posizione di fuoco in cui le righe del reticolo appaiano neutre, acromatiche, vuol dire che vi è un eccessivo residuo di quella aberrazione. Se invece vi è almeno una posizione di fuoco in cui le righe, in asse, appaiono senza colori, la cromatica longitudinale è accettabilmente corretta. In quest'ultimo caso, focheggiando, ai bordi delle righe ricompariranno gli aloni colorati. Se questi sono impercettibili, si tratterà di un apo- o semiapo-cromatico; se sono visibili, si tratterà di un acromatico classico. Se gli aloni sono verdi da una parte e viola dall'altra parte del miglior fuoco, la correzione è ancora buona; se sono blu e rossi, la correzione è scadente.

Per la cromatica laterale (CVD) occorre osservare ai margini del campo, nelle posizioni ove le righe del reticolo sono tangenti alla circonferenza del campo (a destra ed a sinistra nella fig. 76, vedi sotto). La CVD provoca, solo ai margini del campo, ripetiamo, l'insorgenza di aloni colorati, di colore complementare sui due lati della riga del reticolo (generalmente blu e rosso). Alterando la messa a fuoco, i colori non si invertono, salvo la presenza di forti residui di cromatica longitudinale. Dall'andamento dei colori, si può ricavare il segno del residuo di CVD: in fig. 76 vi è una sovracorrezione.

Tutti i problemi di correzione della CVD, di accoppiamento obbiettivo-oculare e di compensazione (§ 19.3.1) si chiariscono con l'osservazione di un buon reticolo: un'immagine come quella di fig. 76 in cui fosse assente ogni alone colorato in tutto il campo visuale (spianato o non) almeno in una posizione della messa a fuoco, sarebbe un'immagine totalmente acromatica. Ciò modernamente è assicurato dai migliori obbiettivi della serie CF (§ 19.3.2) con oculari acromatici. Fra gli obbiettivi classici, si può anche pensare all'accoppiamento di buoni apocromatici con oculari compensatori dello stesso costruttore o di obbiettivi acromatici deboli con oculari acromatici.

Così un reticolo offre le migliori condizioni per il riconoscimento visuale delle aberrazioni cromatiche. Per le altre aberrazioni del punto, si è detto, è più sensibile lo star test. Anche la sferica si può rivelare a mezzo del reticolo, ma solo se è di entità notevole: focheggiando sopra e sotto il miglior fuoco, al centro del campo si osserveranno aloni sui margini delle righe; se gli aloni appaiono sensibilmente diversi sopra e sotto il fuoco ottimale, ma simmetrici ai due lati della riga, vi è un forte residuo di sferica. Ripensando a quanto si disse alla fine del § 18.4, è possibile prevedere quale aspetto avranno gli aloni e qual'è il segno del residuo di sferica: l'immagine "ad anelli" produrrà bordi netti, ma con frange parallele; l'immagine "sfumata" produrrà forti aloni sfumati.

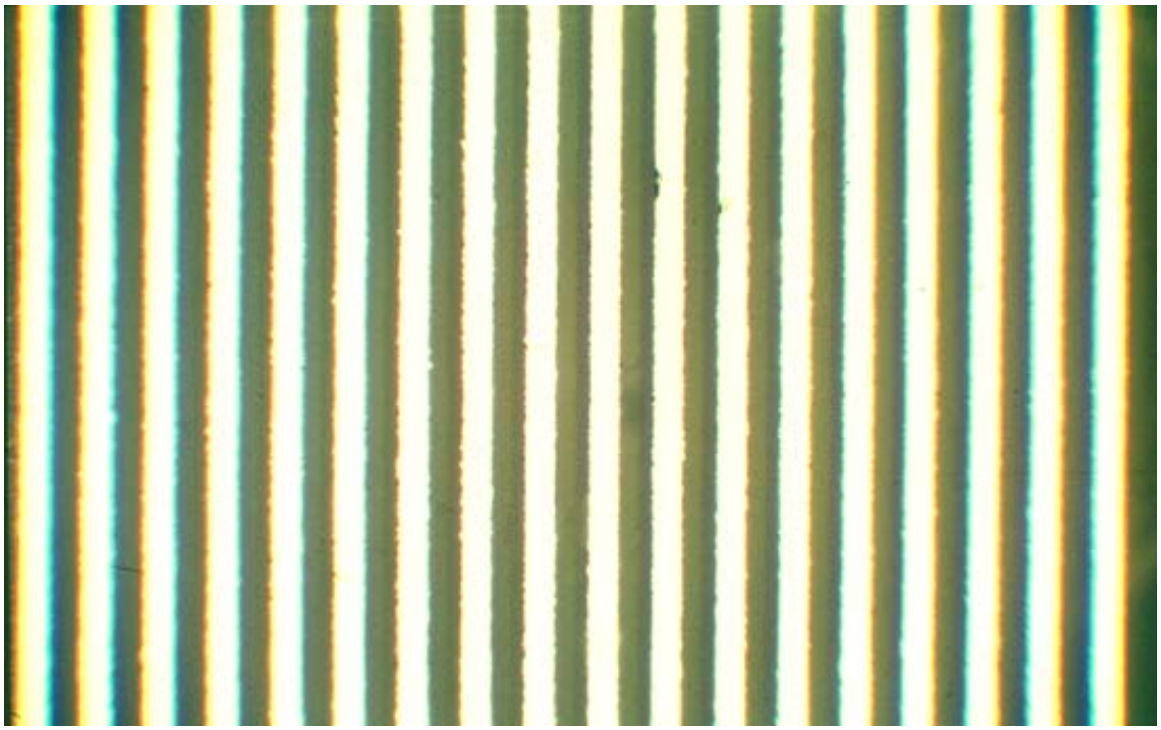


Fig. 76

19.5.5 - L'osservazione della pupilla ed il microscopio ausiliario

Intendiamo qui per "pupilla" la pupilla d'uscita dell'obbiettivo (vedi il § 6); la si può osservare ad occhio nudo, attraverso il tubo, semplicemente togliendo l'oculare. Le sue dimensioni saranno tanto maggiori quanto maggiore è l'apertura dell'obbiettivo e la sua focale (e quindi tanto minore è l'ingrandimento). Il suo diametro, come si intuisce da semplici considerazioni trigonometriche, è: $d = 2\,NA \cdot f$, in cui **f** è la focale.

Date però le sue piccole dimensioni, si consiglia l'uso di un qualunque mezzo d'ingrandimento, di cui esistono quattro tipi fondamentali che esaminiamo separatamente, e che è bene conoscere poiché ognuno presenta vantaggi e svantaggi e può essere preferibile in relazione allo scopo che ci si prefigge.

•• **Lente d'ingrandimento** debole (circa 2 ×), da appoggiare semplicemente sull'orlo superiore del tubo, dopo tolto l'oculare. Non sempre ha la potenza necessaria.

•• **Lente di Amici** o di Bertrand[108]. Si tratta di una lente convergente di media potenza che si interpone fra oculare ed obbiettivo, anche senza aprire il tubo, cioè con un comando esterno. La sua potenza e la sua posizione sono tali da produrre un'immagine reale e rovesciata della pupilla d'obbiettivo, con ingrandimento circa unitario, nella posizione dell'immagine intermedia. Tale immagine della pupilla si vede dunque a fuoco nell'oculare, senza spostare quest'ultimo. Poiché la posizione della pupilla non è generalmente la stessa in obbiettivi diversi, per vedere sempre a fuoco la sua immagine nell'oculare è necessario di solito focheggiare la lente di Amici o modificando assialmente la sua posizione o variando la sua potenza (per es. variando la distanza fra gli elementi che la compongono). Vi sarà all'esterno un apposito comando, che generalmente serve anche ad inserire od estrarre la lente. Solo i modelli economici di microscopi polarizzatori, supponendo che l'osservazione

[108] Emile BERTRAND, ingegnere francese (1844 - 1909).

conoscopica si esegua solo con l'obbiettivo più forte, hanno una lente di Amici a fuoco fisso (§ 30.7).

•• **Microscopio ausiliario**. Questo è un vero e proprio microscopio composto con tanto di obbiettivo e di oculare. Date le sue modeste mansioni, l'obbiettivo e l'oculare di questo accessorio sono molto semplici, un doppietto o addirittura una lente semplice, con modesto campo ed apertura. Anche il suo ingrandimento è modesto (intorno a 10 ×). Questo dispositivo è un accessorio, nel senso che è esterno al microscopio e lo si inserisce al bisogno in luogo dell'oculare, all'estremità superiore del tubo. Esso ha lo stesso diametro, e lunghezza di poco superiore, a quelli di un normale oculare, col quale è facile confonderlo (la lente inferiore dell'oculare è però sempre molto grande, mentre quella del microscopio ausiliario è generalmente molto piccola). Tutto è predisposto affinché questo sistema composto, invece dell'oculare che presenta all'occhio un'immagine virtuale ingrandita dell'immagine intermedia, presenti un'immagine di poco ingrandita della pupilla. Anche qui vi è il problema di focalizzare, risolto in genere variando la lunghezza del microscopio ausiliario, che ha infatti una struttura telescopica.

•• **Lente di Klein**. Per osservare la pupilla, si può anche servirsi del disco di Ramsden, che è un'immagine impiccolita della pupilla d'obbiettivo: per meglio osservarlo (è molto piccolo) si può usare un oculare forte rovesciato o una forte lente convergente (lente di Klein[109]) posti sopra l'oculare.

Ebbene, l'osservazione della pupilla d'obbiettivo è essenziale in casi particolari, che accenniamo appena:

◊◊ In contrasto di fase, per la centratura dei diaframmi anulari che si pongono sotto il condensatore e la cui immagine si forma appunto nella pupilla (§ 30.4).

◊◊ In radiazione polarizzata, per l'osservazione delle speciali "figure di interferenza" che si formano, sempre nella pupilla, quando si osserva un'opportuna lamina birifrangente con il condensatore a piena apertura (§ 30.7)[110].

Nei microscopi polarizzatori è presente in genere una lente di Amici; nei microscopi a contrasto di fase, specie se economici, è più frequente il microscopio ausiliario. La lente di Klein evita la sostituzione dell'oculare, ma non è generalmente fornita come accessorio.

In generale, l'osservazione della pupilla dell'obbiettivo è sorgente di utili informazioni, e ne elenchiamo qualcuna, senza dimenticare (vedi il § 8.8 e la fig. 32) che in quella pupilla si trova una prima immagine reale del diaframma d'apertura ed una seconda immagine reale della sorgente Q .

• Osservando l'immagine del diaframma d'apertura, si può verificare se il suo diametro è corretto, ed inoltre controllarne la centratura rispetto alla pupilla, ed eventualmente modificarla, nel caso che esista qualche dispositivo ad hoc.

• Osservando l'immagine della sorgente, per es. il filamento di una lampadina ad incandescenza, si può ancora controllarne e modificarne la centratura e la focalizzazione. In particolare, quando la sorgente è esterna al microscopio (anche una finestra) e sul piede vi è uno specchietto orientabile, l'osservazione della pupilla può aiutare nel muovere lo specchietto stesso: occorre che la pupilla sia uniformemente e totalmente illuminata.

• Si possono identificare macchie scure dovute a corpi estranei, sudiciume, scollature delle lenti incollate, scheggiature, ecc. Per capire se tali difetti sono situati all'interno dell'obbiettivo o di parti vicine (lenti di tubo, condensatore, ecc.) si allentano tali parti e le si ruotano una alla volta. Per queste osservazioni è spesso utile chiudere tutto il diaframma

---

[109] Karl KLEIN (pron. klàin), mineralista tedesco (1842 - 1907).

[110] Il fatto di dover lavorare a piena apertura, cioè di attraversare l'oggetto con un fascio conico molto aperto, giustifica il termine "conoscopìa" o "luce convergente" dato a queste osservazioni.

d'apertura oppure quello di campo, eventualmente realizzando l'illuminazione obliqua (§ 18.9 e fig. 66).

• Oltre alla pupilla, è possibile mettere a fuoco un certo tratto delle superfici interne dei barilotti dell'obbiettivo o del tubo e verificare l'esistenza di parti lucide che riflettono i raggi obliqui. Si è detto a suo tempo come questi riflessi nuocciano al contrasto (§ 17.1.1).

• Disponendo un filtro polarizzatore (vedi il § 23.1) prima dell'obbiettivo ed uno dopo, ed "incrociandoli" (ruotando l'uno o l'altro fino ad avere la minima luminosità) si rivelano sotto forma di zone irregolari chiare o colorate le tensioni interne nei vetri delle lenti, i difetti di omogeneità delle lenti in fluorite, ecc. (vedi il § 19.5.1, fine paragrafo).

• Nell'uso di obbiettivi ad immersione, l'osservazione della pupilla rivela a colpo d'occhio la presenza di bolle d'aria o corpi estranei nell'olio.

• Se il condensatore è affetto da forte aberrazione sferica (§ 21.7 e fig. 89, pag. 268), la pupilla non sarà uniformemente illuminata (chiudere il diaframma di campo).

• Nella pupilla d'obbiettivo si osservano i "massimi di diffrazione", come descritti nei §§ 18.7 e 18.8, e si possono ricavare informazioni sulle strutture dell'oggetto (figure 62 e 64, § 18.8).

• Quando si usa il microscopio ausiliario o la lente di Amici e la loro corsa di focalizzazione è sufficiente, è possibile mettere a fuoco anche l'oggetto, naturalmente dopo aver tolto l'obbiettivo. Si può così osservare l'oggetto con bassissimo ingrandimento, inferiore a quello ottenibile cogli obbiettivi più deboli.

19.6 - MANUTENZIONE dell'OBBIETTIVO

Parliamo qui delle operazioni alla portata di un utilizzatore attento e preparato, escludendo ciò che richiede attrezzature o addestramento particolari.

L'operazione più importante per la manutenzione di un obbiettivo (ed in genere di uno strumento ottico) è la pulizia. In varie occasioni si è parlato degli effetti dannosi della polvere e delle appannature e nel § 19.5.1 si sono descritte le operazioni fondamentali della pulizia.

Esulerebbe dai fini di questo manuale entrare nel merito delle operazioni per lo smontaggio e la riparazione dell'obbiettivo[111]. Purtroppo, la figura del tecnico competente, capace di eseguire queste operazioni, è largamente assente nei laboratori pubblici e privati dove sono in uso microscopi di vario genere. E la tendenza dei responsabili è quella di fare intervenire il servizio tecnico della rete di vendita che ha fornito lo strumento. Questa, a sua volta, nei casi delicati come la riparazione di un obbiettivo, ha la tendenza a rinviare il pezzo al costruttore, che per l'Italia è sempre all'estero non esistendo costruttori nazionali. Quest'ultimo poi tende a sostituire il pezzo contestato con uno nuovo poiché la riparazione richiede troppo tempo e non è rimunerativa. Il risultato finale è che il tempo e la spesa per l'intervento sono infinitamente superiori allo stretto necessario (mediamente un paio d'ore, in mani esperte).

Per ridurre i danni all'obbiettivo e la necessità di un intervento, è bene quindi provvedere con alcuni accorgimenti ad una opportuna **conservazione**:

◊◊ Evitare sollecitazioni meccaniche (urti e vibrazioni) che possono provocare il distacco della lente frontale, la scollatura degli elementi composti, la deformazione del barilotto e lo

[111] Vedi, in questo sito, l'articolo n° 18 e varie schede tecniche.

spostamento delle lenti.

◊◊ Evitare gli sbalzi di temperatura. In particolare, il passaggio da ambiente freddo ad ambiente caldo può provocare la condensazione di vapor d'acqua su tutte le superfici esposte. In genere gli obbiettivi sono forniti in una apposita scatola con tappo a vite: si tenga l'obbiettivo nella scatola per un paio d'ore dopo il cambiamento d'ambiente affinché la sua temperatura si stabilizzi. Se si sposta l'intero strumento, lo si tenga anch'esso per un paio d'ore nel nuovo ambiente, ben coperto da un sacco in plastica.

◊◊ Se un obbiettivo va poggiato momentaneamente sul tavolo, si cerchi una superficie pulita e lo si poggi con la frontale in alto.

◊◊ Se l'obbiettivo sta normalmente fissato allo stativo, si curi che l'interno di questo o del "tubo" sia ben chiuso; gli oculari debbono stare in sede, in modo che l'estremità superiore del tubo sia chiusa. Con appositi coperchi o almeno con un pezzo di scotch saranno chiuse tutte le altre aperture, come le finestrelle in cui si inseriscono le slitte porta-filtri o porta-diaframmi o porta-prismi. Gli eventuali fori vuoti del revolver siano chiusi da tappi in plastica.

◊◊ Quando la tecnica usata richiede un forte irraggiamento dell'oggetto (micro-proiezione, foto-micrografia), magari nella banda UV (fluorescenza), i vetri o i cementi delle lenti possono col tempo opacizzarsi. Limitare quindi tali irraggiamenti al minimo possibile. Anche una normale microlampada, se dimenticata accesa fino al giorno dopo, può provocare seri danni. L'uso di uno o due filtri anti-calorifici prima del condensatore è sempre utile.

◊◊ Se nelle vicinanze del microscopio si eseguono operazioni con aggressivi chimici, specialmente acidi, si possono corrodere le superfici meccaniche ed ottiche. Provvedere alla ventilazione dell'ambiente, magari con una cappa, o all'allontanamento del microscopio.

Con simili accorgimenti, un obbiettivo da microscopio, almeno a secco, può conservare le sue prestazioni per un tempo illimitato. Però vi sono casi, già accennati in più riprese, in cui gli accorgimenti sopra elencati non impediscono un deterioramento spontaneo, e quindi difficilmente prevenibile. Riassumiamoli.

•• Certi vetri ottici sono chimicamente instabili e si opacizzano col tempo, specie alla superficie.

•• I cementi che uniscono gli elementi composti si possono opacizzare, ritirare o cristallizzare provocando scollature.

•• L'olio da immersione, prima o poi, penetra nell'obbiettivo. L'unico rimedio è pulire bene l'obbiettivo (con il solvente previsto dal costruttore) subito dopo l'uso (§ 19.5.1).

•• L'aerosol che costituisce l'aria atmosferica deposita su tutte le superfici uno strato di catrame. Questa ed altre cause interne provocano l'appannatura delle lenti (ancora § 19.5.1). Se si tratta di superfici interne, si impone lo smontaggio e la ricentratura dell'obbiettivo.

•• Certe superfici metalliche si alterano col tempo; raramente però questo incide sulle prestazioni ottiche, a meno che si tratti di superfici interne che producono detriti o polvere, come certe vernici che si sbriciolano seccando.

•• Quando il trattamento esterno dell'obbiettivo o certe notazioni sono eseguite con vernice, si ritorna al caso precedente.

Assai più delicati sono gli obbiettivi a contrasto di fase, che contengono uno speciale filtro anulare. Tale filtro è costituito da strati sottili depositati col metodo dell'evaporazione sotto vuoto sulla superficie di una lente o di una lamina; esso si può alterare col tempo e non svolgere correttamente la sua funzione. Anche qui, gli sbalzi di temperatura, l'umidità e gli urti sono da evitare.

Stessa raccomandazione vale per gli obbiettivi per radiazione polarizzata: un urto o altro agente meccanico può introdurre delle tensioni interne nei vetri, i quali divengono debolmente birifrangenti ed ostacolano la formazione dell'immagine. In particolare viene disturbata la "estinzione", cioè la formazione del fondo scuro quando i polarizzatori sono "incrociati" (§

30.7). Per questo motivo, in un microscopio polarizzatore, è bene ruotare il revolver afferrandone l'orlo, senza toccare gli obbiettivi. Poco sopra si è visto come si rivelano questi difetti (osservazione della pupilla d'obbiettivo fra due filtri polarizzatori incrociati); un controllo in questo senso andrebbe ripetuto ogni tanto, poichè una tensione interna nel vetro delle lenti può verificasi gradualmente nel tempo, anche senza cause apparenti.

Gli obbiettivi speciali, come i catadiottrici, gli episcopici a fondo scuro, ecc., contenendo specchi, lenti anulari, ecc., richiederanno attenzioni particolari: la pulizia degli elementi supplementari citati può essere molto difficile e rischiosa e può richiedere lo smontaggio totale o parziale dell'obbiettivo.

20 - L' OCULARE DA MICROSCOPIO

Nel trattare i principi dell'ottica e lo schema generale del microscopio si è più volte parlato di oculari e delle loro prestazioni. A questo punto, volendo esaurire l'argomento, e volendo evitare ripetizioni, riprenderemo i vari aspetti richiamando volta per volta il già detto.

Per oculare s'intende (§ 4.1) un sistema ottico, di solito convergente, che funziona col principio della lente d'ingrandimento (fig. 14 o 15 nei §§ 2.6.2 e 2.7 e fig. 19 nel § 4.1) e pertanto può fornire un'immagine virtuale diritta ed ingrandita di un oggetto posto nel o presso il suo fuoco anteriore.

Si è anche detto che questo oggetto, nell'oculare da microscopio, è costituito dall'immagine intermedia fornita dall'obbiettivo. Ma l'immagine intermedia non irradia su un angolo solido ampio come farebbe un normale corpo, luminoso o illuminato, diffondente. Il fascio che l'immagine intermedia invia verso l'oculare è limitato entro confini precisi, e cioè nel prolungamento di un fascio a tronco di cono che ha per base minore la pupilla d'uscita dell'obbiettivo (PU, vedi fig. 32 nel § 8.8) e per base maggiore il diaframma di campo visivo DV dell'oculare (supponendo per semplicità che l'oculare sia positivo, cioè senza la lente di campo che si interpone fra obbiettivo ed immagine intermedia).

Da quanto si disse nei capitoli citati, risulta anche che l'oculare ha caratteristiche per certi versi opposte a quelle dell'obbiettivo: quest'ultimo ha infatti apertura elevata, campo angolare piccolo e pupille interne o molto vicine alle lenti; l'oculare ha invece:

•• apertura piccola; si è visto nel § 9 che la pupilla d'uscita dell'oculare raramente supera i due mm, mentre la focale varia da 70 a 10 mm; l'apertura lato oggetto non supera quindi (vedi la (20) nel § 5.2.4 per l'apertura relativa) il valore di:

$f_{\#} = \frac{f}{d} = \frac{10}{2} = 5$ e, per l'apertura numerica (sempre lato oggetto) (vedi la (22)):

$$NA = \frac{1}{2\, f\#} = \frac{1}{10} = 0{,}1$$

ma normalmente il valore è assai minore;

•• campo angolare forte: come si è detto nel § 7.1, un oculare può superare il valore di 50° (2 α) , mentre un obbiettivo non supera 7°.

•• posizione della pupilla: come si è detto nei §§ 4.4 (fig. 21) e 9, ad ogni punto dell'oggetto corrisponde un punto dell'immagine intermedia ed un fascio che converge prima nell'immagine intermedia e diverge poi in direzione della lente oculare. La lente rende parallelo tale fascio elementare e tutti i fasci corrispondenti a tutti i punti dell'immagine intermedia emergono dall'oculare formando globalmente un fascio conico al cui vertice si trova il "disco di Ramsden" (§ 4.4) o "pupilla di uscita" (P nelle figg. 20, 21 e 32). Si è anche detto che tale pupilla P è quella di uscita sia dell'oculare sia del microscopio, e per essa passa tutta la radiazione emergente dal microscopio. Ebbene, la pupilla P si trova un poco sopra al secondo fuoco dell'oculare[112], e la sua distanza dall'ultima lente, la cosiddetta "**altezza della pupilla**" o "estrazione", varia da 5 a 20 mm circa. Dunque P, che è di fatto il diaframma d'apertura virtuale dell'oculare essendo l'organo che limita il diametro del fascio

[112] Negli oculari negativi un poco sotto.

emergente, si trova fuori dal sistema, e perciò si parla di "**pupilla estratta**"; ne risulta che il fascio elementare corrispondente ad ogni punto dell'immagine intermedia traversa la P che è centrata, ma attraversa le lenti dell'oculare in posizione eccentrica, e questo ostacola la correzione di certe aberrazioni, specie astigmatismo.

Nel § 9 si è detto come si calcola o si misura il diametro $Ø_p$ del disco di Ramsden (vedi la formula (26)) e quale è la sua importanza ed il suo valore ottimale.

Ma è importante anche l'altezza della pupilla, che dipende dalla struttura dell'oculare. Non si possono dare regole generali; si può solo dire che gli oculari negativi (vedi il § 7.2) hanno in genere una pupilla più bassa, per via dell'effetto convergente della lente di campo. La pupilla è più bassa anche negli oculari più forti, a parità di ogni altra condizione, per la loro minor focale.

Si può anche dire che la pupilla deve essere più alta possibile; infatti fra l'occhio e l'oculare si possono interporre due cose: gli occhiali, per chi ne ha bisogno, che non devono urtare contro la lente emergente dell'oculare ("lente oculare") per non graffiarla (vedi il § 20.10); le ciglia, che sfregando sulla stessa lente vi lasciano dannose impronte. Per contro, una pupilla alta, a parità di campo angolare, richiede ovviamente delle lenti più grandi e questo non è solo un problema di costi, ma di aberrazioni.

Un'altezza di pupilla di 10 mm può essere soddisfacente (in assenza di occhiali) ed è comune negli oculari deboli, anche negativi. Per i portatori di occhiali occorrono almeno 15 mm, essendo 12 mm la distanza nominale fra lente dell'occhiale e cornea. Raramente il costruttore dichiara l'altezza di pupilla dei suoi oculari, ma la si misura facilmente identificando la posizione della pupilla stessa con un vetro smerigliato o un pezzo di carta "da lucidi": col microscopio acceso e correttamente regolato, si muove lo schermo smerigliato su e giù sopra l'oculare fino ad avere il minimo diametro della macchia illuminata. A questo punto si misura la distanza fra schermo e punto più elevato dell'oculare, tenendo conto che la montatura può sporgere rispetto alla lente oculare.

Un caso particolare è dato dai sistemi fotografici o televisivi in cui la macchina fotografica o la telecamera sono muniti di obbiettivo. Gli obbiettivi fotografici da ripresa, specie se del tipo "**zoom**" ("pancratici"), possono avere una pupilla d'ingresso assai profonda, e la pupilla dell'oculare deve essere altrettanto elevata. A questo scopo si sono costruiti degli oculari appositi con altezza di pupilla fino a 250 mm. Se le due pupille (dell'oculare e dell'obbiettivo della telecamera) non coincidono è facile avere una vignettatura (vedi il § 6.1 e l'articolo n° 13, in questo sito).

Dell'ingrandimento dell'oculare si è parlato nel § 4.3 (formule (18) e (19)) e si è visto come lo si misura nei §§ 12.5 e 12.6 (formule (29) e (30)). Si è anche parlato dell' "**ingrandimento utile**", sia dell'obbiettivo che dell'oculare (§ 18.12).

Si può aggiungere che solo in casi particolari conviene uscire dai limiti dell'ingrandimento utile: verso l'alto, fino a $V_{ok} = 30\ \times$, per facilitare il lavoro a persone con visus ridotto o per delimitare una zona ridotta dell'oggetto (gli oculari più forti hanno un indice di campo minore)[113]; verso il basso, fino a $2\ \times$, per la fotografia su formato piccolo, la proiezione, ecc.; per la ripresa televisiva con i moderni sensori, che sono molto piccoli, può rendersi necessario addirittura ridurre l'immagine intermedia con oculari o sistemi di raccordo molto speciali (vedi il § 30.8).

[113] Un oculare forte può essere prezioso per l'esame dello star test al centro del campo.

20.1 - IL CAMPO DELL' OCULARE

Per quanto riguarda le immagini dell'oggetto, l'oculare ha come proprio oggetto l'immagine intermedia e come diaframma di campo (oggetto) il **diaframma di campo visivo** (DV in fig. 32; vedi anche il § 5.1). Nell'osservazione visuale, l'immagine finale prodotta dall'oculare è virtuale, e pertanto non si può parlare di campo immagine lineare.

Il diametro di DV , cioè del campo oggetto dell'oculare, è il cosiddetto "indice di campo" **s'** (vedi i §§ 7.1 e 19.2.4)[114]. Tale **indice di campo** dipende dalla costruzione meccanica ed ottica dell'oculare ed il suo limite superiore è legato al diametro esterno di questo. Per gli oculari classici, secondo lo standard della Royal Microscopical Society di Londra, il diametro esterno è 23,2 mm ed il diaframma di campo visivo DV non supera in genere 20 mm. Per molti costruttori moderni, è entrato in uso un diametro esterno maggiore, spesso di 30 mm, e così in molti casi di microscopi stereoscopici. In queste condizioni, il diametro di DV può arrivare a circa 26 mm.

Sempre nel § 7.1 (formula (24)) si è considerato il campo angolare $2\alpha'$ dell'oculare e si è visto come lo si calcola. Il campo angolare non è che l'apertura del cono formato dai raggi principali che provengono dal centro della pupilla d'uscita dell'obbiettivo (PU in fig. 32), sfiorano l'orlo del diaframma DV ed emergono dall'oculare passando per il centro della pupilla di quest'ultimo (P). Così si è visto che il campo angolare $2\alpha'$ dipende dall'indice **s'** (diametro di DV), per cui gli oculari di diametro esterno 30 mm possono avere un campo angolare $2\alpha'$ maggiore.

Ebbene, è usuale considerare "normale" un campo $2\alpha'$ fino a 39 - 40°; sarà "**grandangolare**" oltre quel limite (vedi anche i §§ 7.1 e 19.2.4). Con un diametro esterno "classico" di 23.2 mm ed un indice di campo s' = 18 mm, si può avere campo grandangolare solo con ingrandimento dell'oculare di almeno 10 × ; con oculari di diametro 30 mm si può avere campo "grande" già con $V_{ok} = 6{,}4 \times$ (s' = 28 mm).

In linea di principio, è bene che il campo angolare $2\alpha'$ sia più grande possibile. Ma vi sono varie controindicazioni. Intanto, a maggior campo corrisponde, a parità di ogni altra condizione, un maggior diametro delle lenti ed un maggior costo. In secondo luogo, l'occhio non riesce ad abbracciare in un colpo solo un campo superiore a circa 40°, per cui, oltre quel limite, è costretto a muoversi in continuazione per esplorare tutto il campo. Ma, durante i movimenti dell'occhio, si muove anche la sua pupilla, che non coincide più col disco di Ramsden; quindi il capo dell'osservatore deve muoversi anch'esso, in direzione opposta all'occhio, per ristabilire quella coincidenza. Infine, un maggior campo angolare complica la correzione di tutte le aberrazioni.

Dell'accordo che deve esistere fra indice di campo dell'oculare e campo immagine dell'obbiettivo si è già parlato nel § 19.2.4.

[114] Per il caso degli oculari negativi, vedi la fine del § 7.2.

20.2 - La PARFOCALITÀ degli OCULARI

Si è visto a suo tempo che nel progetto dell'obbiettivo, sia per una miglior correzione delle aberrazioni, sia per ragioni di intercambiabilità, ecc. si definisce rigidamente la posizione dell'immagine intermedia. Se tale posizione è la stessa per tutti gli obbiettivi di una serie, essi saranno equipollenti, almeno sotto questo aspetto.

Collo stesso criterio, si può parlare di **parfocalità** degli oculari quando essi presentano la stessa posizione del fuoco anteriore rispetto alla battuta, cioè la stessa posizione ideale dell'immagine intermedia. Anche questo sarà un contributo all'equipollenza degli obbiettivi. Come per gli obbiettivi, non vi è uniformità fra i vari costruttori. Misurando la posizione del primo fuoco rispetto all'orlo superiore del tubo porta-oculari, cioè rispetto al riferimento meccanico che determina la posizione dell'oculare quando lo si infila nel tubo, si può riscontrare fra i vari costruttori una posizione che varia almeno da 8 a 25 mm al di sotto dell'orlo del tubo. Le norme DIN indicano un valore di 10 mm; le norme TGL, 13 mm.

Tanto per valutare l'importanza di questa variazione, si noti che uno spostamento assiale di soli 2 mm dell'oculare porta ad una perdita apprezzabile di parfocalità fra gli obbiettivi, specialmente fra i più forti ed i più deboli. Poiché capita spesso di sostituire l'oculare con un altro, occorre accertarsi della loro parfocalità controllando semplicemente che il fuoco non venga alterato dopo la sostituzione. Per rendere più sensibile questo controllo, si usino questi accorgimenti: oggetto molto sottile (striscio di sangue, micrometro oggetto, reticolo), nonché ben contrastato o colorato; obbiettivo debole, a grande apertura e quindi a grande pupilla; occhio non accomodato, cioè immagine finale all'infinito[115].

Anche fra oculari dello stesso costruttore, di serie diverse o anche della stessa serie, specie se di vecchia costruzione, vi può essere mancanza di parfocalità. Naturalmente, dati due o più oculari parfocali e positivi, anche il diaframma di campo visivo DV deve essere nella stessa posizione. Nel caso di oculari negativi (§ 7.2), vi possono essere differenze in ragione della diversa ricetta dell'oculare.

Usare per un dato obbiettivo un oculare previsto per una posizione dell'immagine intermedia diversa da quella dell'obbiettivo stesso, esige un ritocco della messa a fuoco, e questo equivale ad una alterazione della lunghezza del tubo, cioè delle coniugate dell'obbiettivo. Si è già detto cosa questo comporti: perdita di parfocalità degli obbiettivi (§ 19.1.2), comparsa di aberrazione sferica (§ 13.2.3.1) ed altre aberrazioni, alterazione dell'ingrandimento (§ 2.6.2.2). Questo è un altro motivo per porre molta attenzione nell'accoppiare obbiettivo ed oculare, anche dello stesso costruttore. Per sapere se un certo oculare può essere usato con una data serie di obbiettivi, a parte i problemi di cromatica trasversale, ecc., cioè solo dal punto di vista della parfocalità, si metta a fuoco un oggetto sottile con quell'oculare e con uno degli obbiettivi della serie; cambiando obbiettivo, si deve sempre ritrovare il fuoco, almeno approssimato, senza toccare la relative manopole. Il controllo riesce più sensibile passando dall'obbiettivo più forte al più debole della serie. Abbiamo detto prima "fuoco approssimato": è possibile quantizzare ? Purtroppo, un fuoco perfetto non si può mai pretendere quando si cambia obbiettivo: troppe sono le cause di

[115] Per accertare questo, è bene sovrapporre all'oculare un piccolo telescopio o cannocchiale, con ingrandimento 3 - 5 ×, messo a fuoco per l'infinito, oppure usare un oculare micrometrico messo ben a fuoco sul reticolo.

errore. Valutare fin quando la perdita di fuoco è accettabile, diviene quindi soggettivo. Almeno, si deve pretendere che, al cambio di obbiettivo, la struttura dell'oggetto rimanga riconoscibile e si possa subito capire da che parte si trova il fuoco ottimale.

20.3 - STRUTTURA MECCANICA

Esternamente, un oculare normale da microscopio ha una parte inferiore cilindrica, liscia, generalmente brunita o cromata, che s'infila nel tubo porta-oculari (vedi il § 24).

La sua lunghezza è assai varia: da 20 a 60 o più mm. Il tubo porta-oculari ha un diametro interno costante, uguale a quello dell'oculare, ma prima o poi esso si restringe o è otturato meccanicamente dalla presenza di prismi o lenti o loro montature o da qualche diaframma ("light baffle"). La profondità della porzione superiore del tubo è ovviamente progettata dal costruttore in modo da poter accogliere gli oculari da esso previsti. Ma quando si vogliono usare oculari speciali o di altri costruttori, può accadere che l'oculare non penetri completamente nel tubo per la propria eccessiva lunghezza.

Il diametro interno del tubo, e naturalmente quello esterno della parte inferiore dell'oculare, è largamente standardizzato su due valori: quello classico (RMS) pari a 23,2 mm e quello "grandangolare" moderno, pari a 30 mm, ma vi sono molte eccezioni, specie fra i microscopi stereoscopici, operatòri, ecc. Non parliamo poi dei costruttori orientali …

Sopra alla parte inferiore dell'oculare vi è una parte di diametro maggiore, di forma varia, anche se generalmente cilindrica, di altezza assai varia, da un paio di mm a molti cm (vedi le figg. 77, 78 e 79) verniciata di nero, grigio o altri colori o brunita.

Fra la parte inferiore e quella superiore (a maggior diametro) dell'oculare vi è dunque un gradino, un orlo sporgente, che si può chiamare **battuta** a somiglianza di quello che si è fatto per l'obbiettivo (vedi i §§ 10 e 19.1.2 e la fig. 71). La battuta, quando s'infila l'oculare nel relativo tubo, si appoggia sull'orlo superiore del tubo. Pertanto, la battuta rappresenta il riferimento per la posizione assiale dell'oculare, così come avviene per l'obbiettivo.

La faccia superiore dell'oculare porta la "**lente oculare**" o emergente, il cui diametro può andare da 5 mm (oculari forti negativi a pupilla bassa) a 25 mm (oculari deboli, positivi, a pupilla alta). È ovvio che, a parità di campo angolare α o 2α (vedi il § 7.1), la lente oculare sarà tanto più grande quanto più alta è la pupilla: tale lente infatti è la base di un cono, la cui altezza è pari all'altezza della pupilla e la cui apertura (vedi il § 5.2.3 e la fig. 23) è il semicampo angolare α dell'oculare.

La superficie superiore (esterna) della lente oculare di solito non riceve un trattamento anti-riflettente poiché essa si sporca facilmente (polvere, contatto con le ciglia, ecc.) e va pulita con frequenza: il trattamento è di solito più delicato del vetro e si riga facilmente.

Di solito, la montatura meccanica sporge verso l'alto rispetto alla superficie esterna della lente oculare, e rende più difficile la pulizia.

L'orlo superiore dell'oculare può servire da appoggio o incastro per vari tipi di accessori: ◊◊ filtri "di arresto" per fluorescenza; ◊◊ filtri polarizzanti; ◊◊ prismi per il disegno (camera lucida di Abbe o simili, vedi il § 27.7.1, fig. 110); ◊◊ prismi o specchi per la micro-proiezione[116]; ◊◊ para-occhi, ecc.

[116] Spesso i prismi, più che all'oculare, sono fissati al tubo porta-oculari, vedi il § 27.7.1.

Fig. 77 − Oculare positivo − Il diaframma di campo visivo sta sotto il gruppo lenti.

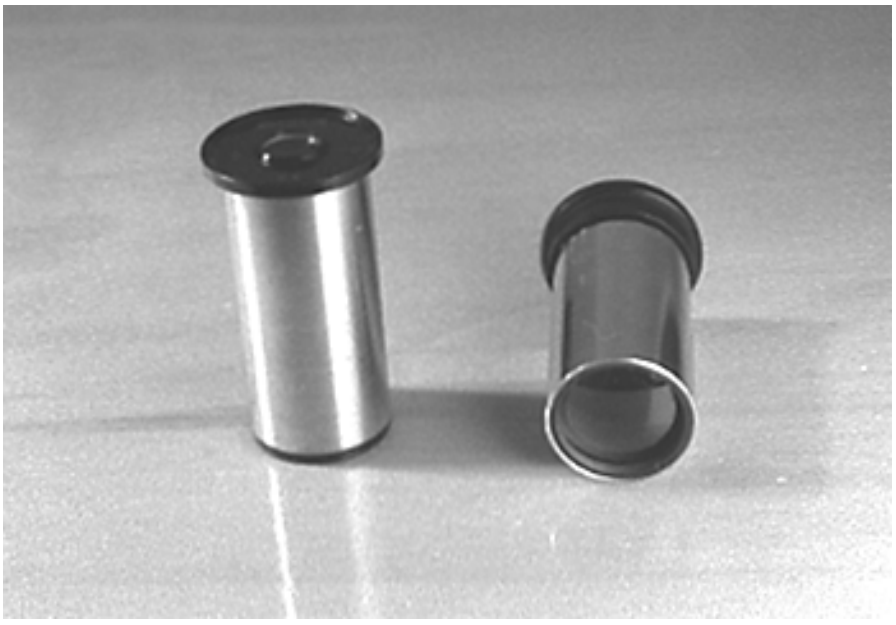


Fig. 78 − Oculare negativo. Il diaframma di campo visivo non appare dall'esterno poiché si trova fra le due lenti.

Il **para-occhi** è un organo costituito da metallo, plastica o gomma che circonda l'orlo superiore dell'oculare, ha forma di coppa, e serve a ridurre l'ingresso di luce laterale nell'occhio dell'osservatore. In certi casi esso non è semplicemente circolare, ma ha un'ala laterale che serve a riempire l'angolo esterno dell'occhio. Il paraocchi si incastra o si avvita all'estremità superiore dell'oculare, ed in questo caso si smonta con facilità; a volte è molle (in gomma) e si può ripiegare all'ingiù; altre volte è rigido ma scorrevole a telescopio sulla parte superiore dell'oculare in modo da poter scomparire, ed in questo caso non è estraibile.

Per tutti questi accessori, sarebbe bene che il diametro dell'estremità superiore fosse lo stesso per tutti gli oculari; infatti vi è una misura molto diffusa, di 28 mm (corrispondente alle norme DIN 58 881), ma vi sono molte eccezioni.

Abbiamo descritto nel § 12.1 **gli oculari micrometrici** o **regolabili**, la loro struttura, il

loro uso. Oltre al "micrometro-oculare", tali oculari possono contenere fili incrociati a 90° (per l'osservazione in polarizzazione), disegni a rettangolo (per l'inquadramento di una fotografia), piccoli cerchi (per focalizzare o per delimitare la zona sensibile di un eventuale **esposimetro** "**spot**"), ecc. Ebbene, spesso queste figure debbono essere orientate in modo preciso e non ruotate. Poiché il reticolo, il micrometro o comunque la figura, generalmente depositata su un dischetto di vetro, è rigidamente fissata all'interno dell'oculare, non resta che imporre una posizione fissa a quest'ultimo, pur consentendone un facile smontaggio. La soluzione normale è quella di creare, subito sotto la battuta, una **chiave**, cioè una sporgenza che si incastra in un'apposita intaccatura dell'orlo superiore del tubo ed impedisce di ruotare l'oculare, ma non di sfilarlo. La chiave può essere costituita dalla testa di una vitolina, da una sporgenza della battuta o da un apposito anello con un dente o una spina. La chiave sconsiglia di usare l'oculare che ne è dotato su un tubo sprovvisto dell'intaccatura citata sopra, poiché la chiave stessa lo terrebbe sollevato.

20.4 - STRUTTURA OTTICA

Data la minor apertura e l'ingrandimento sempre modesto, l'oculare non ha le esigenze e l'importanza dell'obbiettivo; per contro, esso deve fornire un campo angolare grande (§ 20.1) e lavorare con pupilla estratta o esterna al sistema (§ 20).

Esso inoltre può facilmente introdurre delle aberrazioni che peggiorano la qualità dell'immagine fornita dall'obbiettivo, mentre in altri casi può compensare certi residui di aberrazioni dell'obbiettivo: lo abbiamo visto per la cromatica laterale (§ 19.3.1), lo vedremo per l'astigmatismo.

20.4.1 - Oculari positivi e negativi

Si è già accennato più volte a questo argomento e possiamo quindi riassumere (vedi il § 7.2).

Un oculare è "**positivo**" quando il suo sistema di lenti sta tutto SOPRA il diaframma di campo visivo (DV in fig. 32 nel § 8.8). Si parla di "**oculari a diaframma esterno**": vedi la fig. 77 in cui il tubo che porta il diaframma di campo visivo, a sinistra, non contiene lenti; il gruppo lenti è tutto racchiuso nella parte che si avvita sul tubo citato, come appare al centro della figura; a destra, lo stesso oculare completo. Essenzialmente, un oculare positivo si può ricondurre ad un'unica lente semplice nell'approssimazione di Gauss (§ 2.5.1), anche se la correzione delle aberrazioni richiede un sistema più complesso.

Invece l'oculare "**negativo**" contiene due sistemi indipendenti, non riconducibili ad uno solo: una **lente oculare** sopra il diaframma DV, che svolge la funzione di oculare positivo e sta dalla parte dell'occhio (donde il suo nome)(Lo in fig. 32), ed una **lente di campo**, sotto DV, che ha la funzione illustrata nel § 7.2 (LC in fig. 32). Il diaframma DV si trova quindi in mezzo alle due lenti (**oculari** "**a diaframma interno**")(vedi la fig. 78) e lì pure si trova il primo fuoco (lato oggetto) dell'oculare. Il secondo fuoco si trova invece sopra la lente oculare, vicino (ma non coincidente) al disco di Ramsden. Ecco perché un oculare negativo si

può usare come lente d'ingrandimento solo rovesciandolo: l'oggetto deve stare molto vicino ad uno dei fuochi, e solo il secondo è accessibile.

Delle prestazioni dell'oculare negativo si è già parlato nel § 7.2 e si è visto che la lente di campo ha come principale funzione di aumentare il campo angolare 2α dell'oculare e diminuire l'ingrandimento (V). Essa però ha anche un grande vantaggio: con opportuni valori della potenza, dell'indice, della dispersione, della forma e della posizione delle lenti, un oculare costituito da due lenti semplici (una oculare ed una di campo), può essere acromatico, cioè corretto da cromatica laterale ed abbastanza bene da cromatica longitudinale. Questo spiega la fortuna, specie in passato, di una ricetta così economica; oggi si cercano sistemi più complessi per una migliore correzione, un maggior campo angolare ed una pupilla più alta.

20.4.2 - Le formule classiche

◊◊ Oculare di **Huygens** o di **Campani**[117]

È dato da due lenti piano-convesse con la convessità verso l'obbiettivo, fatte dello stesso vetro ("**crown**", che è un silicato leggero di potassio, calcio, ecc.). La distanza fra le lenti è pari circa alla semisomma delle loro focali; la focale della lente di campo è circa il doppio dell'altra lente. La lente inferiore, nelle ricette moderne, può essere un menisco convergente. Il piano focale oggetto, e quindi il diaframma DV, è intermedio alle due lenti. Si tratta di un oculare negativo nella sua forma più semplice. La pupilla d'uscita è bassa; l'altezza della pupilla, nelle formule classiche, è pari ad un terzo della focale dell'oculare (f_{oc}). Il campo angolare è modesto (anche meno di 30°); sono forti la curvatura di campo, la distorsione, la sferica. La cromatica laterale CVD può invece essere nulla, come già detto. L'oculare può essere quindi del tipo **acromatico** (vedi i §§ 19.3.1 e 20.4.4 e la fig. 79 a destra). Se si vuole da esso una correzione della CVD di tipo **compensatore**, la lente oculare sarà in genere un doppietto, la lente di campo può essere di vetro **flint**, che è un silicato pesante di potassio e piombo ad alta dispersione ed elevato indice. Si può così raggiungere un ingrandimento maggiore (fig. 79 a sinistra).

Nei tipi **micrometrici** il reticolo ("micrometro oculare"), assieme a DV , è racchiuso fra le due lenti e pertanto rimane pulito per tempi assai lunghi. Negli oculari positivi invece il reticolo si trova al lato inferiore dell'oculare, scoperto verso il basso, e si impolvera facilmente. Tale polvere viene vista a fuoco poiché si trova nel primo fuoco dell'oculare.

In realtà, i buoni costruttori hanno l'accortezza di depositare il reticolo sulla faccia superiore (interna) del reticolo, in modo che la polvere sulla faccia inferiore risulti poco a fuoco. Un'ulteriore perfezionamento consiste nel coprire la graduazione del micrometro con un secondo dischetto di vetro di spessore non trascurabile (struttura "a sandwich"). In questo modo, le due superfici esterne del micrometro sono entrambe lontane dalla graduazione

[117] Giuseppe CAMPANI, ottico ed astronomo spoletino (sec. 17°).

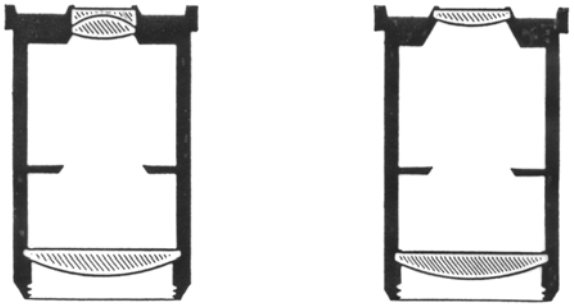


Fig. 79 – Un oculare negativo compensatore (a sinistra) ed un acromatico, sec. Huygens (a destra).
Da: H. Determann e F. Lepusch, "Le microscope et son utilisation", Ed. Leitz, Wetzlar, 512 – 69a, 1974

◊◊ Oculare di **Ramsden**

Nella formula classica, si tratta di due lenti semplici piano-convesse con le convessità affacciate, e molto vicine. Per quest'ultima ragione, entrambi i fuochi sono esterni al sistema e l'oculare è positivo. Le lenti sono ancora di vetro crown. La pupilla è bassa, il campo è modesto, la curvatura di campo è sensibile. La cromatica laterale (CVD) non si può correggere, a meno di porre la lente inferiore nel primo fuoco della prima, cioè nella posizione dell'immagine intermedia, il che mostra a fuoco ogni granello di polvere che vi si depositi. Coma e sferica possono essere piccole. Se una o entrambe le lenti sono costituite da doppietti, le correzioni possono migliorare e si può avere un oculare acromatico o compensatore: "di Plössl" o "simmetrico" (due doppietti) o "di Kellner" (un doppietto oculare più una piano-convessa semplice); così si hanno campi angolari anche oltre 40°.

◊◊ Oculare **ortoscopico**.

È una variante di quello di Ramsden, nel senso che la lente inferiore è sostituita da un tripletto simmetrico, con due biconvesse uguali incollate su una biconcava. La distanza fra le lenti è minima. Il sistema è positivo, può avere la pupilla abbastanza alta ed un campo fino a 50°, rientrando così nella categoria dei "grandangolari" (vedi il § 20.1); curvatura e distorsione sono ridotte (da cui il nome, che in greco significa "che vede diritto").

Questa ricetta, chiamata anche "**periscopica**" o "**aplanatica**", è molto usata nei telescopi; in microscopia, le si dà in genere una correzione compensatrice.

◊◊ Oculari "**grandangolari**": sotto questo nome vanno molte ricette, con campo angolare maggiore di 40°, generalmente positive, con correzione acromatica o compensatrice, e spesso con pupilla alta. Queste caratteristiche, e cioè campo grande e pupilla alta, si vanno diffondendo in molti strumenti moderni, ma occorre essere prudenti perché, al fine di ottenere quelle prestazioni, si trascurano spesso certe correzioni. Citiamo lo schema di Plössl[118] (due doppietti biconvessi uguali, già descritto), di Erfle (due doppietti diversi con una lente semplice interposta), ecc.

Attualmente, con la disponibilità di vetri ottici speciali, si hanno buone prestazioni anche da ricette relativamente semplici e la varietà di tali ricette non può essere descritta in questa sede.

Come si è detto nel § 20.1, un oculare può essere "grandangolare" con un diametro esterno di 23,2 mm solo con ingrandimento V maggiore di 10 ×; se il diametro esterno è 30 mm, il campo grande si può avere anche a partire da un valore di V pari a 6,4 ×.

[118] Simon PLÖSSL, ottico viennese (1794 - 1868).

20.4.3 - Le aberrazioni degli oculari

◊◊ Sferica e coma. In genere sono modeste, ed in certi casi il costruttore cerca una compensazione fra residui di aberrazioni dell'obbiettivo e dell'oculare.

Sappiamo già quali sono i fattori che influiscono sulla sferica nell'immagine al microscopio: residuo dell'obbiettivo, spessore **d** della lamella, lunghezza del tubo Lm. Ora dobbiamo aggiungere il residuo dell'oculare.

Nei moderni sistemi CF (§ 19.3.2) si cerca però, in genere, una correzione totale, sia nell'obbiettivo, sia nell'oculare, per cui viene abbandonato ogni concetto di compensazione.

◊◊ La curvatura di campo di un oculare è generalmente minore di quella di un obbiettivo non planare, data la maggior focale, ma è dello stesso senso e le due curvature si sommano. Il maggior contributo alla curvatura è dato dalla lente di campo degli oculari negativi.

◊◊ La distorsione è generalmente modesta e crea difficoltà solo quando si eseguono misure di lunghezze o di superfici in grandi porzioni dell'immagine.

◊◊ Per l'astigmatismo occorre ricordare quanto si disse sulle "nappe" (vedi il § 13.2.5) e sulla superficie di Petzval (§ 13.1.1); la correzione della curvatura e dell'astigmatismo debbono procedere di pari passo nel senso che almeno una delle nappe dovrebbe coincidere colla superficie di Petzval ed entrambe dovrebbero coincidere col piano desiderato dell'immagine. Se quindi un obbiettivo è corretto nel senso che solo una delle nappe è spianata, l'altra sarà ricurva. Si può anche pensare allora ad una compensazione dell'astigmatismo fra obbiettivo ed oculare: l'oculare può avere un residuo, cioè una curvatura delle nappe, tale da compensare quello dell'obbiettivo. È il metodo usato da certe case per i propri obbiettivi planari ("Pl", "NPl" o simili) che possiedono un residuo di astigmatismo compensato dagli oculari della stessa casa.

20.4.4 - La cromatica

Per la cromatica longitudinale, in passato solo in certi casi si è cercata la "compensazione" fra obbiettivo ed oculare. Soprattutto nei sistemi CF moderni (§19.3.2) si cerca la correzione totale sia nell'obbiettivo che nell'oculare.

Per la cromatica laterale o CVD, si ricordi quanto detto nel § 19.3.1: si chiamano **acromatici** quegli oculari che sono corretti da CVD (e possibilmente da cromatica longitudinale) e vanno accoppiati con obbiettivi ugualmente corretti da CVD (acromatici deboli, sistemi CF); sono **compensatori** gli oculari sovracorretti per la CVD che si accoppiano con gli obbiettivi sottocorretti da CVD: acromatici forti, semi-apocromatici ed apocromatici. Questa distinzione è utile per le ricette classiche, mentre per i sistemi CF si usano solo oculari acromatici, poiché gli obbiettivi (+ l'eventuale lente di tubo) sono totalmente corretti.

Ripetiamo anche che la compensazione ha infinite sfumature nel senso che i residui di CVD sono diversi, ed hanno un diverso andamento in funzione del campo, non solo da un costruttore all'altro, ma anche, spesso, da un obbiettivo all'altro dello stesso strumento. Così, nei sistemi classici, un corredo completo di obbiettivi può richiedere due o tre tipi diversi di oculari, anche se, per economia, il fornitore offre generalmente un solo oculare o una serie di

oculari di diverso ingrandimento, ma con la stessa correzione.

In pratica, gli oculari acromatici o compensatori si riconoscono secondo la regola descritta nel § 19.3.1.

20.5 - EQUIPOLLENZA degli OCULARI

In varie occasioni si è parlato di oculari e pertanto anche qui possiamo riassumere.

Per sostituire senza danno un oculare con un altro occorre verificare alcuni parametri meccanici ed ottici.

◊◊ Diametro della parte inferiore, quella che si infila nel tubo porta-oculari. Solo in certi casi, si può introdurre un oculare di diametro inferiore in un tubo di diametro superiore. Sono in commercio, o facilmente realizzabili, degli appositi raccordi. Essi però debbono tener conto anche della posizione assiale dell'oculare, cioè debbono tenerlo alla giusta altezza.

◊◊ Lunghezza della parte inferiore: si è già detto che il tubo porta-oculari ha una lunghezza limitata, diversa da tubo a tubo; se l'oculare è troppo lungo, non penetra completamente, e si perde la parfocalità degli obbiettivi (vedi sotto).

◊◊ Parfocalità. Come si è detto nel § 20.2, la parfocalità degli oculari è un fattore importante, che va controllato prima di acquistare un oculare o anche uno strumento completo; e si è detto e ripetuto quali conseguenze porta un oculare che non ha il primo fuoco all'altezza giusta: è alterata la posizione dell'immagine intermedia, quindi le coniugate dell'obbiettivo, quindi la parfocalità degli obbiettivi (§ 19.1.2), l'ingrandimento Mob e la correzione, in specie della sferica (§ 13.2.3.1). Per essere intercambiabili, tutti gli oculari di un corredo debbono per lo meno avere il primo fuoco alla stessa distanza dalla battuta, salvo il caso degli oculari negativi, in cui bisogna tener conto dell'abbassamento dell'immagine intermedia operato dalla lente di campo.

◊◊ Campo: nei §§ 19.2.4 e 19.4.2 si è discusso del problema del campo lineare dell'oculare, che non deve superare il campo nominale dell'obbiettivo: non si può sostituire un oculare con un altro di indice di campo maggiore se tale campo maggiore supera il campo nominale dell'obbiettivo.

◊◊ Correzioni : l'intercambiabilità degli oculari presuppone che essi abbiano le stesse correzioni, specie di cromatica laterale, astigmatismo, ecc. Di ciò si è parlato già ampiamente.

In conclusione, l'accoppiamento fra obbiettivo ed oculare è sempre critico e la sostituzione di un obbiettivo o di un oculare con un altro può funzionare solo se sono soddisfatte tutte le condizioni citate sopra e quelle elencate nel § 19.4.

20.6 - OCULARI DIVERGENTI

Si è accennato nel § 2.5 (fig. 9) al potere divergente di una lente a superfici sferiche che sia più sottile al centro che non all'orlo.

Non vogliamo trattare per esteso la formazione delle immagini reali attraverso una lente divergente, ma può bastare una comprensione intuitiva a mezzo della fig. 80:

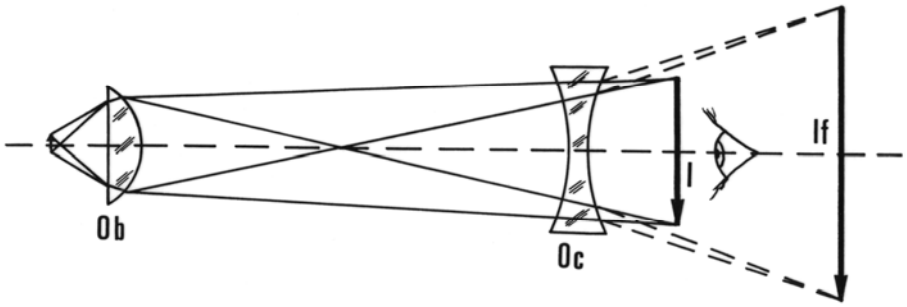


Fig. 80

l'obbiettivo Ob (del tipo a "coniugata finita") è correttamente messo a fuoco e fornisce dell'oggetto un'immagine intermedia (reale, rovesciata, ingrandita) in I. Si ponga ora PRIMA dell'immagine intermedia una lente divergente Oc ; la potenza e la posizione della lente siano tali che i fasci che convergono in ogni punto di I (ne sono disegnati due, per i punti estremi di I), divengono meno convergenti, senza arrivare a divergere. Invece di I si forma così un'immagine **If**, sempre reale, ingrandita rispetto ad I e spostata in direzione opposta ad Ob. Il funzionamento di questo **oculare divergente** è diverso da quello dell'oculare di Galileo, che è pure divergente, ma produce un'immagine finale virtuale (se correttamente a fuoco).

L'oculare di fig. 80 ha una pupilla d'uscita posta fra obbiettivo ed oculare, in virtù della sua potenza negativa; l'occhio dell'eventuale osservatore deve però stare sopra l'oculare, come schematizzato in fig. 80, e pertanto molto sopra la pupilla: avviene qualcosa di simile a quanto schematizzato in fig. 33 (vedi il § 8.8): la pupilla dell'occhio, essendo lontana dalla pupilla dell'oculare, si comporta come diaframma di campo e limita il campo angolare. Ne consegue che l'oculare divergente può essere usato solo dove serve un'immagine reale: in fotografia o in proiezione.

I suoi vantaggi sono: la sua curvatura di campo è opposta a quella dell'obbiettivo, e la può compensare in parte; il suo astigmatismo può pure ridurre quello dell'obbiettivo.

Coll'avvento degli obbiettivi planari, gli oculari divergenti hanno perso molto del loro interesse ed i loro difetti, come la forte distorsione, ne hanno decretato la quasi scomparsa dal mercato.

20.7 - OCULARI PROIETTIVI

Il termine "proiettivo" indica genericamente un oculare capace di fornire un'immagine reale, adatta alla fotografia ed alla proiezione.

L'oculare divergente, appena descritto, è un primo esempio di proiettivo.

Nel § 12.5 si è visto come è possibile ottenere un'immagine reale da un oculare convergente: è sufficiente che l'immagine intermedia si formi prima del primo fuoco dell'oculare, ricadendo nel caso della fig. 13 (§ 2.6.2.4). Ebbene, questo si può ottenere in tre modi diversi :

◊◊ aumentare la distanza obbiettivo-oggetto, e quindi diminuire la distanza obbiettivo-

immagine intermedia (rispetto alla posizione di fuoco ideale, in cui l'immagine intermedia si forma nel fuoco dell'oculare e l'immagine finale è a distanza infinita). In pratica, si tratta di un ritocco della messa a fuoco; se l'immagine reale finale si deve formare ad una distanza dall'oculare[119] di almeno 20 cm, il procedimento è corretto e **qualunque oculare è adatto**;

◊◊ lasciare la messa a fuoco in condizioni ideali e sollevare l'oculare. Questo metodo è poco pratico, ma è ugualmente corretto per tiraggi superiori a 20 cm e si realizza con oculari normali;

◊◊ utilizzare un oculare regolabile (vedi il § 12.1): la messa a fuoco dell'obbiettivo può essere corretta, l'immagine intermedia ed il diaframma di campo visivo si trovano nella posizione ideale: sollevando la sola lente oculare, cioè svitando la sua montatura, si ottiene lo scopo di porre l'immagine intermedia prima del fuoco dell'oculare, fuoco che si è sollevato assieme alla lente oculare; anche questo metodo è poco pratico, ma abbastanza corretto.

Quando invece la distanza oculare-immagine finale (o tiraggio) è inferiore a 20 cm, è meglio usare oculari speciali, generalmente convergenti, detti "**proiettivi**" che sono ottimizzati per dare un'immagine reale con seconda coniugata corta.

Certi costruttori usano in realtà un altro sistema, che consente di utilizzare oculari normali con qualunque valore del tiraggio: il microscopio è correttamente messo a fuoco e l'immagine finale è all'infinito. Sopra l'oculare (in corrispondenza del disco di Ramsden) si pone una lente convergente detta "**lente di camera**" la cui focale è pari alla distanza che si desidera avere fra disco di Ramsden ed emulsione ("**tiraggio**"). In questo modo l'immagine finale all'infinito viene riportata nel secondo fuoco della lente di camera.

Quando invece si desidera creare un'immagine finale reale a grande distanza per proiezioni su schermo o su muro, difficilmente si possono usare oculari normali poiché il loro ingrandimento lineare è eccessivo (vedi anche il § 27.7.1): un normale oculare $10 \times (18)$ crea un'immagine sullo schermo di 1 m di diametro già alla distanza di 1,4 m circa[120]. Si usano allora proiettivi speciali con focale fino a 200 mm; per confronto, si pensi che l'oculare tipico di cui sopra ($10 \times (18)$) ha una focale di 25 mm.

Comunque sia, l'ingrandimento lineare dell'oculare che produce un'immagine reale è ottenibile dalla (59) come detto nel § 18.12, oppure è dato dalla (14) nel § 2.6.2.2:

$$M = \frac{x'}{f} \tag{14}$$

In questo caso x' è il "tiraggio" sopra citato ed **f** è la focale dell'oculare, ricavabile dalla (58) (nel § 18.12):

$$f_{ok} = \frac{250}{V_{ok}} \tag{58}$$

in cui V_{ok} è l'ingrandimento visuale dell'oculare.

I proiettivi possono essere positivi, negativi, acromatici, compensatori, ecc. ed anche meccanicamente possono differire molto da un costruttore all'altro.

Per la ripresa televisiva al microscopio (§ 30.9) si possono avere esigenze diverse: i moderni sensori televisivi, che siano del tipo termoionico (tubi a vuoto) o a stato solido (CCD e simili), hanno una superficie sensibile piccola, spesso minore di 1 cm, e vanno posti, per ragioni di praticità, assai vicini all'oculare. A questo punto è necessario un sistema ottico

---

[119] La distanza oculare-immagine finale si può chiamare "**tiraggio**" e corrisponde alla lunghezza di una eventuale camera oscura sul cui fondo si trova l'emulsione fotografica.

[120] A volte gli oculari destinati alla proiezione hanno la lente oculare regolabile per ottimizzare la messa a fuoco al variare della distanza dello schermo.

intermedio, del tipo della lente di camera sopra citata, che può essere costituito dallo stesso obbiettivo della telecamera, oppure da un proiettivo speciale. Il problema principale è di adattare le dimensioni dell'immagine finale a quelle del sensore: molti "raccordi TV", anche di costruttori di grido, hanno il difetto di utilizzare solo la parte centrale dell'immagine, quale si vede negli oculari. È come dire che nel "canale TV" si ha un ingrandimento molto maggiore che negli oculari.

Del problema della ripresa televisiva o fotografica al microscopio si tratterà nei §§ 30.8 e 30.9, costituendo esso un caso particolare, che rientra nella "microscopia speciale".

20.8 - OCULARI DI MISURA

Nel § 12.1 si sono descritti gli **oculari micrometrici** o **oculari regolabili** e la loro struttura.

Nel § 12.2 si è descritto il loro uso per la misura dell'ingrandimento dell'obbiettivo (Mob o M); nel § 12.3 si è spiegato come l'oculare micrometrico possa fornire misure di lunghezza, di superficie, di angoli, e pertanto esso diventi un **oculare di misura**[121].

A questo punto non ci resta che descrivere altri casi particolari, notando che anche l'oculare di misura può essere acromatico o compensatore e soggiacere alle stesse limitazioni d'uso descritte nel § 19.3.1. Esso può anche essere positivo o negativo, ma in quest'ultimo caso, come si è detto, esso non può servire direttamente a misurare l'ingrandimento dell'obbiettivo.

In sostanza, l'oculare di misura non è che un oculare (possibilmente a lente oculare regolabile) che contiene un "**reticolo**", cioè un disegno particolare su supporto in vetro, nel piano del primo fuoco, cioè dell'immagine intermedia (vedi il § 12.1). Si è già detto che il reticolo può assumere qualunque aspetto: se è costituito da una graduazione lineare, può servire a misure di lunghezza; se la graduazione è circolare, a misure di angoli. Un reticolo quadrettato può servire (come detto nel § 12.3) a misure di superficie, ma anche a conteggi di particelle; infatti, se si provvede ad una calibrazione (vedi il § 12.3), si conosce la superficie reale (nel piano dell'oggetto) corrispondente all'intera quadrettatura. Tale superficie è però suddivisa in molti quadretti (di solito $10 \times 10 = 100$ oppure $20 \times 20 = 400$). Se nel preparato vi sono particelle, punti, globuli o altro da contare, nel senso di misurare quanti ve ne sono per una data superficie, il conteggio verrà facilitato poiché si contano i punti, quadretto per quadretto, fila dopo fila, evitando di contare due volte lo stesso punto.

Ma vi sono molti altri reticoli, adatti a vari scopi. A volte si richiede una misura della superficie percentuale di un dato componente in un preparato composto. Per es., si abbia una sezione ricavata in un provino di roccia, di lega metallica, di qualche tessuto animale o vegetale. In tale provino si abbiano vari componenti in granuli o in porzioni, ed i componenti siano riconoscibili visivamente, magari in seguito a colorazione, tecniche di contrasto, ecc. Si voglia sapere quale percentuale della superficie della sezione è occupata da ogni singolo componente. Si procede per via statistica. Si usa un reticolo che contiene, nel piano dell'immagine intermedia, un certo numero di punti uniformemente distribuiti. Si contano quanti punti cadono sui granuli del componente A, quanti punti sul componente B, così via. Si ripete il conteggio su un certo numero di "campi", cioè di porzioni dell'oggetto, e si

[121] Si veda, in questo sito, l'art. n° 24: "La microscopia ottica dall'osservzione alla misura".

sommano tutti i punti caduti in A, in B, ecc. Con semplici calcoli si ricava la superficie percentuale dei vari componenti. Se si verificano certi presupposti di omogeneità del campione, ecc. si può anche ricavare dall'analisi di una superficie la distribuzione dei vari componenti nello spazio, cioè le loro percentuali in volume. Proprio la possibilità di misurare i volumi relativi in un aggregato composto, ha dato a queste **analisi** il nome di "**stereologiche**"[122].

È ovvio che, dietro questo semplice principio, vi è tutto uno sviluppo matematico che consente di calcolare quale numero di misure occorre effettuare per ottenere una data precisione nei risultati (calcolo degli errori, su base statistica), e ciò in relazione al rapporto volumetrico dei vari componenti, ecc.

I reticoli per analisi stereologiche si somigliano tutti; essi contengono 10 - 20 punti o crocette distribuiti uniformemente in un campo quadrato; vanno sotto il nome del loro autore (Weibel, Merz, ecc.).

Oggi, i metodi stereologici vanno lasciando il posto alle tecniche di analisi automatica d'immagine che si basano sulla tecnica televisiva e sul calcolo elettronico. Allo stesso modo sono in disuso gli **oculari integratori** che consentono di misurare i rapporti fra le superfici dei vari componenti di una sezione, valutando lo spazio percorso sui componenti stessi da un punto che traversa l'immagine su comando di vari tamburi graduati. Ogni tamburo somma (cioè integra) i segmenti percorsi dal punto mobile sui singoli componenti.

In altri casi, si deve misurare la dimensione media dei granuli di un aggregato ad uno o più componenti (roccia, lega metallica, ecc.). Il metodo più rapido è di confrontare l'immagine dell'oggetto con una serie di reticoli che rappresentano una struttura analoga in forma schematica, con valori opportunamente scaglionati di dimensione dei granuli. Tali serie di reticoli debbono essere rapidamente esplorabili: uno dopo l'altro si osservano i reticoli confrontandoli con l'oggetto e si sceglie quello che somiglia di più. Ogni reticolo corrisponde ad una dimensione media dei granuli. Occorrerà naturalmente una calibrazione in relazione all'ingrandimento dell'obbiettivo o dei sistemi o tubi intermedi. Per una facile sostituzione dei reticoli, sono stati costruiti degli oculari contenenti un disco girevole (a "revolver") che porta parecchi reticoli. L'asse di rotazione del disco è parallelo all'asse dell'oculare ma eccentrico; ruotando il disco, i reticoli vanno in posizione di lavoro uno alla volta.

Queste indagini sulle dimensioni dei granuli vanno sotto il nome di **indagini granulometriche**.

In altri casi, oltre ai modelli granulometrici, questi **oculari a revolver** portano dei reticoli con disegni di altro tipo, per es. profili di filetti di vite; con questi reticoli, si confronta la silhouette di un oggetto con un profilo campione.

Quando occorre delimitare una superficie particolare nel piano immagine, si usano oculari contenenti un diaframma, generalmente quadrato, di lato regolabile. La regolazione si fa con un anello esterno; con opportuna calibrazione, a mezzo di un micrometro oggetto, si può sapere a quanto corrisponde nel piano oggetto il lato del quadrato, per ogni posizione dell'anello. È così possibile eseguire anche misure di dimensioni dell'oggetto. Questo è l'**oculare di Ehrlich**[123].

Per misure lineari di maggior precisione si usa l'**oculare a tamburo** che contiene una normale graduazione fissa; su questa, si vede sovrapposta una riga che è mobile a mezzo di una manopola laterale. Concentrico alla manopola vi è un tamburo graduato (donde il nome) che consente di leggere con precisione la posizione della riga mobile ; portando la riga a toccare i due lati di un oggetto osservato nell'oculare, si può misurare la larghezza dell'oggetto. L'oculare a tamburo va bloccato sul tubo porta-oculari (con una vite laterale o

---

[122] Dal greco "stereon" = solido, cioè a tre dimensioni. È la stessa etimologia di "stereo-scopico", "stereo-fonico", ecc.

[123] Paul EHRLICH (1854 - 1915), patologo ed istologo tedesco, che introdusse l'uso dei coloranti d'anilina, Nobel per la medicina, accademico dei Lincei, allievo di R. Koch.

altro) poiché il gioco fra oculare e tubo introdurrebbe un errore. Simile è l'**oculare a spirale** in cui la riga mobile è comandata da un anello concentrico all'oculare; questo porta un anello di vetro con una spirale incisa; la spirale si legge direttamente guardando nell'oculare e dà la posizione della riga, come il tamburo.

L'**oculare indicatore** non è un vero oculare di misura: esso contiene semplicemente una punta mobile nel piano dell'immagine intermedia: la punta si può spostare per indicare un punto qualunque dell'immagine. La punta in genere appare nera ma, per osservazioni su fondo scuro, certi modelli mostrano la punta luminosa, magari a forma di freccetta; in questi casi però, più che di oculare, si tratta di veri e propri tubi intermedi.

L'utilità di questo congegno sta nella possibilità che un osservatore indichi con certezza ad un altro (un allievo, ad es.) un punto particolare dell'oggetto. L'uso è dunque didattico.

Un oculare di misura è invece l'**oculare spettroscopico** (**spettroscopio pupillare**) che fornisce lo spettro della radiazione che compone l'immagine finale. Esso permette l'analisi spettrale (grossolana, a dire il vero) ma non produce un'immagine dell'oggetto. Pertanto non è un vero oculare.

Allo stesso modo si può eseguire una misura di brillanza dell'oggetto, su tutto il campo visuale o su una piccola porzione di esso, a mezzo di un **oculare fotometrico**. Per avere una buona sensibilità o risoluzione, tale oculare diventa però assai complesso e voluminoso, e si parla di "**microfotometro**".

Per il disegno dell'immagine microscopica esistono vari tipi di congegni, trattati nei §§ 27.7.1 e 27.7.2 ed in fig. 110. I più semplici si possono chiamare "**oculari da disegno**" in quanto assomigliano molto ad un oculare e si basano sul principio della "camera lucida" di Abbe.

Qui ci fermiamo poiché nella lunga storia della microscopia infiniti sono i problemi particolari che si sono presentati ai micrografi ed altrettanto varie le soluzioni proposte dai vari costruttori.

20.9 - LA NOTAZIONE DEGLI OCULARI

Presso i costruttori prima del 1950 era abbastanza comune contrassegnare gli oculari con cifre o sigle arbitrarie, dalle quali si potevano ricavare le prestazioni dell'oculare solo a mezzo di apposita tabella.

Attualmente, vi sono, accanto a sigle che sono diverse da un costruttore all'altro, anche indicazioni di uso universale.

Le sigle non standard riguardano la categoria degli oculari. Una H o nessuna sigla può indicare un oculare Huygens (§ 20.4.2). Modernamente, le indicazioni H o HE (high eyepoint) indicano invece oculari a pupilla alta (vedi sotto). Un compensatore sarà contrassegnato da una C o una K o da "Compens" o da nessuna sigla. Una W o GC o GW o WF o GF o UW possono indicare un grandangolare (§ 20.1). Gli "**oculari fotografici**" o "**complanetici**" (§ 19.2.3.2) sono oculari con un residuo di astigmatismo che servono a spianare l'immagine o almeno una delle "nappe" (§§ 13.2.5 e 20.4.3) di un obbiettivo non planare; ovviamente, essi non vanno usati con gli obbiettivi planari e pertanto occorre fare bene attenzione alla loro notazione, non sempre chiara.

La sigla P o Pol può indicare oculari particolarmente corretti riguardo la curvatura di

campo oppure da usare in radiazione polarizzata. "A" può indicare oculari acromatici. "Br"[124] o il simbolo di un occhiale (👓) indicano un oculare a pupilla alta, adatto a portatori d'occhiali. "O" è spesso usato per oculari ortoscopici (§ 20.4.2), più o meno grandangolari.

Sono invece molto standardizzate le indicazioni dell'ingrandimento visuale V (vedi la (19) nel § 4.3) e di indice di campo **s'** (vedi i §§ 7.1 e 7.2). L'ingrandimento V si indica con un numero, spesso seguito da un segno ×. Può seguire l'indicazione di **s'** espresso in mm, separato da una barra o racchiuso fra parentesi o in un cerchietto: es. 6× / 18 o 16× (12,5). È standard anche la sigla "**Pol**" che indica oculari previsti per l'uso in radiazione polarizzata. Tali oculari sono caratterizzati essenzialmente dalla presenza di un reticolo costituito da due fili incrociati a 90°; il reticolo impone ovviamente che la lente oculare sia regolabile. Alla fine del § 20.3 si è visto che una figura a croce richiede un orientamento obbligato dell'oculare attorno all'asse ottico, e ciò si ottiene con una **chiave** sporgente che impedisce l'uso di questi oculari su tubi normali.

20.10 - OCULARI ED OCCHIALI

Si è detto più volte che il microscopio è progettato in modo che l'immagine finale, quella fornita dall'oculare per l'osservazione diretta, sia virtuale ed a distanza infinita. Sia pure ricordando che il concetto di infinito in ottica si limita a quello di "molto più grande della focale", rimane il fatto che un microscopio correttamente messo a punto andrebbe usato con l'occhio focalizzato all'infinito, cioè rilassato.

Tutto ciò nel caso di occhio normale o **emmetrope**.

Ma ora consideriamo il caso di un osservatore affetto da **ametropia** sferica, cioè da un difetto dei mezzi rifrangenti dell'occhio consistente in un eccesso (**miopia**) o una carenza (**ipermetropia**) della potenza sferica. Normalmente, questi difetti dell'occhio si correggono con lenti da occhiale aventi una potenza sferica che compensi la carenza dell'occhio. Ma, al microscopio, l'occhiale va tenuto?

Se l'ametropia non supera ± 3D circa[125] è pensabile di correggerla semplicemente spostando l'immagine finale, cioè ritoccando la messa a fuoco. Sappiamo che in questo modo si alterano le coniugate dell'obbiettivo, con le note conseguenze sulla parfocalità, ecc. ma normalmente ciò può venire tollerato. Se l'ametropìa è più forte di ± 3 D, allora è consigliabile portare gli occhiali "per lontano", cioè quelli che danno la miglior visione per oggetti a qualche metro di distanza.

Tutti sanno che in maggioranza gli anziani divengono **presbiti**, cioè perdono il potere di accomodazione per cui, passando lo sguardo da lontano a vicino, debbono inforcare gli occhiali o sostituirli. Il presbite "puro", senza altri difetti dell'occhio, vede bene da lontano senza occhiali e così non ha bisogno di occhiali se osserva attraverso un microscopio correttamente focalizzato. Se il presbite ha altri difetti diottrici, dovrà usare al microscopio gli occhiali "per lontano", almeno se si supera la soglia delle tre diottrie sferiche.

Diverso è il discorso per le ametropie "cilindriche": in questi casi il difetto di convergenza dell'occhio non si può ricondurre ad una potenza, cioè ad una lente, sferica ma bensì ad una lente cilindrica. Si parla in questi casi di "**astigmatismo**", non nel senso della

---

[124] dal tedesco "Brillen" = occhiali.

[125] Si ricordi che la **potenza** P di una lente, espressa in **diottrìe** (D), è data dall'inverso della sua focale espressa in metri (vedi nota nel § 2.6.1) : $P = 1/f$ (69)

aberrazione descritta nel § 13.2.5, che è simmetrica rispetto all'asse, ma nel senso che l'immagine di un oggetto puntiforme appare all'occhio allungata in un segmentino, anche al centro del campo visivo. Fino ad 1 diottria, l'astigmatismo può essere ignorato, ma altrimenti occorrono gli occhiali, sempre del tipo "per lontano". Nel microscopio non esistono mezzi per compensare questo difetto.

Nel § 20 si è già visto che l'uso degli occhiali presuppone che la pupilla d'uscita dell'oculare sia alta almeno 15 mm per lasciar posto alla lente dell'occhiale; è un parametro da ben considerare al momento dell'acquisto. I migliori costruttori offrono sia oculari normali sia oculari a pupilla alta, opportunamente contrassegnati (§ 20.9) ma comunque riconoscibili per avere la lente emergente molto grande. Si ricordi anche che gli occhiali alterano la posizione della pupilla, in funzione della loro potenza sferica: la pupilla si abbassa con occhiali convergenti e viceversa.

Nel caso dell'osservazione con entrambi gli occhi, cioè con **tubo bioculare**, valgono le stesse raccomandazioni: in sintesi, portare gli occhiali "per lontano" per ametropie sferiche superiori a ± 3 D ed in casi di astigmatismo superiori a ± 1D. C'è in più una complicazione; i due occhi possono presentare un potere diottrico diverso ("**anisometropìa**"); gli occhiali tengono conto anche di questo ma, per chi non desidera portare o sopportare gli occhiali, si possono compensare anisometropie sferiche di qualche diottria a mezzo della regolazione di uno o entrambi i tubi porta-oculari (vedi il § 24.1.1)[126]. Per l'astigmatismo, come si è detto, non vi è rimedio, tranne l'uso degli appositi occhiali (per lontano).

Un altro problema è legato all'uso di **tubi monoculari**, con un solo oculare. L'occhio che non guarda nell'oculare, come deve stare? L'ideale sarebbe di tenerlo chiuso, ma dopo pochi minuti la fatica può divenire intollerabile. Se lo si tiene aperto, si ha la sovrapposizione dell'immagine microscopica col tavolo di lavoro. Il rimedio per uscire dal dilemma è semplice: prendere un pezzo di cartoncino nero, del tipo per album di fotografie (circa 10 × 15 cm), praticarvi un foro in posizione eccentrica (se si praticano due tagli in croce di circa 30 mm e si sollevano i quattro lembi, il cartoncino rimarrà spontaneamente forzato sul tubo) ed infilarlo sul tubo porta-oculari, dopo aver tolto momentaneamente l'oculare. Il campo visivo dell'occhio che non guarda nel microscopio viene a trovarsi occupato da un fondo nero. Quando si cambia occhio, e ciò deve avvenire in media ogni cinque minuti per non affaticare un occhio solo, occorrerà voltare il cartoncino. Oltre al cartoncino auto-costruito, sono stati fabbricati appositi para-occhi che svolgono analoga funzione, ma i normali distributori non danno molto peso a questi accessori di poco prezzo.

20.11 - LA PULIZIA DELL' OCULARE

Si può riprendere qui molto di quanto si è detto nel § 19.5.1 a proposito della pulizia dell'obbiettivo. Va però aggiunto che la grande (relativamente) focale delle lenti dell'oculare rende assai meno critica la loro centratura e ne consente lo smontaggio ed il rimontaggio senza troppe precauzioni. Si faccia solo attenzione, prima dello smontaggio, ad annotare bene la disposizione delle lenti per non correre il rischio di rimontarle rovesciate od in ordine

---

126 La potenza sferica di compensazione D , espressa in diottrie, corrispondente allo spostamento assiale **s** (in mm) dell'oculare, si ricava in base alla focale f_{OC} (in mm) dell'oculare stesso : $D = 1.000\ s / f_{oc}^2$.
Per es., un oculare 10 × (f_{OC} = 25 mm) corregge un'anisometropia di 1 D per uno spostamento assiale **s** di 0,625 mm.

errato.

Altra differenza rispetto all'obbiettivo è che la lente di campo (negli oculari negativi) e gli eventuali reticoli si trovano nel o presso il piano focale dell'oculare. Ne consegue che la polvere sulle loro superfici appare quasi a fuoco assieme all'immagine microscopica.

Quando si osserva, sovrapposta all'oggetto, una macchia o un filamento scuro che si suppone non siano presenti nel preparato, occorre prima di tutto stabilire dove si trova il corpo estraneo che li provoca. Si ricordi quanto si disse a proposito del sistema illuminante: si tengano presenti tutti i piani coniugati con l'oggetto e le parti vicine a tali piani: il vetrino, il collettore, la lente di campo dell'oculare, l'eventuale reticolo presente nell'oculare; più sfumato appare un corpo estraneo sulla lente oculare.[127]

Ebbene, se il corpo estraneo scompare muovendo trasversalmente il vetrino, è segno che esso si trova nel o sul preparato. Se scompare ponendo un vetro smerigliato (o un pezzo di carta da lucidi) sotto il condensatore, esso si trova sul collettore o su qualche lente o finestra o specchio del sistema illuminante; se ruota svitando un poco l'obbiettivo, esso si trova sull'obbiettivo stesso; se ruota ruotando l'oculare, esso si trova sull'oculare; se la macchia rimane ancora fissa, ruotare il tubo porta-oculari attorno alla coda di rondine: in questo caso, se la macchia rimane fissa mentre l'immagine dell'oggetto ruota, il corpo si trova su uno dei prismi o delle finestre del tubo.

Per pulire bene un **reticolo** dalla polvere, dopo le normali operazioni (carta ottica o telo di cotone inumiditi di alcool o xilolo), occorre osservarlo con un microscopio a basso ingrandimento, possibilmente stereoscopico, illuminandolo con luce radente. I singoli granuli di polvere vanno tolti uno per uno con un ago o una punta pulita di plastica, stando in un ambiente chiuso e privo di correnti d'aria.

È anche ovvio che la **lente oculare** si sporca facilmente, se non altro perché è facilmente esposta alla polvere e le ciglia delle palpebre vi sfregano (e la ungono) facilmente. Essa va dunque pulita di frequente e pertanto è generalmente priva di **trattamento anti-riflettente**, che si graffia facilmente. Per la pulizia, si sono già date indicazioni: carta morbida o un vecchio telo di cotone ben lavato, inumidire appena con xilolo, poi ripassare col telo asciutto dopo aver alitato; togliere i peli residui soffiando con una peretta di gomma.

Inoltre, l'oculare non va mai tolto dalla sua sede, poiché il tubo aperto si riempirebbe di polvere.

Nel pulire un oculare del tipo "Pol" (vedi i §§ 20.9 e 30.7) si faccia molta attenzione: il reticolo a forma di **crocefilo** non sempre è depositato su un supporto di vetro, ma può essere costituito da due fili sottilissimi e delicatissimi. Per sostituire tali fili in caso di rottura, si può rivolgersi a fibre tessili sintetiche opportunamente scelte o a fili di ragno, che vanno ben selezionati perchè facilmente si ricoprono di polvere. Difficilmente si troveranno in commercio fili metallici sufficientemente sottili. Il lavoro di fissaggio dei fili va eseguito con un microscopio stereoscopico.

Negli oculari regolabili o "a tamburo" o dove vi sono parti meccaniche in movimento, vi saranno poi i soliti problemi di pulizia, lubrificazione, sostituzione dei grassi induriti, ecc.

---

[127] Sempre per ridurre le superfici coniugate con l'oggetto e con l'immagine finale, è bene che il diaframma di campo sia piuttosto lontano dal collettore o da altre superfici in vetro, proprio perché eventuali corpi estranei su di questi non risultino a fuoco assieme all'oggetto, Anche i filtri, spesso presenti nel sistema illuminante, dovrebbero essere disposti il più lontano possibile dal diafamma di campo: la miglior posizione per i filtri è sotto il condensatore.

21 - IL CONDENSATORE

Nel sistema illuminante del microscopio il condensatore è un sistema ottico posto nelle immediate vicinanze dell'oggetto e che serve a creare nel piano dell'oggetto stesso un campo illuminato con un'apertura simile a quella dell'obbiettivo.

Nel caso dell'osservazione di superfici di oggetti opachi (metallografia, petrografia, industria del carbone o dei materiali ceramici, ecc.), è chiaro che l'illuminazione, e quindi il condensatore, deve trovarsi dalla stessa parte dell'obbiettivo rispetto alla superficie dell'oggetto. È questa la "**illuminazione episcopica**" o "**incidente**" o "**verticale**" o "**luce riflessa**" o, semplicemente, "**episcopìa**", di cui parleremo nel § 30.1.

Per ora, consideriamo il caso di oggetti sottili e trasparenti per i quali il fascio illuminante ed il condensatore si trovano, rispetto all'oggetto, dalla parte opposta dell'obbiettivo ("**illuminazione diascopica**" o "**per trasparenza**" o "a **luce trasmessa**" o, brevemente, "**diascopìa**"). Restringiamo ancora il campo: nel § 18.10 si è accennato al principio del "**campo oscuro**", una tecnica che illumina l'oggetto con fasci obliqui e lo fa apparire chiaro su fondo scuro. Questo rientra nel gruppo delle "tecniche di contrasto", ed anch'esso è trattato nel § 30.2. Limitiamoci così al caso della diascopia in "**campo chiaro**", che illumina l'oggetto con un fascio il quale, traversato l'oggetto stesso, entra almeno parzialmente nell'obbiettivo e conferisce al fondo dell'immagine una luminosità sempre elevata.

Del resto, i princìpi generali dell'illuminazione che abbiamo discusso già nel § 8.8 sono gli stessi, in diascopia come in episcopia, in campo chiaro come in campo scuro: il condensatore serve a formare, nel piano dell'oggetto del microscopio, un'immagine di una sorgente di radiazione ottica. Questa immagine si forma nel piano-immagine del condensatore; nel suo piano oggetto vi è la citata sorgente. Nello schema di illuminazione sec. Köhler (vedi il § 8.8 e la fig. 32) tale sorgente è costituita dal "diaframma di campo illuminato" (Dc); tale diaframma, ed il piano oggetto in O sono coniugati fra di loro ad opera del condensatore Ko; l'immagine di Dc che si forma in O deve coincidere col campo oggetto dell'obbiettivo. Dunque in O coesistono l'immagine di Dc data dal condensatore e l'oggetto dell'obbiettivo; si veda la fig. 81, in cui il "vetrino" è stato sostituito da un vetro smerigliato sul quale è visibile un dischetto fortemente illuminato che è proprio l'immagine di Dc creata dal condensatore.

Il fascio che forma l'immagine della sorgente (Dc in questo caso) è convergente e dovrebbe avere un'apertura massima simile a quella dell'obbiettivo in uso. La dimensione dell'immagine della sorgente, cioè della porzione illuminata dell'oggetto del microscopio, cioè del "**campo oggetto illuminato**" (qui si parla dell'oggetto dell'obbiettivo del microscopio), deve essere almeno pari al campo oggetto massimo dell'obbiettivo (vedi il § 19.2.4 e la formula (67)).

Vedremo, parlando dell'apertura e del campo del condensatore, che questi valori possono variare entro ampi limiti; in generale si può dire però che **il condensatore è un sistema convergente a focale corta**[128] (ma sempre più grande di quella dell'obbiettivo di pari apertura) e **con campo angolare simile a quello degli obbiettivi** (in genere minore di 10°). La sua funzione è stata descritta nel § 8.3; nei §§ da 8.4 a 8.8 si è visto che la sorgente, che rappresenta l'oggetto del condensatore, può essere costituita da un diffusore (vedi il § 23.2), da un corpo luminoso (fiamma, filamento incandescente, ecc.) o dal piano di un diaframma (il diaframma di campo illuminato Dc nello schema di Köhler) opportunamente illuminato da una lente (collettore).

---

[128] La focale dei più comuni condensatori, come quello di Abbe, varia fra 9 e 13 mm.

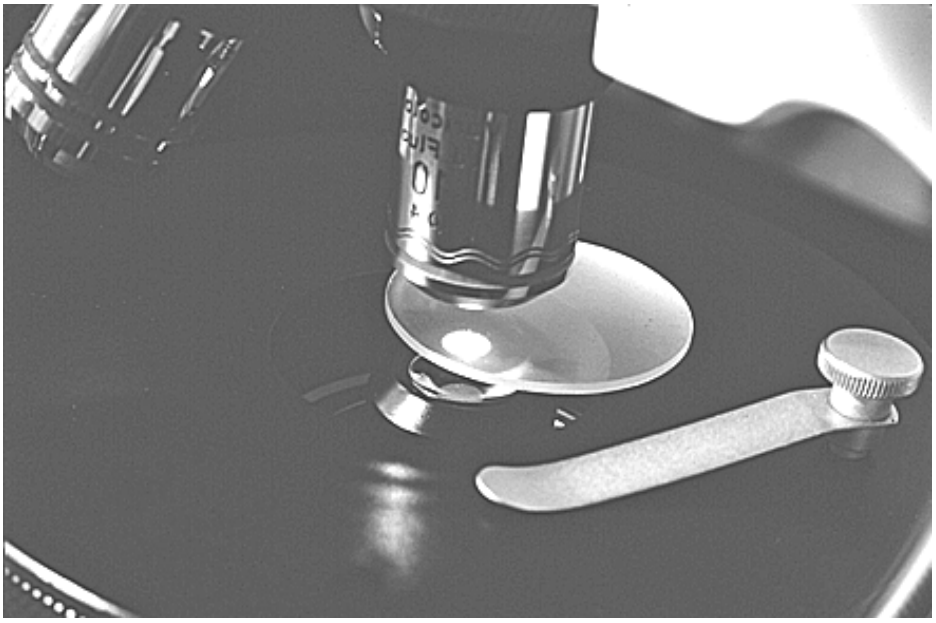


Fig. 81

21.1 - CAMPO DEL CONDENSATORE

Il campo oggetto del condensatore è dunque costituito dalla sorgente (diffusore, lente, corpo luminoso, ecc.) mentre il campo immagine è occupato dall'immagine della sorgente.

Questa si forma secondo lo schema di fig. 11 (§ 2.6.2.2) ed è quindi reale, rovesciata ed impiccolita. Tale immagine (il "**campo illuminato**") deve trovarsi nel piano dell'oggetto e deve essere uguale o poco più grande del campo oggetto dell'obbiettivo. Nel § 8.C si è visto che questa è una delle condizioni per un buon sistema illuminante da microscopio.

Per semplicità, prendiamo in esame il sistema illuminante concepito da Köhler ed illustrato nel § 8.8. La sorgente, l'oggetto del condensatore, è ivi costituita dal piano di un diaframma detto "**di campo illuminato**" che ovviamente non è luminoso di per sé, ma trasmette la radiazione proveniente da un corpo luminoso (filamento incandescente, ecc.) e rifratta dalla lente collettrice. Dunque il diametro del campo oggetto del condensatore è pari al diametro del diaframma di campo (Dc in fig. 32). Il diametro del campo immagine del condensatore, cioè del campo illuminato, sarà allora:

$$C_i = C_o \cdot M_k \qquad (70)$$

in cui C_o è il diametro di Dc ed M_k è l'ingrandimento lineare trasversale del condensatore. M_k si può calcolare con la (13), la (14) o la (15), ma ciò non è facile poiché normalmente non si conosce la focale del condensatore, né i due "tiraggi" **x** ed **x'** (vedi il § 2.6.1) che dipendono dalla posizione dei fuochi. In pratica, è però semplice misurare il diametro del campo illuminato, almeno in via approssimata (vedi la fig. 81, subito sopra): si appoggia sul tavolino, in luogo del vetrino, un filtro smerigliato o un pezzo di carta millimetrata; con qualche

manovra opportuna (in particolare, focheggiando il condensatore) è facile avere sul filtro un dischetto illuminato dagli orli nitidi; è quello il campo illuminato, di cui si può misurare il diametro.

Tale diametro è importante poiché, abbiamo detto, esso dovrebbe sempre essere appena superiore al diametro del campo oggetto dell'obbiettivo (**s** nella (67) nel § 19.2.4). In pratica, guardando nell'oculare con le combinazioni di obbiettivi ed oculari capaci di dare il massimo ed il minimo valore di ingrandimento visuale V_M (vedi la (31) nel § 12.7), avremo rispettivamente il minimo ed il massimo valore del campo oggetto **s**: in ogni caso si deve vedere il campo visuale omogeneamente illuminato in tutta la sua estensione e poco più.

Nel caso concreto, supponendo un oculare debole con indice di campo **s'** = 20 mm ed un obbiettivo debole (M = 2,5:1), si ha un valore di campo oggetto pari a 20/2,5 = 8 mm; all'estremo opposto, con un oculare forte con **s'** = 8 mm ed un obbiettivo forte con M = 100:1, si ha un campo oggetto di 8/100 = 0,08 mm. Il rapporto fra diametro massimo e minimo del campo illuminato e quindi del diaframma di campo Dc dovrebbe allora essere almeno 8/0,08 = 100:1.

Ecco allora il grande problema di tutti i dispositivi illuminanti per microscopio: produrre un campo illuminato variabile da meno di 0,1 mm ad almeno 8 mm di diametro. Vediamo le soluzioni più usate.

21.1.1 - Le soluzioni di ripiego

È possibile porre un limite al richiesto valore superiore del campo evitando gli obbiettivi più deboli; un obbiettivo 10:1 può avere un campo **s** di meno di 1,5 mm con un oculare medio di indice s' = 15 mm.

È anche possibile porre un filtro diffusore sotto il condensatore: l'immagine della sorgente (Ci) verrà allargata ad opera della diffusione; naturalmente si cancella l'immagine definita del diaframma di campo Dc (vedi condizione C al § 8). In pratica, il sistema può dare buoni risultati; la resa fotometrica sarà scarsa, ma a basso ingrandimento tutto è più facile, ed è in queste condizioni che si presenta il problema del campo illuminato insufficiente. A forte ingrandimento, il filtro smerigliato si può sempre togliere.

Si può anche togliere del tutto il condensatore e sostituirlo con un diffusore; per aperture di obbiettivo non superiori a 0,4 , il sistema può funzionare, anche se il rendimento fotometrico è sempre scarso.

Per quanto riguarda il problema opposto, cioè di un campo illuminato troppo grande, esso raramente si presenta con i condensatori usuali, in assenza di diffusori.

21.1.2 - Il diaframma di campo ad iride

Nella gran maggioranza degli strumenti, il diaframma di campo illuminato (Dc in fig. 32) è "**ad iride**", cioè a diametro variabile, come avviene negli obbiettivi fotografici, ove è visibile dall'esterno il gioco delle lamelle arcuate che si incrociano in misura variabile.

Un diaframma ad iride può avere un diametro massimo (nei microscopi) di 40 - 50 mm ed uno minimo di 1 - 2 mm. Il rapporto massimo/minimo non supera perciò 30:1, e si è visto che occorre invece un rapporto di 100:1 almeno. Occorre rivolgersi ANCHE ad altri mezzi,

nel senso che il diaframma di campo ad iride non basta di solito a coprire da solo la variazione richiesta del campo illuminato.

21.1.3 - La lente frontale estraibile

Il sistema ottico del condensatore è spesso formato da un membro inferiore, semplice o composto di grandi dimensioni (20 - 35 mm) e da una lente superiore più piccola o **frontale**, generalmente semplice e semisferica. La massima potenza del condensatore (come nell'obbiettivo) è dovuta alla frontale (vedi la fig. 82 - 1).

Nelle varie parti della fig 82 è indicato con una freccia a due punte il diametro del campo illuminato, cioè dell'immagine del diaframma di campo, il quale è fuori figura, oltre il margine sinistro. Le linee continue rappresentano i limiti del fascio che, dal centro di quel diaframma, convergono nel centro del campo illuminato; a tratteggio largo è indicato il fascio che, da un punto marginale del diaframma, converge in un punto marginale del campo illuminato. Sotto la lente inferiore, la più grande, del condensatore è indicato schematicamente il diaframma d'apertura tutto aperto.

Ebbene, in molti condensatori è possibile allontanare o ribaltare o spostare lateralmente ("scamottare", con un pessimo francesismo) la lente frontale. Essa in questi casi è spesso incastonata o bloccata in un anello a vite, che si svita dall'estremità superiore del condensatore (fig. 83), oppure questo anello si può incastrare più rapidamente, senza vite, con apposite punte molleggiate; altre volte esso è montato su un braccio laterale girevole; la rotazione del braccio avviene a mezzo di una manopola laterale e porta la lente nella e fuori della posizione corretta (fig. 84). Questo tipo di condensatore "**a lente frontale scamottabile**" o estraibile è molto comodo e diffuso, anche se otticamente scadente.

Tutti questi meccanismi per estrarre la lente frontale hanno un vantaggio comune: la potenza del condensatore si abbassa, quindi la sua focale aumenta e la riduzione, il rimpiccolimento, dell'immagine della sorgente è minore; in fine, il campo illuminato è più grande. Ma c'è anche qualche inconveniente in tutti quanti:

◊◊ le aberrazioni, di cui parleremo sotto (§ 21.7), possono essere minimizzate col condensatore completo oppure privato della frontale, ma non in entrambe le condizioni. Il risultato, da questo punto di vista, è sempre scadente;

◊◊ il diaframma d'apertura Da (vedi i §§ 8.3 ed 8.8 e la fig. 32) deve trovarsi, per quanto detto in quei paragrafi, assai vicino al primo piano focale del condensatore. Ciò avviene quando il condensatore è completo, ma non dopo l'estrazione della frontale. Per questo, l'immagine del diaframma Da non si forma più nel piano focale superiore dell'obbiettivo (PU) ed il diaframma stesso non esplica più la funzione di limitare l'apertura del condensatore, ma piuttosto si avvicina ad un diaframma di campo molto sfocato;

◊◊ come si vede nella fig. 82-2, dopo l'estrazione della frontale l'immagine della sorgente o del diaframma di campo Dc si forma più in alto; per riportarla a coincidere con l'oggetto si deve abbassare il condensatore; non sempre ciò è consentito dalla struttura meccanica dello strumento.

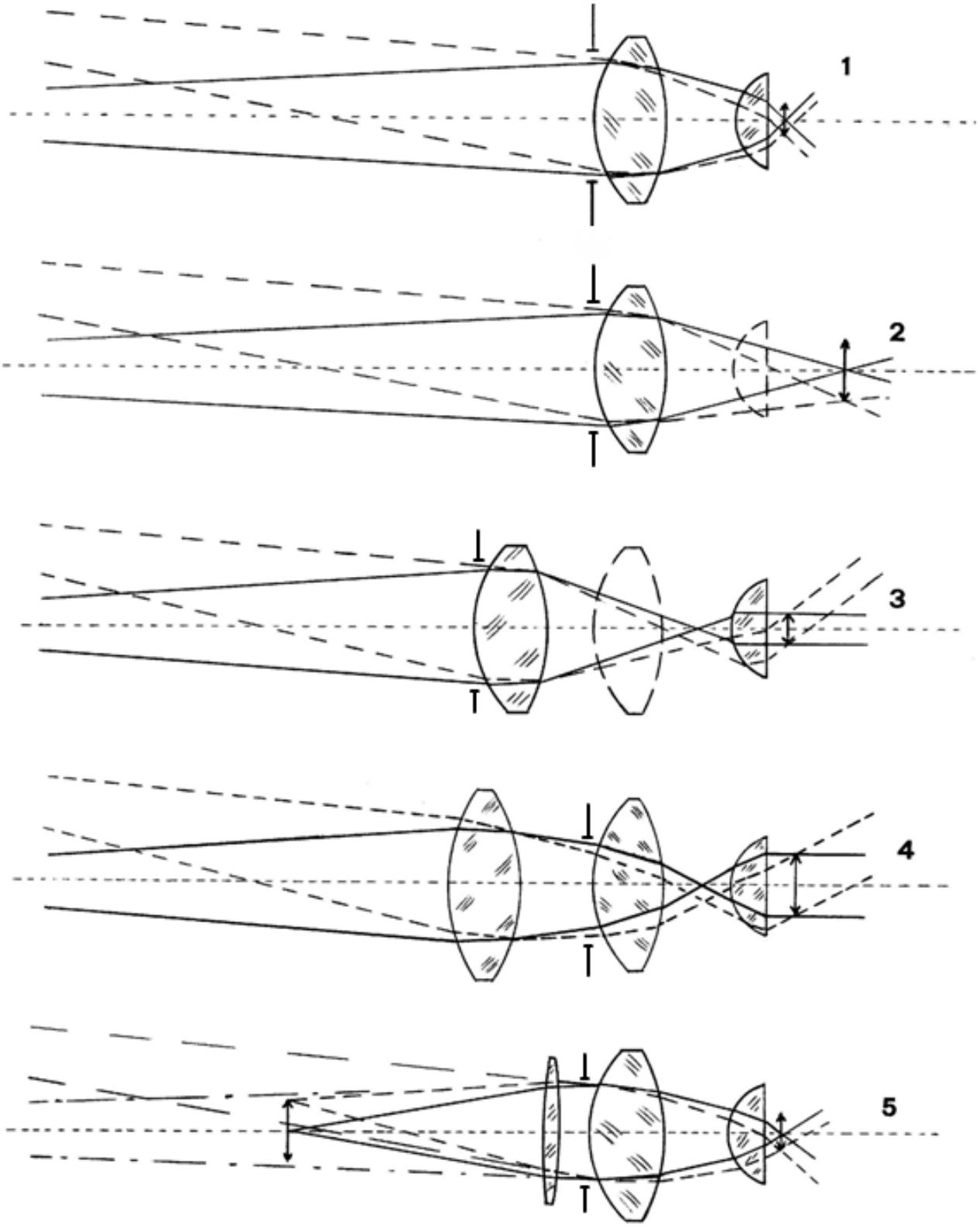


Fig. 82

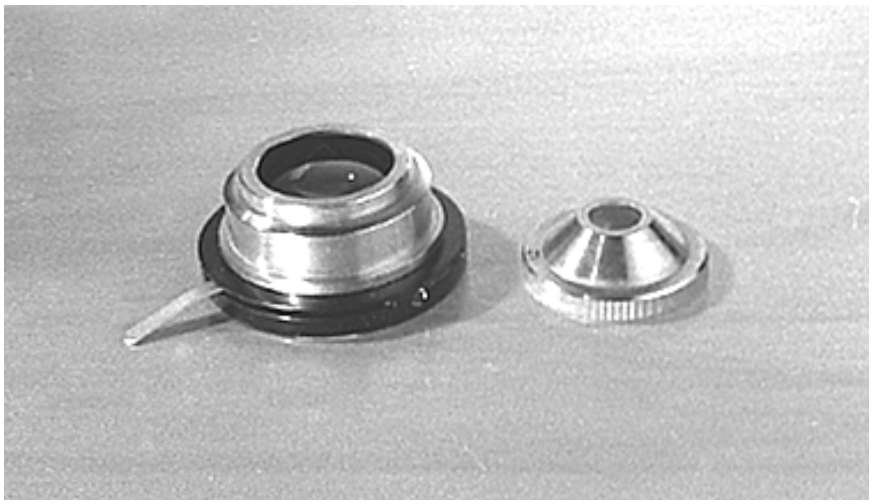


Fig. 83

21.1.4 - L'abbassamento del fuoco immagine

Un'altra soluzione consiste nell'abbassare la lente inferiore del condensatore in modo che il suo fuoco (e nei suoi pressi l'immagine di Dc) si formi SOTTO la frontale.

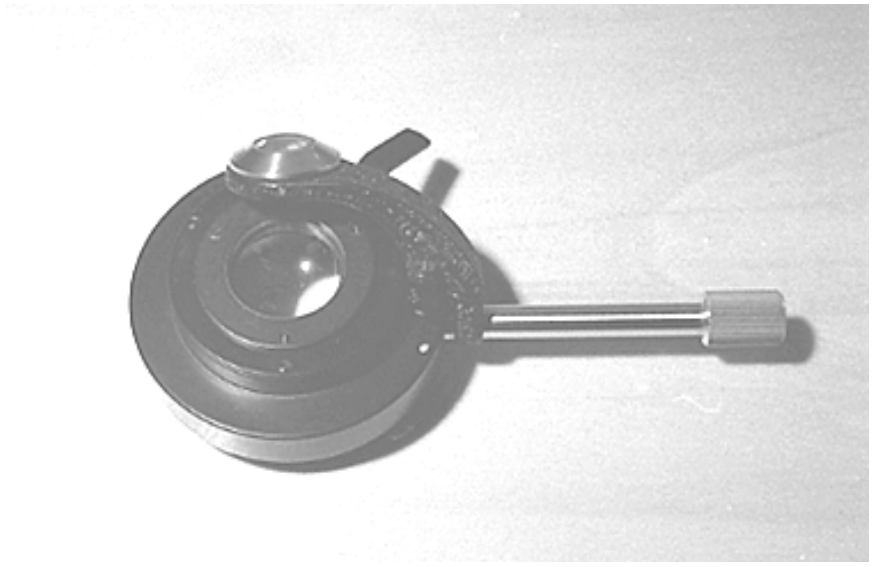


Fig. 84 – Foto originale di prodotto Zeiss Oberkochen

Nello schema normale (fig. 82-1) il fuoco e l'immagine di Dc si formano oltre la frontale; se tale immagine si forma prima, nei pressi del primo fuoco della frontale, come si vede in fig. 82-3 ed 82-4, dalla frontale emerge un fascio ampio ed a forte apertura; nel piano oggetto dell'obbiettivo si può formare più o meno a fuoco un'immagine del diaframma del condensatore Da , che assume le funzioni di diaframma di campo. Non è possibile con questo schema regolare correttamente l'apertura del condensatore; solo in parte lo si può fare in certi casi manovrando Dc.

In pratica, questo principio viene applicato in due modi diversi:

- abbassando la lente inferiore del condensatore (fig. 82-3);
- inserendo sotto di essa una seconda lente di forte potenza (fig. 82-4).

In entrambi i casi, le condizioni di lavoro del condensatore vengono alterate; si tratta ancora di ripieghi.

Un'altra possibilità consiste nel porre, sotto il condensatore, una lente convergente debole detta "**lente a grande campo**". Intuitivamente, tale lente opera come una lente d'ingrandimento dal punto di vista del condensatore e gli mostra un'immagine virtuale ingrandita del diaframma di campo. La posizione dell'immagine finale di Dc si abbassa di poco. Questa soluzione è usata soprattutto quando il diaframma Dc si trova lontano dal condensatore e la sua immagine risulterebbe troppo piccola, ma l'aumento del campo illuminato è modesto. La lente a grande campo può essere estraibile poiché, con gli obbiettivi forti, non si ha interesse ad ingrandire il campo illuminato, bensì a ridurlo; introdurre od estrarre tale lente obbliga comunque a rifocheggiare il condensatore.

All'estremo opposto, una lente a grande campo di media potenza consente di tenere il diaframma Dc molto vicino al condensatore (vedi la fig. 82-5) evitando che la sua immagine si innalzi troppo (Zeiss). In certi casi, è possibile scegliere fra due o tre diverse lenti a grande campo (Wild); il vecchio modello Lgt della Galileo mostrava una serie di lenti sotto al condensatore, sostituibili l'una all'altra, dalla funzione difficilmente comprensibile.

21.1.5 - Condensatori intercambiabili

Tutte le soluzioni proposte finora per ottenere da un condensatore un campo illuminato grande e variabile entro ampi limiti, sono dunque affette da vari inconvenienti. Esse sono largamente impiegate solo per ragioni di praticità e di economia.

Per coprire tutti i valori di campo illuminato, che variano come si è visto nel rapporto di almeno 100 : 1 nei normali corredi ottici, la soluzione ideale è di cambiare condensatore. In genere, con due condensatori di diversa focale e con la manovra del diaframma di campo ad iride si risponde ad ogni esigenza. Alcuni costruttori offrono perciò un condensatore "normale" con apertura massima 1,25 almeno, adatto agli obbiettivi dal 100:1 fino al 10:1 o anche meno, assieme ad un **condensatore** "**a grande campo**" adatto per tutti gli obbiettivi deboli previsti su quel dato strumento.

In altri casi, il porta-condensatore prevede un "**cambiatore di condensatori**" sotto forma di braccio imperniato o di revolver. Un revolver a tre condensatori può portare il condensatore normale, quello a grande campo ed uno per campo scuro (Jena). Sarà ovviamente augurabile che i due o tre condensatori montati sul cambiatore siano **parfocali**, nel senso che, passando dall'uno all'altro, non sia necessario ripetere la loro focalizzazione. In certi casi di microscopi proiettori (Jena), dove la resa fotometrica è importante, si può trovare un revolver sotto al tavolino con un condensatore per ogni obbiettivo (per es. 4). In questo modo si può avere il miglior adattamento fra condensatore ed obbiettivo quanto a focale, apertura, ecc.

Un buon condensatore a grande campo deve possedere un diaframma d'apertura e deve consentire di mettere a fuoco l'immagine del diaframma di campo con un vetrino di spessore normale. Ovviamente, la sua apertura ed il campo illuminato che esso produce debbono essere adeguati agli obbiettivi più deboli che sono previsti dal costruttore.

21.1.6 - Tipi speciali

In luogo del cambiatore di condensatori, certi costruttori hanno realizzato dei condensatori "**pancratici**" o "**zoom**", cioè a focale variabile.

Con essi è spesso possibile variare in maniera sufficiente, con un solo condensatore, la focale di esso, quindi il suo ingrandimento, quindi le dimensioni del campo illuminato. In linea di principio, la variazione di focale permette di variare entro ampi limiti anche le dimensioni dell'immagine del diaframma d'apertura, immagine che si ritrova nella pupilla d'uscita dell'obbiettivo (PU, vedi il § 8.8). In tal modo, se nel piano focale inferiore del condensatore vi è un diaframma anulare, è possibile variare con continuità l'apertura del fascio conico cavo da esso prodotto e così passare con continuità dal campo chiaro al contrasto di fase (assieme agli appositi obbiettivi) ed al fondo scuro a secco. È questo il "condensatore di Heine" (Leitz).

È stato anche studiato un condensatore con focale così corta da ammettere una posizione assai ravvicinata della sorgente, cioè del diaframma di campo. In questo modo quel diaframma si può trovare inserito nella parte inferiore del condensatore, poco sotto il diaframma d'apertura. È questo il "**condensatore a due diaframmi**" o "**di Berek**"[129]. Togliendo la sua lente frontale, il suo campo illuminato si allarga, il diaframma d'apertura va tenuto aperto e quello di campo assume la funzione di diaframma d'apertura.

21.1.7 - La distanza della sorgente

In molti strumenti, il sistema illuminante è incorporato nel piede dello stativo per cui la geometria del sistema è rigida e la distanza fra sorgente (diaframma di campo nel caso degli illuminatori sec. Köhler) e condensatore è fissa.

Quando invece la sorgente (o la microlampada, vedi il § 22) è esterna e la sua distanza dal condensatore è variabile, occorre pensare alle conseguenze di questa variazione. Aumentare la distanza fra il diaframma di campo Dc ed il condensatore porta ad un aumento della coniugata oggetto del condensatore, quindi ad una riduzione del suo ingrandimento (vedi la (13) nel § 2.6.2); in fine, il campo illuminato diminuisce. Inoltre diminuisce la coniugata immagine del condensatore, cioè l'immagine di Dc si abbassa e può riuscire impossibile focalizzarla. Si ha anche un piccolo aumento di apertura del condensatore (lato immagine).

La manovra inversa, di avvicinamento del diaframma Dc, porta a risultati opposti, e quindi è utile per allargare il campo illuminato, ma si trova rapidamente un limite nell'ingombro delle varie parti meccaniche.

Vedremo oltre (nei §§ 22 e 27.2.1) i dettagli sulle microlampade incorporate o indipendenti dallo stativo. Facciamo però notare che, dal punto di vista del campo illuminato, quello che conta è la dimensione della sorgente e l'ingrandimento del condensatore (quest'ultimo dipendente dalla sua focale e dalla distanza della sorgente). Supposta fissa, com'è in genere, la distanza della sorgente, e supposto di disporre di un unico condensatore, con una focale definita, il campo illuminato si può variare solo azionando il diaframma di

[129] Max BEREK, mineralista tedesco, collaboratore degli stabilimenti Leitz (1886 - 1949); il suo condensatore fu introdotto dalla Leitz nel 1913.

campo ad iride; poiché il diametro di tale diaframma varia in genere in rapporto non superiore a 30 (§ 21.1.2) ed occorre invece un campo variabile entro un rapporto di almeno 100 (§ 21.1), non resta che variare la focale del condensatore con uno dei mezzi descritti sopra o cambiare condensatore.

Ma tutto ciò presuppone che la "sorgente" sia costituita da una superficie uniformemente illuminata. Nel caso che si tratti di un diffusore (vedi i §§ 8.4 ed 8.5) ciò è facilmente realizzabile, e si avranno in genere grandi campi illuminati, col solo inconveniente che, spesso, essi non si possono limitare e la resa fotometrica è bassa.

Nel caso dell' **illuminazione sec. Köhler** (§ 8.8), la superficie illuminata è quella del diaframma di campo Dc. Ad illuminarla provvedono un corpo luminoso Q ed una lente collettrice Cl (vedi la fig. 32 nel § 8.8 ed il § 22). A limitarla provvede la manovra del diaframma Dc.

Nel caso dell'**illuminazione critica** invece (vedi i §§ 8.6 ed 8.7), la sorgente è data proprio dal corpo luminoso (fiamma, filamento incandescente, arco elettrico, ecc.) sulle cui dimensioni non si può in genere intervenire e nel cui piano non si può mettere un diaframma di campo. Le dimensioni del campo illuminato possono crescere solo e limitatamente avvicinando la sorgente. Proprio le piccole dimensioni del campo e l'impossibilità di variarle hanno limitato le applicazioni dell'illuminazione critica, nonostante il suo elevato rendimento fotometrico. Il vantaggio degli altri metodi di illuminazione (con diffusore o sec. Köhler) è proprio in questo: si può avere una "sorgente" (e quindi un campo illuminato) grande anche se il corpo luminoso è assai più piccolo e non uniforme (filamenti elettrici, tanto per intenderci).

21.2 - RESA FOTOMETRICA del CONDENSATORE

Nel caso dell'illuminazione critica, il campo illuminato non è che l'immagine del corpo luminoso; se si trascurano le perdite per riflessione o per assorbimento nelle lenti del condensatore o in eventuali specchi interposti, il flusso proveniente direttamente dal corpo luminoso e raccolto dal condensatore è lo stesso che si ritrova nel piano dell'oggetto. Il rapporto fra gli illuminamenti (nel corpo luminoso e nella sua immagine, espressi in lux o in phot, cioè in lumen per m^2 o per cm^2), invece dipende dal rapporto delle superfici e quindi dall'ingrandimento del condensatore.

Quando vi è un diffusore, il fascio diffuso è sempre più ampio del necessario e buona parte della radiazione va perduta; anche l'assorbimento può essere sensibile.

Vediamo ora il rendimento del sistema di Köhler, nei due casi estremi.

◊◊ Piccolo ingrandimento, grande campo oggetto dell'obbiettivo; supponendo di possedere un condensatore di focale adeguata, capace di dare un campo illuminato sufficiente, l'apertura dell'obbiettivo sarà sempre modesta e così si dovrà in genere limitare l'apertura del condensatore con la manovra del diaframma d'apertura (vedi il § 8.8 al punto 8). Dunque si utilizzerà solo la parte centrale dell'immagine del corpo luminoso Q che il collettore proietta sul diaframma d'apertura Da (vedi la fig. 32). La radiazione corrispondente alla zona periferica dell'immagine di Q o viene assorbita dalle lamelle del diaframma **Da** o (se questo è aperto) emerge dal condensatore con apertura eccessiva e non entra nell'obbiettivo. Va perduta. Il rendimento fotometrico è basso ma, essendo basso l'ingrandimento totale del microscopio, l'immagine finale sarà in genere sufficientemente luminosa.

◊◊ Peggio vanno le cose quando l'ingrandimento dell'obbiettivo è forte: il campo

oggetto è piccolo, quindi occorre chiudere il diaframma di campo Dc (se lo si tiene aperto, la zona periferica del campo illuminato non viene accolta dall'obbiettivo). Dunque, buona parte della radiazione che illumina Dc va perduta. Al fine di poter aprire maggiormente il diaframma di campo, si può disinserire l'eventuale lente a grande campo oppure usare un condensatore a focale minore; in questo modo però aumenta l'apertura del condensatore, che potrebbe andare parzialmente perduta e si ricadrebbe nel caso precedente. Già a livello del piano oggetto si ha quindi una forte perdita.

Nonostante i suoi vantaggi, lo schema di Köhler non è quindi il migliore dal punto di vista fotometrico.

Se poi si ricorda la (61) nel § 19.2.1, si vede che la luminosità E nell'immagine finale è inversamente proporzionale al quadrato dell'ingrandimento complessivo del microscopio. Basta un po' di pratica per accorgersi che, ai forti ingrandimenti, è facile avere un'immagine troppo poco brillante.

21.3 - DISTANZA FRONTALE del CONDENSATORE

Sotto certi aspetti, un normale condensatore diascopico ha una struttura simile a quella di un obbiettivo forte: anche dallo schema di un condensatore semplice, come quello di fig. 82-1 si vede la presenza di una lente frontale semisferica, seguita da uno o più elementi di maggior diametro e minore potenza.

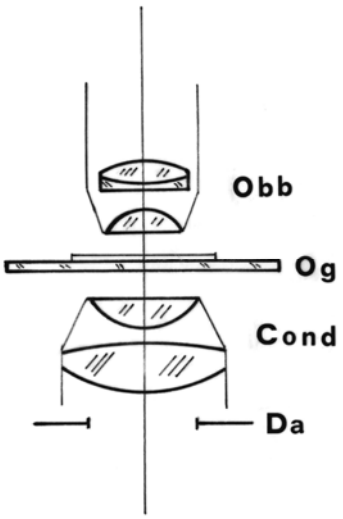


Fig. 85

Tale sistema ottico del condensatore si trova, rispetto all'oggetto, in posizione specularmente simmetrica in confronto all'obbiettivo: le lenti frontali dei due sistemi si affacciano l'una verso l'altra, ed in mezzo ad esse vi è il "vetrino" (fig. 85). Poiché il porta-oggetti è più spesso del copri-oggetti, la distanza frontale, e quindi la focale e le dimensioni del condensatore sono maggiori di quelle dell'obbiettivo.

Più in dettaglio, come per l'obbiettivo (vedi il § 19.1.3), si può definire una "**distanza frontale**" ed una "**distanza di lavoro**" anche per il condensatore. In luogo della lamella copri-oggetto, si considera il porta-oggetto e la distanza di lavoro è la distanza esistente fra

superficie superiore della lente frontale (o della sua montatura meccanica) e superficie inferiore del porta-oggetto, supposto che il condensatore sia a fuoco e la microlampada sia a distanza nominale. Se l'oggetto è montato aderente ad un normale vetrino porta-oggetto (spessore normalizzato: 0,9-1,1 mm), il costruttore predispone le cose in modo che, quando il condensatore è a fuoco, cioè l'immagine della sorgente è nel piano dell'oggetto, la distanza di lavoro del condensatore non scenda mai a zero. Infatti se, per focalizzare il condensatore, esso va a toccare da sotto il vetrino, lo solleva e fa perdere la messa a fuoco, oppure addirittura lo schiaccia contro l'obbiettivo. In altre parole, nella coniugata immagine del condensatore deve esservi sempre lo spazio per un vetrino di spessore normale più un piccolo spazio vuoto. Quando poi si vuol prevedere l'uso di vetrini speciali di maggior spessore, come i vari tipi di "**camere di conteggio**" per campioni di sangue o sospensioni di particelle, occorrerà disporre di una distanza di lavoro maggiore, e molti condensatori usuali consentono di lavorare con vetrini fino a 2-3 mm di spessore, oppure sono disponibili lenti frontali intercambiabili con distanza di lavoro maggiorata (Leitz, ecc.).

In altri casi, la distanza di lavoro del condensatore deve essere assai maggiore: quando si osservano culture o sospensioni di cellule o microrganismi o particelle contenute in vaschette, micro-acquari, scatole di Petri[130], ecc. si può dover osservare un oggetto che dista di 10 - 20 mm dal fondo del contenitore. Esistono allo scopo dei "**condensatori a lunga focale**" o, ciò che più interessa, a lunga distanza di lavoro, anche più di 30 mm. Come si è detto riguardo agli obbiettivi "**long distance**" (§ 19.3.4), alla maggior distanza di lavoro corrisponde, a parità di focale e di apertura, un maggior diametro delle lenti, specie della frontale, il che rende ben riconoscibili questi condensatori. Dato però che il diametro delle lenti trova rapidamente un limite nella struttura meccanica dello strumento, i condensatori "**long distance**" o LD hanno spesso un'apertura ridotta e non è conveniente usarli con obbiettivi molto forti.

Nel § 3.2 si è citato il fenomeno dell' "avanzamento" subìto da un'immagine quando il fascio che converge in essa attraversa una lamina trasparente a facce piane e parallele e si è visto dalla (16) che tale spostamento d'immagine, per i vetri ottici più comuni (n_D = 1,5 circa), corrisponde circa ad 1/3 dello spessore **d** della lamina. Ebbene, pensando al fascio che converge nell'immagine della sorgente data dal condensatore, il porta-oggetto è appunto una lamina che vi si interpone e che fa avanzare l'immagine stessa: togliendo il porta-oggetti, l'immagine si abbassa (fino anche a non essere più focalizzabile). Di questo si tien conto nel progetto del condensatore e questo spiega perché nel focalizzare il condensatore o regolare il diaframma di campo è normalmente necessaria la presenza di un vetrino sotto l'obbiettivo, almeno per i forti ingrandimenti: senza vetrino, certe distanze sono alterate.

21.4 - FOCALIZZAZIONE del CONDENSATORE

Nei sistemi illuminanti in cui la sorgente è un diffusore (vedi il § 8.5) è bene che l'immagine di questo, creata dal condensatore, non si trovi nel piano dell'oggetto.

Infatti il diffusore più usato e più pratico è il vetro smerigliato ed esso non è omogeneo; la sua superficie (di solito una delle due) presenta una "grana", cioè delle minute irregolarità,

[130] Julius Richard PETRI , batteriologo tedesco (1852 - 1921). Le "scatole di Petri" sono scatole piatte e rotonde in vetro, con coperchio, del diametro di vari cm ed alte circa 1 cm; esse sono molto usate per le culture batteriche su gelatina.

e sono proprio quelle che producono la diffusione. Ma tali irregolarità creano anche delle piccole differenze di brillanza che danno al filtro un aspetto granuloso. Se l'immagine del filtro cadesse a fuoco sull'oggetto, osservando nell'oculare si vedrebbe l'oggetto sovrapposto a quella granulosità (naturalmente ingrandita). Per questo motivo, un costruttore serio fa in modo che il diffusore non risulti mai a fuoco nel piano oggetto o nei suoi coniugati.

Quando invece si usa il sistema illuminante di Köhler (vedi il § 8.8), il piano del diaframma di campo Dc può (a determinate condizioni) essere illuminato uniformemente; allora conviene che l'immagine di Dc cada a fuoco assieme all'oggetto in modo che il campo illuminato risulti ben delimitato dall'orlo di Dc. Per ottenere questa messa a fuoco di Dc devono essere adeguati certi parametri che influiscono sulla posizione dell'immagine di quel diaframma:

◊◊ lunghezza focale del condensatore; a ciò deve provvedere il costruttore o la scelta da parte dell'utilizzatore;

◊◊ distanza fra Dc e condensatore (coniugata oggetto del condensatore); a ciò può provvedere l'utilizzatore solo nel caso poco frequente che l'illuminatore col Dc sia esterno allo strumento;

◊◊ presenza o assenza di opportune lenti a grande campo o di lenti frontali ribaltabili, che andranno usate oculatamente;

◊◊ spessore opportuno del vetrino portaoggetto, cioè valore non nullo della "distanza libera di lavoro" del condensatore.

Però, anche se tutti questi fattori hanno il valore corretto, rimane per lo meno il fatto che lo spessore del porta-oggetti, anche dei tipi normali, è affetto da una tolleranza di qualche decimo di mm. Dunque, affinché l'immagine del diaframma Dc coincida sempre col piano dell'oggetto, che si suppone aderente alla superficie superiore del porta-oggetti, occorre che il condensatore possa salire o scendere di qualche decimo di mm. In altre parole, quando si sostituisce il preparato, è facile dover ritoccare il "fuoco" del condensatore, anche senza modifiche di altro tipo. Se poi si vuole tener conto delle variazioni di focale conseguenti per es. all'estrazione della lente frontale, occorre che la corsa del condensatore ammonti almeno a 2 - 3 cm. Ecco che il condensatore deve essere munito di un dispositivo di **focalizzazione**, deve potersi muovere assialmente, con una corsa longitudinale parallela all'asse ottico.

I mezzi tecnici per ottenere questo spostamento sono vari: il più diffuso è dato da una guida "a coda di rondine" (a sezione trasversale di forma trapezoidale) mossa da una **cremagliera**, di solito fissata alla parte scorrevole della guida. La cremagliera scorrevole è spinta da un "**pignone**" o ruota dentata, che è fissato alla parte immobile dello stativo, ed è azionato da una o due manopole. In genere, i denti della cremagliera e del pignone sono inclinati, e lo stesso si riscontra nei movimenti di "messa a fuoco macrometrica" dell'obbiettivo o di traslazione del tavolino (§§ 26.2, 26.4 e 27.2.2). La ragione di quell'inclinazione sta nel miglioramento dell'uniformità dei movimenti: se i denti del pignone fossero paralleli all'asse del medesimo, essi "entrerebbero in presa", cioè toccherebbero i denti della cremagliera, uno alla volta; nello stacco da un dente all'altro vi potrebbe essere un piccolo salto nel movimento. I denti inclinati invece entrano in presa due alla volta e quando un dente lascia la presa, è già ingranato quello successivo.

La corsa del condensatore deve possedere dei "**fine corsa**", cioè degli arresti positivi che ne limitino l'ampiezza sia verso il basso (per non urtare con gli organi sottostanti o col piede dello stativo), sia verso l'alto (per non urtare col vetrino e poi schiacciarlo contro l'obbiettivo). Nei condensatori forti, la distanza di lavoro si riduce spesso a pochi decimi di mm, quindi il fine corsa superiore deve essere assai preciso, ed i migliori strumenti possiedono una regolazione fine (una vite, una piccola camma) per tale fine corsa. Il fine corsa superiore si potrà allungare quando lo spessore del vetrino è maggiore, ma sempre evitando che il condensatore urti col vetrino stesso. La sporgenza più elevata del condensatore

non deve mai oltrepassare il piano del tavolino, quello su cui poggia il vetrino.

Ulteriori dettagli sui meccanismi di fine corsa si trovano nel § 26.5.5.

Il movimento di focalizzazione del condensatore deve possedere poi un certo grado di attrito o di "**frizione**" per evitare che il peso possa trascinare di per sé il condensatore verso il basso; d'altra parte, la frizione non deve essere eccessiva per non richiedere uno sforzo inutile. La frizione in genere è regolabile, per es. ruotando in senso inverso le due manopole di comando della cremagliera. Altri dettagli sulle frizioni nel § 26.5.4.

L'importanza della focalizzazione del condensatore è sempre sottovalutata: senza troppe parole, si può chiarire il problema guardando la fig. 86: il condensatore si trova all'altezza corretta a sinistra della figura; sia i raggi marginali, di massima apertura (linee intere), sia i raggi parassiali (a tratteggio largo) sono utilizzati dall'obbiettivo. Se il condensatore viene abbassato (a destra), si vede che i raggi marginali non vengono accolti dall'obbiettivo; i raggi di apertura intermedia (a tratteggio fitto) penetrano nell'obbiettivo, ma con inclinazione insufficiente e, dopo aver traversato l'obbiettivo, vanno a disperdersi sulle pareti interne del tubo. Solo i raggi parassiali contribuiscono a formare l'immagine. Tutto si svolge come se fosse stato chiuso il diaframma d'apertura (Da), in quanto il fascio utilizzato dall'obbiettivo ha un'apertura minima. Per convincersi di ciò è sufficiente togliere l'oculare ed osservare la pupilla d'obbiettivo (magari con una debole lente d'ingrandimento o una lente di Amici (vedi il § 19.5.5)): se il condensatore è correttamente focalizzato (fig. 86 a sinistra), la pupilla dell'obbiettivo apparirà interamente illuminata; se si abbassa il condensatore, solo i raggi parassiali vengono utilizzati e la porzione illuminata della pupilla si restringe fino a ridursi ad una macchiolina centrata. L'esperimento riesce meglio con un obbiettivo medio-forte (per es. un 40:1) ed un buon condensatore di apertura numerica non inferiore a 0,7.

Un condensatore abbassato porta quindi ad una perdita della sua apertura utile e ciò, come si è già detto (vedi il § 18.9) significa una perdita di risoluzione e di luminosità. È frequente il vezzo di ridurre la luminosità dell'immagine o aumentare il contrasto abbassando il condensatore o chiudendone il diaframma: con ciò si ottiene sempre una perdita di apertura e quindi di risoluzione. La manovra della focalizzazione o del diaframma del condensatore può determinare da sola la possibilità che una data struttura dell'oggetto venga risolta o meno.

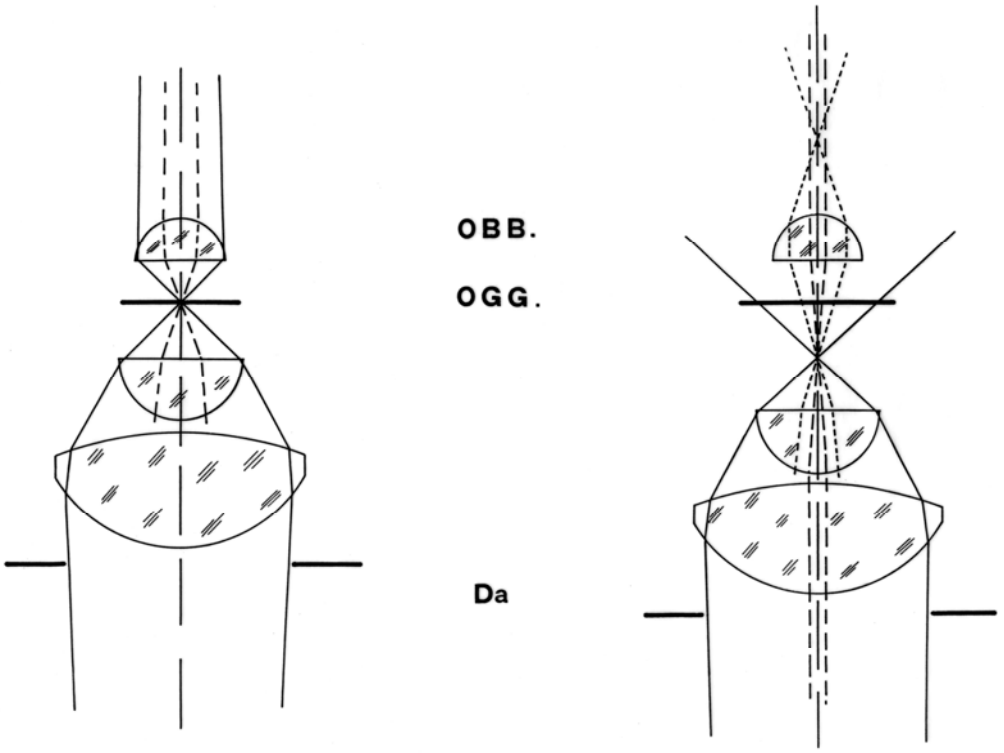


Fig. 86

21.5 - APERTURA del CONDENSATORE

Si è già fatto notare (fig. 85) come il condensatore, rispetto al piano dell'oggetto, assomigli all'immagine speculare dell'obbiettivo, e molto di ciò che si è detto riguardo l'apertura dell'obbiettivo si può ripetere per il condensatore.

Si è anche visto quali siano gli effetti sull'immagine finale di una variazione dell'apertura del condensatore. Nella (53)(§ 18.10) si è visto come in molti calcoli approssimati, per es. di risoluzione, si può introdurre come valore di apertura non tanto quello dell'obbiettivo quanto la media aritmetica fra l'apertura dell'obbiettivo e quella del condensatore.

Rimane poi valido quanto detto nel § 5.2.5: se fra condensatore e vetrino vi è aria (avremo così i **condensatori** "**a secco**"), l'apertura numerica NA = n sen α (vedi la (21)) non può superare il valore teorico di 1 e quello pratico di 0,95; se fra lente frontale del condensatore e vetrino si pone una goccia d'olio da immersione (n = 1,515), la NA può raggiungere il valore di 1,51 in teoria ed 1,45 in pratica. Si ha così un **condensatore ad immersione**. L'immersione del condensatore con un obbiettivo a secco ha poco senso (come si è detto nel § 8.9, punto 8, l'apertura del condensatore va regolata in molti casi sui 2/3 di quella dell'obbiettivo), ma permette di "riempire" completamente l'apertura di un obbiettivo ad immersione. In questo caso si deve porre l'olio dai due lati del vetrino, verso l'obbiettivo e verso il condensatore, e si parla di "**doppia immersione**". Da quanto detto a suo tempo, risulta chiaro che la presenza di olio o di aria fra obbiettivo ed oggetto influisce sulle prestazioni e quindi sul calcolo dell'obbiettivo, e perciò non si può usare un obbiettivo a secco

con olio o un obbiettivo ad immersione senza olio. Per un condensatore le cose non sono così drastiche; le correzioni sono certamente migliori usando l'olio con i condensatori ad immersione e solo con quelli, ma la maggioranza dei condensatori del commercio, che non pretende un optimum di correzioni, si può usare a secco con NA non superiore a 0,95, mentre con l'olio mostra una NA di 1,25 o 1,30. Anzi, tali condensatori portano in genere la scritta "1,25" o "1,30" o simili, sottintendendo che quel valore di apertura si può raggiungere solo con l'immersione, ma il condensatore va bene anche a secco.

In pratica, l'apertura massima di un condensatore può essere 1,4 per quelli ad immersione ben corretti; 1,20 per quelli più semplici; 0,95 per quelli a secco ben corretti; 0,80 per quelli a secco a due lenti; 0,6 per quelli ad una lente; 0,20 o anche meno per quelli a grande campo; 0,50 o meno per quelli a grande distanza di lavoro (LD). Tale apertura massima deve essere simile a quella dell'obbiettivo più forte che si intende usare. Sarebbe sciocco tentare di usare un obbiettivo ad immersione con un condensatore ad es. del tipo LD con NA = 0,5 o viceversa usare un obbiettivo debole, con NA < 0,25, con un condensatore forte.

Comunque, tutti i condensatori sono dotati di un "**diaframma d'apertura**" ad iride che è stato discusso in più riprese, e consente in ogni caso una forte riduzione della NA del condensatore, con tutti i vantaggi e gli svantaggi che sappiamo.

Non si creda inoltre che, disponendo di un'apertura nel condensatore assai maggiore di quella dell'obbiettivo, si possa aumentare a piacere la risoluzione dell'obbiettivo (vedi la (53), § 18.10): come già detto, in quel caso aumenta la luce diffusa, peggiora il contrasto ed il danno è più forte del vantaggio.

Con gli obbiettivi più corretti ed un oggetto ben contrastato, conviene tenere l'apertura del condensatore (NA_k) assai vicina a quella dell'obbiettivo (NA_o); con un obbiettivo di modeste correzioni, specie se con molte lenti (planare, ad es.), può convenire ridurre NA_k alla metà di NA_o. Solo la situazione concreta indicherà il miglior compromesso fra forte NA_k (miglior risoluzione) e bassa NA_k (miglior contrasto)[131].

Il diaframma d'apertura Da dovrebbe stare, come si disse, nel primo fuoco del condensatore, ma molti costruttori non rispettano questa norma. Fisicamente, esso si trova di solito subito sotto il pacco lenti, raramente in mezzo alle lenti.

Presso il diaframma Da vi è a volte una scala graduata che indica, in mm, o in valori di NA, o in unità arbitrarie, il diametro del Da medesimo per ogni posizione della levetta di comando.

Per finire, ricordiamo che la doppia immersione comporta la presenza di olio SOTTO il vetrino: tale olio tenderà a colare giù per il condensatore (che ha sempre forma appuntita per le minori dimensioni della frontale) e lo spazio fra vetrino e condensatore resterà vuoto; a questo punto nessuno resisterà alla tentazione di aggiungere altro olio ed il processo verrà incrementato. Nuovo svuotamento, nuova aggiunta di olio, ecc. È facile immaginare lo stato di colaticcio che si realizza dopo poche ore di lavoro di questa "reazione a catena" idraulica. È per questo che molti costruttori hanno il buon senso di consigliare condensatori a secco anche per obbiettivi ad immersione. Tanto peggio per la risoluzione. Un compromesso può essere costituito dall'uso di glicerina in luogo dell'olio per l'immersione del condensatore. Non si tratterà più di immersione omogenea (n = 1,456), ma almeno la glicerina si può lavare con acqua.

[131] In certi microscopi dedicati al lavoro di routine, in campo medico specialmente, vi è qualche dispositivo che regola automaticamente il diaframma d'apertura, ed a volte anche il diaframma di campo, quando si cambia obbiettivo. Ovviamente, gli automatismi rendono più veloce il lavoro, ma rendono impossibile ogni adattamento alle esigenze di preparati particolari.

21.6 - STRUTTURA del CONDENSATORE

All'incirca, la forma esterna del condensatore è quella di un cilindro, con un diametro di circa 4 cm ed un'altezza da 1-2 a 5 o più cm.

Il cilindro termina superiormente con un tronco di cono o con un cilindro più piccolo poiché spesso vi è una lente superiore (la **frontale**, dal lato dell'oggetto) di minor diametro. Inferiormente, il cilindro termina di solito con un diaframma ad iride (comandabile con una levetta radiale o un anello godronato[132]) e con un porta-filtri. Il porta-filtri consiste in genere in un anello (in metallo o plastica) con una sede interna per i filtri, di diametro compreso spesso fra 30 e 33 mm, ed un foro eccentrico che permette di imperniarlo all'orlo inferiore del condensatore. Il porta-filtri è quindi estraibile. A volte esso è tagliato in modo da essere elastico e serrare lievemente il filtro. Altre volte, come in fig. 87, gli anelli porta-filtri sono fissati non al condensatore ma al porta-condensatore. Il fissaggio meccanico del condensatore allo stativo avviene di solito tramite un porta-condensatore, della foggia più varia. Spesso, si tratta di un supporto a squadra: la porzione orizzontale della squadra, a forma di anello, regge il condensatore; la porzione verticale porta la cremagliera e la guida a coda di rondine, che ne permette gli spostamenti verticali (vedi il § 21.4 ed il punto 9 in fig. 102, § 26).

Il fissaggio del condensatore alla parte orizzontale della squadra avviene essenzialmente in tre modi:

◊◊ slitta a coda di rondine lineare orizzontale (Leitz, Reichert, ecc.); il condensatore porta inferiormente una "coda di rondine" (guida a sezione trapezoidale) e si infila orizzontalmente sul porta-condensatore che ha la forma di una U disposta orizzontalmente;

◊◊ coda di rondine circolare (Zeiss, Galileo, ecc.): la guida è ancora a sezione trapezoidale, ma è ad anello e circonda la base del condensatore (vedi la fig. 84 nel § 21.1.3); il condensatore si inserisce dall'alto nel porta-condensatore; la coda di rondine viene fissata da tre viti radiali, che ne consentono anche la centratura. In fig. 87 si vede uno stativo classico, nella parte che sta sotto al tavolino, vista da sotto. Dall'alto in basso si distinguono: il grande tavolino quadrato, col foro centrale nel quale si porta il condensatore quando viene spostato verso l'alto (1); all'estrema destra la grande manopola per focalizzare l'oggetto (2) e, subito a sinistra di questa, la piccola manopola per focalizzare il condensatore (3); a sinistra di quest'ultima è ben visibile l'anello orizzontale porta-condensatore (4); il condensatore si inserisce dall'alto in questo anello e si vedono due delle tre viti di centratura (quella di sinistra, 5', è molleggiata; vedi il § 21.9). Sotto ancora, sono visibili due anelli porta-filtri identici (6: uno di essi porta una lente a grande campo), entrambi orientati fuori dal cammino ottico;

◊◊ incastro cilindrico: la superficie esterna del condensatore è cilindrica, spesso con diametro di 39,5 mm, e si incastra dal basso nell'anello porta-condensatore. Una vite orizzontale o qualcosa di simile permette di bloccare il condensatore dopo che è entrato nella sede (vedi 9 in fig. 102, § 26). Un condensatore di questo tipo, assai comune, è quello della fig. 83 nel § 21.1.3.

Il diametro esterno molto diffuso di 39,5 mm potrebbe far pensare ad una **inter-cambiabilità** dei condensatori di costruttori differenti; ma occorre anche verificare la

---

[132] Si chiama "godronatura" la lavorazione di una superficie a fini solchi paralleli; la lavorazione con fini punte o sporgenze, cioè a solchi incrociati, si chiama invece "zigrinatura" (a somiglianza dello "zigrino" degli squali).

parfocalità dei condensatori: dovrebbe essere uguale (ed in genere non è) l'**altezza** del condensatore, cioè la distanza fra la battuta inferiore di esso e la sua superficie superiore. Anche la forma della parte superiore, che deve alloggiare nel foro del tavolino, può impedire l'intercambiabilità.

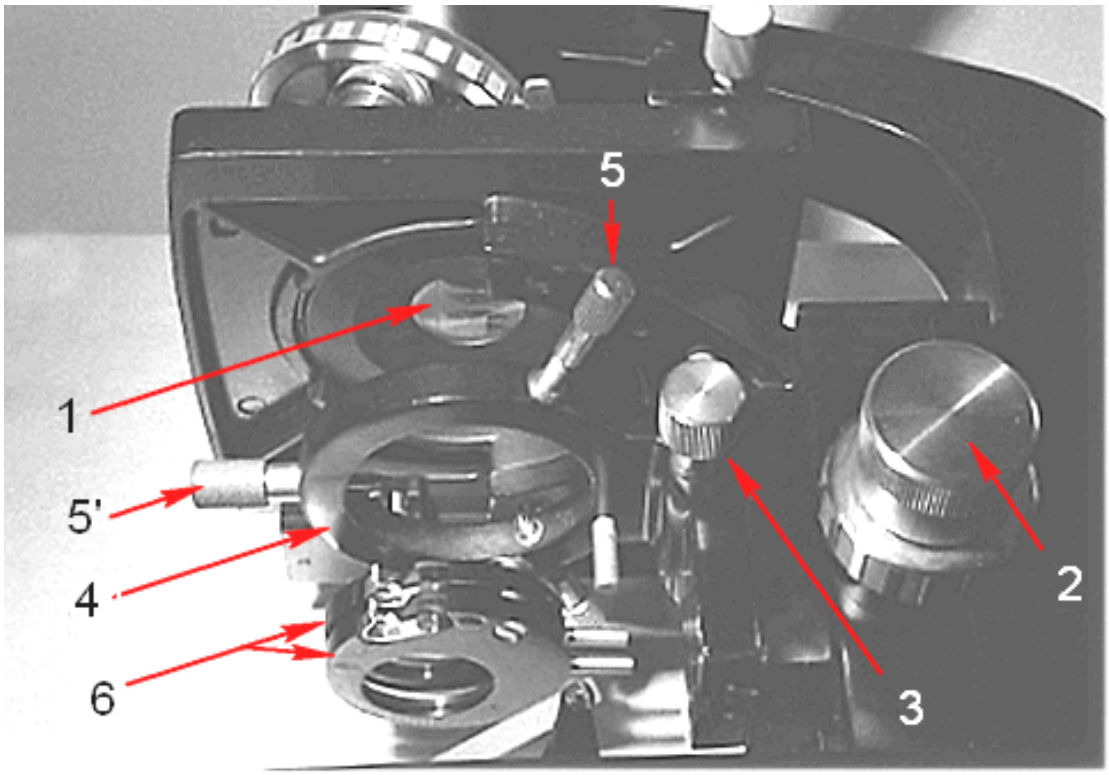


Fig. 87 – Foto originale di prodotto Galileo, Firenze, mod. BC

Abbiamo già parlato nel § 21.1.3 di quei condensatori che si possono smembrare, almeno nel senso che è previsto lo smontaggio rapido della lente frontale al fine di ottenere un campo illuminato più grande. Dal punto di vista ottico, vi sono molte soluzioni diverse per la struttura del condensatore.

Storicamente, i primi condensatori erano assai complessi e ben corretti: erano i "concentratori" contenenti due o più doppietti (Dujardin[133], 1838). Poi, E. Abbe (1872) studiò un condensatore a due lenti semplici (vedi la fig. 82-1 nel § 21.1.3) dopo di lui chiamato appunto "**condensatore di Abbe**". La lente frontale è quasi semisferica; l'inferiore è biconvessa, spesso asimmetrica; per ridurre l'aberrazione sferica, certi tipi moderni hanno almeno una superficie della lente inferiore di forma non sferica e la superficie superiore della frontale può essere concava. Smontando la frontale, si ha un campo abbastanza grande.

Questa ricetta è semplice ed economica, ma affetta da forte aberrazione cromatica (e sferica, nei tipi a lenti solamente sferiche). Per una migliore correzione, l'elemento inferiore può essere costituito da uno o due doppietti o da un doppietto più un menisco. Anche la frontale può essere doppia. Si arriva così ai **condensatori acromatici** o a quelli **acromatici-aplanatici**, generalmente di altezza maggiore del condensatore di Abbe semplice.

I tipi particolari già citati (LD, a grande campo, pancratici, ecc.) possono essere assai diversi dagli schemi indicati e contenere anche specchi, oppure solo specchi quando sono destinati al campo scuro. I condensatori per contrasto di fase contengono in genere un sistema ottico simile a quelli normali (oltre la presenza di uno o più diaframmi anulari); così quelli

[133] Félix DUJARDIN (1801 - 1860), zoologo francese, specialista in Protozoi.

per radiazione polarizzata, a parte certi dettagli costruttivi; quelli per fluorescenza in diascopia non debbono contenere vetri pesanti, opachi all'UV, e semmai dovrebbero contenere solo silice fusa (detta comunemente "quarzo") per la sua trasparenza in UV.

21.7 - ABERRAZIONI del CONDENSATORE

Non trattiamo qui delle aberrazioni del piano (curvatura di campo e distorsione) che non hanno effetto, essendo l'oggetto del condensatore una circonferenza (l'orlo del diaframma di campo Dc).

Poco fastidio danno anche certe aberrazioni del punto extra-assiali (coma ed astigmatismo) essendo il campo angolare del condensatore abbastanza piccolo. Viceversa è dannosa la cromatica longitudinale, in quanto del diaframma Dc si hanno (in luce bianca) infinite immagini a diversa altezza e di diverso colore. Se si focalizza il condensatore sull'immagine "blu-viola", si avrà un alone rosso; se si focalizza "sul rosso", si avrà un alone blu; se si focalizza "nel verde", l'alone è porpora (o magenta, un miscuglio di viola e rosso).

A piccolo ingrandimento gli aloni non danno gran fastidio e del resto, potendo chiudere molto il diaframma d'apertura, l'aberrazione si riduce; ma a forte ingrandimento (ed a forte apertura) gli aloni appaiono molto larghi, paragonabili al diametro del campo illuminato. In apparenza, gli aloni rimangono fuori dal campo illuminato, ma in realtà essi si spingono anche all'interno dell'immagine di Dc, semmai sono mascherati da essa. Ne risulta che l'immagine non è bianca: se essa è circondata, ad es, da un alone rosso, sarà affetta da un colore "**dominante**" blu, se l'alone è porpora, avrà una dominante verde, ecc., sempre del colore complementare dell'alone. Ciò è dannosissimo nella fotografia a colori e non c'è filtro di compensazione che tenga poiché la dominante varia rapidamente al variare dell'altezza del condensatore; pertanto sono stati costruiti i **condensatori** "**acromatici**", che minimizzano l'aberrazione cromatica. In assenza di essi, l'unico rimedio è regolare l'altezza del condensatore secondo il miglior compromesso (alone porpora) ed allargare molto il diaframma Dc: ciò aumenta la luce diffusa (vedi il § 17.1.1) ma allarga anche il diametro degli aloni e li porta fuori dal campo visuale, impedendo loro di conferire al campo stesso un colore dominante

L'aberrazione sferica, di per sé, rende poco nitidi gli orli del campo illuminato, e questo sarebbe il meno; il peggio è che l'apertura utile dell'obbiettivo non viene tutta "riempita" dal fascio conico prodotto dal condensatore. Si veda la fig. 88 che segue.

Nelle due sezioni della figura è schematizzato con una sola lente semisferica (K) un condensatore affetto da forte sferica sottocorretta: i raggi marginali si incontrano in un fuoco (M) assai ravvicinato rispetto al fuoco parassiale (P). A sinistra, il fuoco parassiale giace nel piano oggetto ed i raggi corrispondenti sono accolti dall'obbiettivo Ob; i raggi marginali vanno perduti; solo la zona centrale dell'obbiettivo è illuminata e l'effetto è lo stesso che si avrebbe chiudendo il diaframma d'apertura; a destra, sono focalizzati (ed utilizzati dall'obbiettivo) i raggi marginali mentre vanno perduti i raggi parassiali; è come avere nel condensatore un diaframma anulare. Di fatto, non esiste in queste condizioni una focalizzazione corretta del condensatore. In pratica, si rivelano questi effetti chiudendo il diaframma di campo, aprendo tutto quello di apertura, ed osservando la pupilla di un obbiettivo forte dopo aver tolto l'oculare; si potrebbe vedere un'immagine come quella di fig. 89, in cui appare non illuminata la zona intermedia dell'obbiettivo; la presenza di aree

colorate denuncia l'effetto di una NON correzione dell'aberrazione cromatica. Per meglio rendersi conto di quanto avviene, converrà focheggiare su e giù il condensatore. È anche bene tenere un vetrino sotto l'obbiettivo per il suo contributo alla sferica.

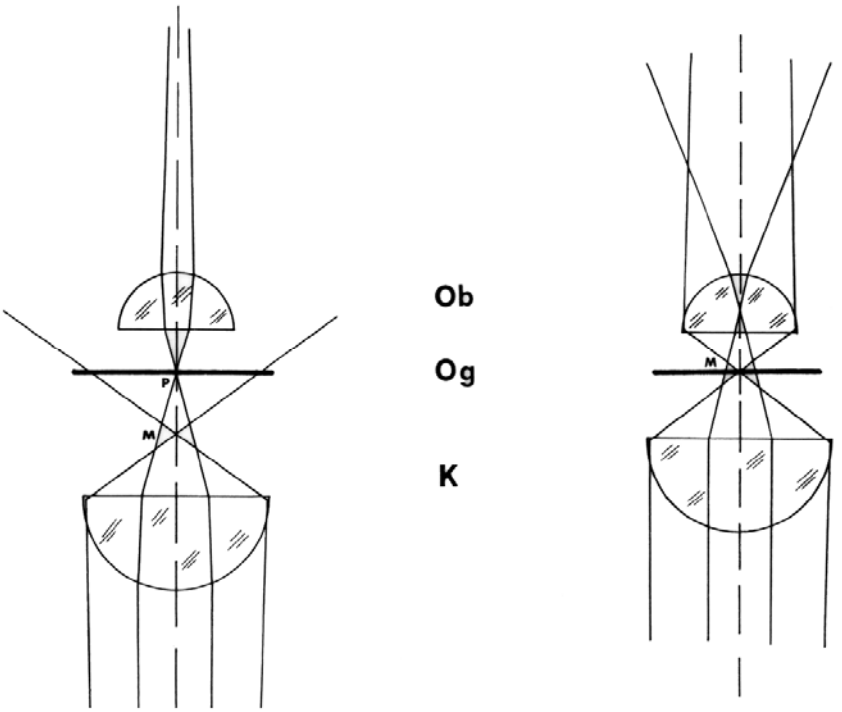


Fig. 88

Questa presenza di forte sferica nei condensatori semplici rende un po' equivoca l'indicazione dell'apertura massima di essi: un condensatore di Abbe venduto come dotato di NA = 1,25, in realtà può fornire una zona marginale con NA = 1,25 (utile ad es. per il fondo scuro, naturalmente in immersione), ma il resto della pupilla dell'obbiettivo non sarà completamente illuminato; la massima pupilla che si può UNIFORMEMENTE riempire con tale condensatore può avere una NA di 0,6 o 0,7 soltanto.

Contro questo inconveniente, sensibile per gli obbiettivi forti, si costruiscono i **condensatori** "**aplanatici"**, che spesso sono anche acromatici (condensatori acromatici-aplanatici, già citati). Un condensatore di Abbe non può essere né acromatico né aplanatico: occorrono ricette più complesse. Un parziale vantaggio si può ottenere, come già accennato, con l'uso di lenti asferiche; le superfici **asferiche** sono tecnicamente più difficili da realizzare, ma consentono una certa correzione della sferica senza aggiungere altre lenti al sistema. Nel § 21.6 si è accennato alla struttura di questi condensatori corretti.

Infine, si è detto nel § 21.1.3 che un condensatore a frontale estraibile può essere ben corretto quando è completo, ma difficilmente lo sarà quando è privato della lente frontale. Perciò i migliori condensatori sono forniti con diverse frontali intercambiabili tutte corrette, da scegliere in base all'apertura o alla distanza di lavoro desiderata.

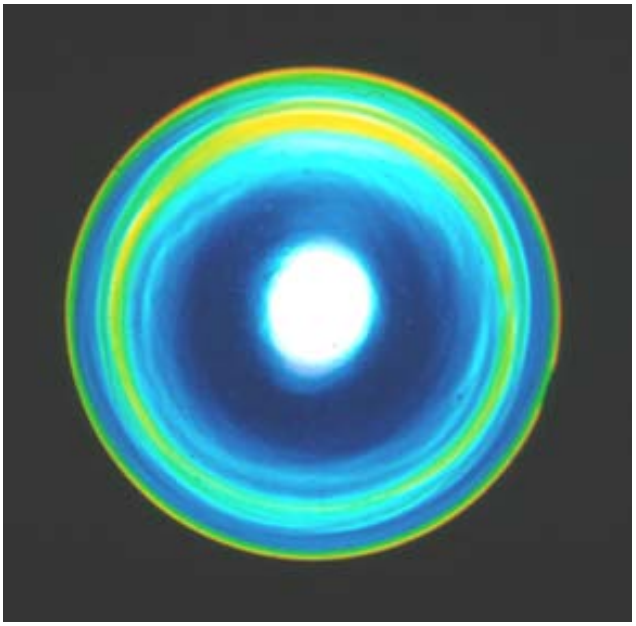


Fig. 89

21.8 - DIAFRAMMI ANULARI

Supponiamo di porre nel porta-filtri del condensatore, presso il diaframma d'apertura Da, un diaframma anulare (fig. 90), cioè un diaframma che presenta una zona trasparente in mezzo a due zone opache, come accennato nel § 18.10.

Per **zona** intendiamo una regione circolare centrata di un elemento ottico, corrispondente a valori definiti di apertura.

Un diaframma anulare sotto al condensatore permette l'ingresso di un fascio cilindrico cavo il quale viene reso conico dal condensatore e converge (se tutto è correttamente disposto) nel punto assiale del piano oggetto (Og in figura). A questo punto poco importa se il condensatore è affetto da sferica ed il fuoco parassiale è altrove. Conta solo che un certo fascio conico converga nell'oggetto e poi diverga. Un fascio conico cavo come schematizzato in fig. 90 risulta avere un'apertura massima ed una minima; se la minima è superiore a quella dell'obbiettivo (come in figura), il fascio non penetrerà nell'obbiettivo stesso, ed il fondo dell'immagine apparirà scuro. Se nel vertice del cono si trova un oggetto qualunque, esso diffonde la radiazione che lo colpisce in tutte le direzioni, compresa l'apertura utile dell'obbiettivo, e l'immagine dell'oggetto apparirà chiara su fondo scuro. È questo il metodo più semplice per ottenere il **fondo scuro**, una tecnica di contrasto di cui si parlerà nel § 30.2; tale metodo può funzionare bene a piccolo ingrandimento e con obbiettivi a secco.

Se invece l'apertura dell'obbiettivo è superiore a quella minima del fascio illuminante conico, il fondo dell'immagine apparirà chiaro, visto che una parte del fascio stesso penetra nell'obbiettivo. Non si tratta però di un "fondo chiaro" semplice poiché l'alterazione della struttura del fascio illuminante modifica l'andamento dei fenomeni di diffrazione, la struttura della centrica ed il valore della risoluzione (con leggero miglioramento). Questi diaframmi anulari, con apertura minore dell'obbiettivo in uso, servono per la tecnica del contrasto di fase, altra tecnica "di contrasto" (§ 30.4).

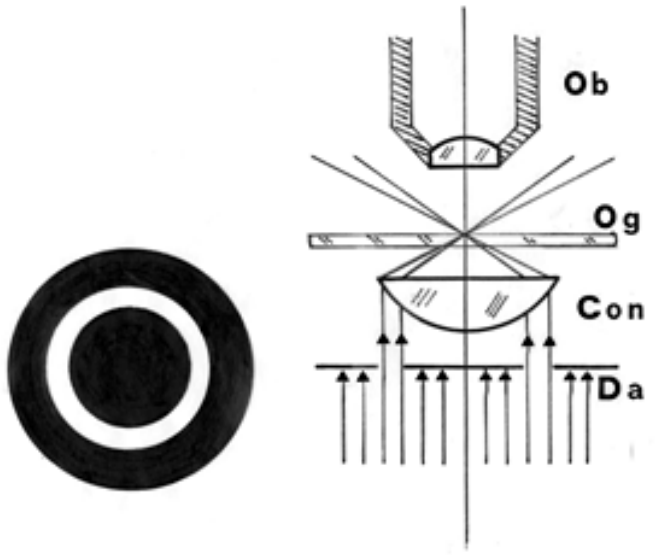


Fig. 90

Per ottenere il "campo scuro unilaterale", cioè l'illuminazione obliqua dell'oggetto da un lato solo, si usa lo stesso metodo descritto nel § 18.9 per l'illuminazione obliqua, e cioè un diaframma stretto (pochi mm di diametro) in posizione eccentrica nella pupilla d'ingresso del condensatore. Ma la sua forma non ha molta importanza: quello che conta è che la sua apertura[134] sia maggiore di quella dell'obbiettivo (§ 30.2).

In casi assai particolari, in certi interferometri (Interphako, Jena), si usano diaframmi a reticolo, costituiti da righe trasparenti ed opache alternate.

21.9 - CENTRATURA DEL CONDENSATORE

Certi costruttori forniscono degli strumenti in cui il condensatore è precentrato in fabbrica. Tale centratura non può essere perfetta per tutti gli obbiettivi, a causa delle piccole differenze elencate nel § 19.1.4, ma è sufficiente per il campo chiaro, la fluorescenza, ecc.

Per il contrasto di fase, vi sono esigenze assai più spinte, ma ci si limita a centrare i singoli diaframmi. Per il campo scuro, si producono in genere condensatori speciali centrabili, in cui il meccanismo di centratura è interno alla meccanica del condensatore (§ 30.2). Per i microscopi polarizzatori, si preferisce centrare i singoli obbiettivi (§§ 19.1.4.1 e 30.7).

In molti altri casi, invece, il condensatore è un sistema rigido, ma l'anello in cui esso viene incastrato (la parte orizzontale del porta-condensatore, vedi fig. 87 nel § 21.6) è dotato di un meccanismo di centratura. Si tratta in genere di tre viti a 120° l'una dall'altra, di cui una è molleggiata, e le altre due spingono sul condensatore vincendo la resistenza della punta molleggiata.

L'ideale sarebbe che il condensatore venisse ogni volta centrato rispetto all'obbiettivo

[134] Qui per apertura s'intende l'inclinazione media del fascio che attraversa il diaframma e poi il condensatore.

inserito, ma non è facile un riferimento diretto fra i due assi ottici[135]. Si usano allora dei criteri indiretti, per es. l'osservazione del diaframma d'apertura Da o del diaframma di campo Dc, come descritto qui sotto.

Si sa dal § 8.8 (e dalla fig. 32) che nella pupilla d'uscita dell'obbiettivo (PU) si osserva un'immagine reale del diaframma Da. Ebbene, si osservi la PU (con la lente di Amici, con un microscopio ausiliario (vedi il § 19.5.5) o ad occhio nudo, dopo aver tolto l'oculare) e, manovrando il Da, si vedrà la sua immagine in PU che varia di diametro. Ora, si allarghi Da finché gli orli della sua immagine sfiorano gli orli della pupilla PU. Se la centratura fra le due parti non è buona, si ritoccherà la centratura del condensatore. Focheggiando il condensatore, si troverà una posizione in cui l'orlo di Da appare colorato in blu e la centratura del condensatore può diventare assai precisa. Però questa tecnica presuppone che Da sia perfettamente centrato rispetto al condensatore, il che è tutto da dimostrare.

Un altro metodo di centratura del condensatore presuppone che la "sorgente" (in genere il diaframma di campo) sia rigidamente fissata in posizione corretta all'interno dello strumento. Ciò avviene in molti buoni stativi "ad illuminazione incorporata". Oltre al diaframma di campo, si presuppone che sia allineato anche l'eventuale specchio posto nel piede dello stativo, sotto al condensatore. Tale specchio infatti presenta al condensatore un'immagine virtuale della sorgente. Se tali parti sono centrate, cioè poste sull'asse ottico comune obbiettivo-oculare, allora non rimane che centrare il condensatore sullo stesso asse: CIÒ' SI FA OSSERVANDO NELL'OCULARE, ANCHE IN ASSENZA DI OGGETTO, L'IMMAGINE DEL DIAFRAMMA DI CAMPO Dc fornita dal condensatore; occorrerà chiudere opportunamente Dc e focalizzare il condensatore, ma non è una manovra complicata. Tale centratura va ritoccata ogni volta che si cambia obbiettivo. Anche questa tecnica, generalmente consigliata dai costruttori, parte dal presupposto che il costruttore abbia centrato perfettamente le altre parti del sistema, ma è meglio non scommettere: capita spesso, osservando a forte ingrandimento l'immagine del diaframma di campo, di vedere degli aloni colorati non simmetrici: è la prova che qualcosa è fuori centro.

Vi sono poi casi (vedi i §§ 22.8 e 22.9) in cui la sorgente è esterna al microscopio ed uno specchio mobile sotto al condensatore ne rinvia la radiazione verso il condensatore stesso: tale specchio va azionato dall'utilizzatore e quindi non si può partire dal presupposto che la sorgente (o la sua immagine data allo specchio) sia centrata. Abbiamo visto come si opera in questo caso (§ 8.9).

21.10 - PULIZIA e SMONTAGGIO del CONDENSATORE

Rispetto ad un obbiettivo, un condensatore mostra esigenze assai minori: le correzioni delle aberrazioni sono meno importanti; le focali ed i diametri delle lenti sono maggiori e quindi le centrature e le distanze fra le lenti sono meno critiche; il sistema è più semplice.

Ne consegue che smontare e rimontare un condensatore non presenta molti problemi. Le lenti sono fissate in genere da un anello a vite, tranne la frontale, che è spesso incastonata

[135] A questo fine si usa il metodo delle "**catadiottriche**" cioè delle immagini di una sorgente qualunque create dai riflessi sulle superfici delle lenti; tali immagini debbono risultare allineate in due direzioni all'incirca perpendicolari fra loro. Come sorgente può essere utile lo stesso diafamma di campo, molto chiuso; ma la sorgente deve essere decentrata affinché le sue immagini risultino distribuite secondo un diametro della PU; se non vi è uno specchio orientabile, si può usare una piccola lampadina del tipo di quelle per pila tascabile.

nella sede metallica tramite ribaditura (vedi il § 19.1).

Oltre alla polvere, la lente frontale può venir insudiciata da detriti o liquidi caduti dal vetrino, specialmente dal liquido per immersione. Sulla pulizia dell'olio da immersione, vedi il § 16.4 .

Pure il diaframma ad iride si può sporcare ed imbrattare d'olio; basta una minima traccia d'olio o di grasso sulle sottili lamelle dell'iride perché si crei una forte aderenza ed in queste condizioni, quando si cerca di chiudere il diaframma, le lamelle si incurvano e si deformano. Smontare e pulire (con alcool o solventi vari) un diaframma ad iride non è difficile. La difficoltà è nel riassemblaggio, poiché ogni lamella porta due pernini e tutti i pernini debbono simultaneamente inserirsi nelle relative sedi. Occorre una certa esperienza ed una massiccia dose di pazienza per evitare un attacco di nervi.

Qualche granello di polvere sulle lenti del condensatore non crea generalmente problemi poiché quelle superfici non sono mai coniugate con l'oggetto: la polvere è ampiamente fuori fuoco. Vi sono però dei casi particolari, già accennati nel § 19.5.1:

◊◊ La fluorescenza. Molte fibre vegetali e tessili sono fluorescenti e la loro presenza sulle lenti del condensatore crea un velo di luminosità di fondo che abbassa il contrasto. Nella fluorescenza in episcopia le cose non cambiano poiché il fascio di eccitazione che irradia l'oggetto entra anche nel condensatore, a meno che non lo si smonti. Ugualmente dannosa in questo senso è la polvere sul vetrino e sull'obbiettivo, specie in episcopia, ove l'obbiettivo svolge anche la funzione di condensatore. Il problema è più grave quando la lente frontale dell'obbiettivo o del condensatore è concava poiché tali cavità agiscono da ricettacolo di polvere.

◊◊ La radiazione polarizzata. La polvere, che sia di natura minerale, vegetale o animale, è generalmente birifrangente. Fra "Nicol incrociati", cioè in condizioni di "estinzione" (fondo oscuro), ogni granello di polvere birifrangente crea un alone che abbassa il contrasto. Valgono le stesse considerazioni viste sopra sulla pulizia del vetrino e delle frontali concave.

◊◊ Il fondo scuro. Di nuovo la polvere fuori fuoco, anche se monorifrangente, crea degli aloni chiari che abbassano il contrasto.

◊◊ Il contrasto di fase. Anche qui, la polvere fuori fuoco è assai sgradevole poiché appare con forte contrasto, sotto forma di aloni di vario diametro.

In tutti questi casi dunque la pulizia del condensatore, del vetrino e dell'obbiettivo è assai importante.

22 - LA MICRO - LAMPADA

Nei §§ 8.2 ed 8.3 ed all'inizio del § 21 si è visto come il campo illuminato nel piano oggetto del microscopio, quello che rende visibile l'oggetto, sia dato dall'immagine di una "sorgente".

Nel § 8.2 si è visto che a volte la "sorgente" è di origine naturale: il cielo, possibilmente nuvoloso, un muro illuminato dal sole (mai il sole diretto per la scarso campo angolare del fascio e l'instabilità della sua posizione), ecc. Ma di solito si usano sorgenti artificiali se non altro per ragioni di stabilità, di maneggevolezza, di disponibilità.

In disuso da tempo le sorgenti a fiamma (a petrolio, ecc.), si può dire che la quasi totalità delle sorgenti moderne è alimentata elettricamente. Vedremo nel § 22.6 la struttura del corpo luminoso. Vediamo ora la struttura del sistema ottico-meccanico che circonda il corpo luminoso e rappresenta la vera "sorgente", cioè l'oggetto del condensatore. Tale sistema può essere definito "lampada" o "**micro-lampada**".

Nell' **illuminazione diffusa semplice** (§ 8.4) la microlampada è ridotta all'osso, essendo costituita da un diffusore, eventualmente da uno specchio piano che rinvia verso di esso un fascio, e da una lampadina elettrica, anche del tipo "esteso non omogeneo" (vedi il § 8.2) cioè con filamento esteso alimentato direttamente dalla tensione di rete (125, 220 V o simili). Si parla di "lampade a tensione di rete". Raramente questo schema contempla un diaframma.

Nell' **illuminazione diffusa con condensatore** (§ 8.5), vi è in più il condensatore, magari con diaframma d'apertura, ma la microlampada è ancora costituita essenzialmente da una lampadina elettrica o ampolla ad incandescenza (eventualmente con specchio sferico sotto, per recuperare una parte del fascio, vedi S in fig. 29, § 8.5) e dal diffusore. Se vi è una lente collettrice, come detto nel § 8.5, si può avere una "microlampada" di buon rendimento, e vi può anche essere un diaframma di campo. Del collettore si parlerà più sotto.

Nell' **illuminazione critica** (vedi il § 8.6 e la fig. 30) la microlampada è costituita dal corpo luminoso e dal suo alloggiamento, ma questo schema è assai poco usato. Un poco più usato è lo schema con collettore (§ 8.7 e fig. 31) e qui vi è ancora una lente convergente, ma senza diffusore né diaframma di campo.

Invece diffusissimo è lo **schema di Köhler** (vedi il § 8.8 e la fig. 32).

Come si disse, fra microlampada e condensatore vi possono essere uno o più specchi che ripiegano il cammino ottico e riducono l'ingombro del sistema. Ma si tratta sempre di specchi piani che non alterano lo schema di base. Il funzionamento di questo sistema è già stato illustrato nel § 8.8. Qui per micro-lampada si intende il complesso: lampadina elettrica - collettore - eventuale vetro smerigliato prima o dopo il collettore - diaframma di campo - eventuale portafiltri - involucro con accessori per la dissipazione del calore ed il fissaggio - eventuale specchio - eventuali accessori per la focalizzazione e/o la centratura dell'ampolla, del collettore, del diaframma o dello specchio.

Sull'aspetto esteriore e la struttura meccanica di una "microlampada di Köhler" non possiamo dilungarci poiché ogni strumento offre soluzioni diverse. Ci basti capire bene il principio di funzionamento, come risulta dalla fig. 32.

Esaminando le varie parti della metà inferiore della fig. 32, cominciamo dallo specchio o dagli specchi, non raffigurati nella figura stessa, posti di solito fra condensatore e collettore.

22.1 - LO SPECCHIO

Come si è detto, specialmente quando la microlampada è alloggiata nel piede dello strumento o fissata esternamente ad esso, si utilizzano uno o più specchi piani che ripiegano opportunamente il cammino ottico rendendolo compatibile cogli ingombri del sistema. In certi casi, la distanza fra microlampada e condensatore diviene così grande da richiedere una lente a grande campo o altri sistemi intermedi di lenti (come nel classico "Ortholux" della Leitz).

Gli specchi presentano al condensatore un'immagine virtuale della sorgente, e la loro inclinazione determina la posizione di tale immagine. Se gli specchi sono male allineati, l'immagine della sorgente e del diaframma di campo Dc apparirà spostata (se il condensatore è fisso) oppure si richiederà una decentratura del condensatore per riportare in centro l'immagine di Dc. I problemi di **centratura** in uno strumento ottico sono sempre delicati, specie se non si dispone di appositi attrezzi, ed è sempre pericoloso fidarsi delle centrature operate dal costruttore.

La tolleranza sulla planeità della superficie dello specchio è generalmente abbastanza larga da non creare problemi.

Lo strato riflettente alla superficie dello specchio può essere di varia natura.

22.1.1 - Argentatura

Poiché l'argento si altera rapidamente ed annerisce al contatto dell'aria (reagendo con l'idrogeno solforato per formare solfuro d'argento), esso va protetto con apposite vernici.

L'argentatura va quindi depositata sulla faccia posteriore dello specchio, che consterà di una lamina di vetro a facce piane e parallele, entrambe lucidate. L'argento viene depositato sul vetro a freddo, per immersione in una soluzione di nitrato d'argento, da cui il metallo si separa per una reazione chimica con ammoniaca.

Questo tipo di specchio ha un'elevata reflettività (per merito dell'argento) e si può pulire senza pericoli poiché la superficie esposta è la faccia libera del vetro, ma ha un difetto: il fascio incidente (simboleggiato in fig. 91 dal raggio I) crea un primo debole riflesso (R_1) alla superficie esposta del vetro, poi un forte riflesso (R_2) sulla superficie posteriore argentata (Ag), poi un terzo riflesso debole (R_3) in seguito a doppia riflessione sulle due facce della lamina, poi altre riflessioni più deboli per successivi rimbalzi all'interno della lamina. In pratica, ai due lati dell'immagine principale della sorgente, data dal fascio R_2, si vedranno almeno due aloni, dovuti ai riflessi R_1 ed R_3 ed eventualmente ai successivi.

Questi "specchi posteriori" sono perciò poco usati, almeno quando vanno posti all'interno dello strumento, dove vi è protezione dalla polvere. Spesso vengono sostituiti dagli specchi di superficie sotto descritti o da **prismi** a riflessione totale (vedi il § 11 e la fig. 34 A): questi ultimi possono essere argentati sulla faccia ipotenusa senza produrre riflessi multipli. L'argentatura di un prisma non sarebbe necessaria poiché la riflessione "interna" è veramente "totale" (vedi il § 2.3.2), ma viene usualmente eseguita per proteggere la superficie riflettente da polvere o ditate. Sopra lo strato d'argento, vi è sempre uno strato di vernice protettiva.

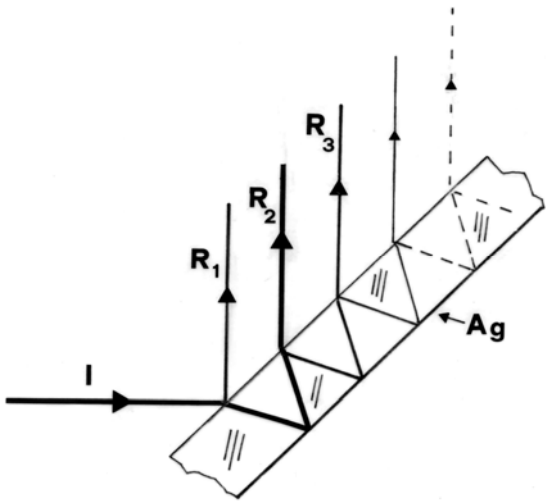


Fig. 91

Il fascio riflesso più intenso è R_2. I fasci R_1 ed R_3 creano immagini più deboli sui due lati della principale. I successivi sono sempre più deboli, e stanno dalla stessa parte di R_3.

22.1.2 - Alluminatura

L'alluminio è relativamente stabile al contatto con l'aria e pertanto può essere usato per rivestire la faccia anteriore dello specchio, che diviene la faccia riflettente. Si parla di "**specchi di superficie**".

L'alluminio viene depositato non come risultato di una reazione chimica a freddo, ma per evaporazione del metallo riscaldato elettricamente in una campana sotto vuoto spinto. Il supporto può essere di varia natura, ma generalmente è vetro. L'alluminio ha una reflettività anche inferiore a 95 %, minore di quella dell'argento[136], ma la riflessione di superficie evita l'inconveniente delle riflessioni multiple. Poiché il fascio riflesso non traversa la lamina di vetro, lo specchio di superficie ha un rendimento superiore nella banda UV, e quindi in fluorescenza. Lo svantaggio è la facilità con cui l'alluminio si graffia al minimo tentativo di pulirlo: per ridurre questo inconveniente, lo strato riflettente viene protetto da uno strato di fluoruro di magnesio, biossido o, più spesso, monossido di silicio o altro materiale; si parla di "**quarzatura**" dello specchio, anche se il quarzo è biossido di silicio naturale allo stato cristallino, mentre la "quarzatura" viene depositata per evaporazione, allo stato amorfo. Nonostante la "quarzatura", gli specchi di superficie rimangono assai delicati e sono sistemati di solito nelle parti chiuse dello strumento, dove è minore l'apporto di polvere. Per pulirli, occorre usare materiale morbido, esente da polvere, possibilmente inumidito con alcool o con una soluzione detergente, e poi sciacquarli con acqua distillata (oppure alitarvi sopra). L'uso dell'alcool o altri solventi organici si rende necessario in presenza di "ditate".

[136] La reflettività **r** si può valutare come: $r = 100 - [(3{,}7 \rho^{0,5}) / \lambda^{0,5}]$ in cui ρ è la resistività del metallo, espressa in micro-ohm per metro e λ (lunghezza d'onda) è espressa in micron. La formula è approssimata.

22.1.3 - Gli specchi interferenziali

Nel § 17.1.2 si è parlato dei "**trattamenti anti-riflettenti**", cioè di quei sistemi di strati sottili trasparenti depositati alla superficie degli elementi in vetro che, provocando riflessi multipli e sfruttando l'interferenza fra gli stessi, possono ridurre drasticamente l'energia riflessa alla superficie del vetro.

Lo stesso principio degli strati sottili interferenziali si può complicare realizzando strati multipli sovrapposti e/o aggiungendo strati sottili semi-riflettenti. Sfruttando così lo schema dell'interferometro di Fabry e Perot[137] (1901), si può ottenere un varietà praticamente infinita di curve spettrali di riflessione e trasmissione (altri dettagli nel § 23.1). Si possono così realizzare dei filtri interferenziali e degli **specchi interferenziali**, che hanno funzione diversa, ma non differiscono nello schema di principio. Questi sistemi assorbono pochissimo e distribuiscono l'energia incidente in una frazione riflessa ed una trasmessa; in altre parole, ciò che non è riflesso è trasmesso e viceversa: entrambe le funzioni sono svolte contemporaneamente.

Quando si utilizza un sistema interferenziale come specchio in un sistema illuminante, ci si propone di avere la massima reflettività nello spettro ottico e la minima nell'ultravioletto e nell'infrarosso (allo scopo di proteggere il preparato dalla decolorazione e dal riscaldamento). In questo modo si realizzano gli "**specchi freddi**" che si comportano nello spettro ottico come uno specchio normale, ma lasciano passare buona parte dell' UV e dell'IR. Tale radiazione trasmessa va poi a cadere sulla parete dell'involucro dove non reca danno.

Ovviamente, uno specchio freddo non è adatto alla fluorescenza in UV, ma è assai raccomandato nell'osservazione di oggetti viventi e delicati. Esso sopporta male la pulizia, essendo strutturato come uno specchio di superficie. Poiché esso trasmette l'UV e l'IR, trasmette qualcosa anche agli estremi dello spettro ottico ("viola" e "rosso") e pertanto, osservato per trasparenza, appare color porpora. Per riflessione, appare neutro poiché lo spettro ottico è riflesso quasi integralmente. Lo specchio freddo è naturalmente più costoso degli altri tipi.

Funzionando col principio interferenziale, lo specchio freddo ha una banda di riflessione che dipende dall'angolo d'incidenza (vedi il § 23.1): un dato specchio quindi risponde alle caratteristiche nominali solo rispettando l'incidenza prevista, che nel caso più normale è 45° (riflessione a 90°).

22.1.4 - Lo specchio concavo

Negli strumenti che prevedono una sorgente esterna è ancora in uso uno specchio a doppia faccia posto sulla base dello strumento: piano da un lato e concavo dall'altro.

Il diametro è spesso intorno a 50 mm; la montatura permette di orientarlo in tutte le direzioni poiché lo specchio ruota su un asse orizzontale attorno agli estremi di una forcella semi-circolare, e la forcella ruota attorno ad un asse ortogonale al primo, mediante un perno fissato alla base dello strumento (**snodo** "**cardanico**").

---

[137] Charles FABRY (1867-1945) e Alfred PEROT (1863-1925), fisici francesi.

Si tratta sempre di uno specchio posteriore poiché esso è montato all'esterno dello strumento ed è esposto alla polvere.

La faccia piana si adopera come di consueto. La faccia concava serve con obbiettivi deboli quando manca il condensatore (strumenti economici) o, a volte, quando il campo illuminato dato dal condensatore è insufficiente. Lo specchio concavo infatti riflette un fascio incidente più o meno parallelo, quale proviene dalla sorgente, rendendolo convergente con un'apertura fino a 0,3. Il vantaggio dello specchio concavo è appunto quello di assicurare campi grandi senza condensatore. Lo svantaggio è quello di non consentire l'uso di obbiettivi medio-forti. Inoltre, lavorando obliquamente, esso dà della sorgente un'immagine affetta da forti aberrazioni. **In presenza di condensatore, lo specchio concavo va sempre sostituito con quello piano**.

Comunque sia, lo specchio deve essere mobile quando la sorgente è esterna al microscopio al fine di riflettere nella giusta direzione un fascio che può provenire da una direzione qualunque. Se la sorgente è fissa nello stativo, lo specchio o gli specchi sono in genere fissi, e si è visto che il loro allineamento è molto critico.

Come regola pratica per orientare uno specchio mobile , si riveda quanto detto nel § 8.9, punto 4). Se si lavora con sorgenti naturali, come il cielo, magari attraverso una finestra, conviene osservare la pupilla d'uscita dell'obbiettivo: si cerchi di ottenere il massimo "riempimento" di tale pupilla e soprattutto la centratura del fascio illuminante. Ciò aiuterà anche a scegliere fra specchio piano o concavo.

22.2 - IL COLLETTORE

Il "**condensatore di lampada**" o "**condensatore di campo**" o "**lente di campo**" viene chiamato in vari modi, specie da autori stranieri, ma il termine "**collettore**" è il meno equivoco.

Si tratta di un sistema convergente semplice o composto, a forte potenza, forte apertura, forte diametro, campo angolare modesto, correzioni modeste. La sua vicinanza al corpo luminoso lo espone a forte riscaldamento e pertanto in esso non si possono introdurre lenti incollate. La sua funzione è quella di creare un'immagine reale ingrandita di un corpo luminoso (vedi oltre); tale immagine deve "riempire" la pupilla d'ingresso del condensatore, cioè l'apertura massima del diaframma d'apertura. Ma di ciò si è già parlato in varie occasioni.

Entriamo ora in qualche dettaglio.

Lo schema di funzionamento del collettore è quello di fig. 13 (§ 2.6.2.4); il suo ingrandimento (Mc) determina le dimensioni dell'immagine del corpo luminoso; poiché tali dimensioni debbono corrispondere a quelle del diaframma d'apertura (tutto aperto), vediamo quali sono i fattori che le determinano. Modificando la (12) che dice: $M = \frac{y'}{y}$, chiamiamo Mc l'ingrandimento lineare trasversale del collettore, Q il diametro y dell'oggetto, cioè del corpo luminoso (filamento della lampadina o simili), e Q' il diametro y' dell'immagine, quale si proietta sul diaframma d'apertura (vedi fig. 32). A sua volta Mc, in base alla (14) che dice: $M = \frac{x'}{f}$, risulta legato alla focale f_c del collettore ed alla distanza x' fra immagine (Q') e secondo fuoco del collettore Cl. Combinando la (12) con la (14) otteniamo:

$$Q' = Mc \cdot Q = \frac{x' \cdot Q}{f_c} \qquad (71)$$

Dunque, essendo più o meno fisso il diametro massimo del diaframma d'apertura (25-30 mm in genere), i fattori su cui si può giocare sono:

◊◊ **x'** , cioè la distanza collettore - condensatore (secondo fuoco del collettore - primo fuoco del condensatore); se la microlampada è incorporata nello strumento, questa distanza è fissa; sarà il progettista a stabilirla in base agli altri fattori. Se la lampada è esterna, quella distanza si può variare, ma gli ingombri del sistema non danno molta libertà;

◊◊ **Q** , cioè il diametro del corpo luminoso (filamento incandescente, arco elettrico, ecc.). Questo dovrà essere scelto oculatamente dal progettista e l'utilizzatore non dovrà sostituire una "lampadina" con un'altra senza un attento esame. In pratica, specie con strumenti non recenti, è normale rimanere privi delle lampadine di ricambio, e la sostituzione con un tipo "equivalente" richiede un confronto su alcuni parametri fondamentali, come detto nel § 22.6.4;

◊◊ $\mathbf{f_c}$, cioè la focale del collettore; anche questa va determinata dal progettista, tenuto conto di tutti gli altri fattori.

Poiché il diaframma d'apertura è circolare, l'immagine del corpo luminoso dovrà essere più arrotondata possibile; in pratica, è già molto quando è quadrata, e di ciò riparleremo. Ma quello che è più grave è che in molti strumenti anche di ottima qualità, l'immagine proiettata sul diaframma d'apertura è troppo piccola. Questo equivale a ridurre l'apertura utile del condensatore nel senso che le zone più marginali della pupilla di quest'ultimo non vengono illuminate e sappiamo quali sono le conseguenze a carico della risoluzione, della profondità di campo, ecc. Inoltre, un diametro insufficiente dell'immagine del filamento (Q') comporta che i diaframmi anulari a forte diametro usati in campo scuro e contrasto di fase a forte ingrandimento, risultano male illuminati.

22.2.1 - La focale del collettore

Si è appena detto che la focale f_c influisce sulle dimensioni dell'immagine Q' del corpo luminoso Q. Ma, a parità di apertura del sistema, la focale f_c influisce ovviamente anche sulle dimensioni delle lenti.

Ora, stabilito il diametro del campo illuminato (che deve essere pari al diametro **s** del campo oggetto dell'obbiettivo) e stabilito l'ingrandimento del condensatore, uno dei fattori limitanti per il valor massimo del campo illuminato è proprio il diametro delle lenti del collettore; si vedano in proposito i §§ 21.1 e 21.1.7. Quel diametro delle lenti (il diametro massimo del diaframma di campo non può ovviamente essere maggiore, sarebbe inutile) è dunque un altro parametro di cui il progettista deve occuparsi, assieme alla focale f_c.

Ricordiamo poi che fra collettore e condensatore vi può essere qualche lente, per es. una lente a grande campo, e ciò influisce sia sulle dimensioni dell'immagine del filamento, sia sulle dimensioni del campo illuminato. La focale f_c del collettore influisce inoltre anche sulla **distanza** "**frontale**" di esso, distanza fra la prima superficie delle lenti (lato filamento) ed il filamento o corpo luminoso in genere, supposto focalizzato. Ora, in tutte le lampade elettriche, il corpo luminoso (filamento, arco, ecc.) è circondato da un'ampolla di vetro, di silice fusa, ecc. e la distanza fra corpo luminoso e parete dell'ampolla è fissa. Ebbene, tale distanza non può superare la distanza frontale del collettore, pena l'impossibilità di

focalizzare il corpo luminoso. Certe ampolle ad incandescenza hanno un filamento eccentrico nel bulbo, proprio per rendere meno grave il problema, ma in ogni caso, anche da questo punto di vista, la sostituzione di un'ampolla con una di tipo diverso può essere impossibile.

22.2.2 - L'apertura del collettore

Come si è detto nel § 5.2.4 (vedi la (20)), l'apertura dipende dal rapporto fra focale della lente e suo diametro utile. E si è già visto quali relazioni vi sono fra l'ingrandimento del collettore, la sua focale, il diametro delle sue lenti, ecc. Quindi anche l'apertura del collettore (NA_c) è legata a molti fattori.

Naturalmente, maggiore è NA_c, più luminosa sarà l'immagine del filamento (proporzionalmente al quadrato di NA_c). Può essere utile la relazione:

$$Q \cdot NA_c = s \cdot NA_k \tag{72}$$

che rapporta il diametro Q del corpo luminoso, le aperture del collettore (NA_c) e del condensatore (NA_k) al diametro del campo illuminato (s). Per es., una volta scelto l'obbiettivo, risultano determinati i valori di **s** (campo oggetto, che supponiamo coincidere col campo illuminato) ed NA_k (di poco inferiore all'apertura dell'obbiettivo); risulta allora determinato il prodotto $Q \cdot NA_c$; essendo Q legato alla struttura del corpo luminoso, risulta determinato NA_c. Se NA_c è eccessivo, è eccessivo anche il diametro delle lenti del collettore (che si suppone pari al diametro del diaframma di campo) ed il diametro del campo illuminato: si ha perdita di radiazione. Se NA_c è insufficiente, avviene l'inverso: l'immagine Q' è meno luminosa ed il campo illuminato può risultare insufficiente (minor diametro del collettore).

Ed ancora: nella (61) (vedi il § 19.2.1), si è visto che l'illuminazione nell'immagine (E) dipende da vari fattori: possiamo applicarla al collettore e scrivere:

$$E = \frac{\pi \cdot t \cdot B \cdot NA_c^2}{M_c^2} \tag{73}$$

in cui **t** è la trasparenza del sistema (perdite per assorbimento, riflessioni sulle lenti, ecc.), B è la brillanza del corpo luminoso (vedremo da cosa dipende) ed M_c è l'ingrandimento del collettore. Anche dal punto di vista fotometrico, si vede che esistono dei vincoli fra i vari parametri del sistema. Per es., si potrebbe pensare di aumentare l'illuminazione (E) nel piano del diaframma d'apertura diminuendo l'ingrandimento del collettore (M_c) cioè aumentandone la focale; ma questo porterebbe a ridurre la zona illuminata nel diaframma d'apertura (Q') e quindi l'apertura utile del condensatore.

Sta al progettista trovare il miglior compromesso fra i vari parametri ed ottimizzare il sistema; all'utente restano da compiere poche scelte, a parte l'allineamento del sistema come descritto nel § 8.9:

- scelta del tipo di condensatore o della sua configurazione (vedi i §§ 21.1.3, 21.1.4 e 21.1.5);
- variazione della distanza della sorgente, quando è possibile (vedi i §§ 21.1.7 e 22.2);
- scelta del collettore o di lenti intermedie, nei rari casi in cui ciò è possibile;
- utilizzo del tipo prescritto di "lampadina".

22.2.3 - Le aberrazioni del collettore

Sono poche quelle che hanno un qualche interesse pratico.

◊◊ La cromatica: questa aberrazione fa sì che l'immagine del filamento che si forma nel piano del diaframma d'apertura (Q' in fig. 32) sia circondata da aloni colorati; l'illuminazione in quel piano non è quindi omogenea, neppure come colore. In pratica, questo effetto può solo produrre qualche impercettibile danno alla risoluzione con gli obbiettivi più forti o qualche lieve "dominante" di colore.

◊◊ La sferica: qui si ha un effetto rilevante: le varie zone del collettore producono fasci, di diversa apertura naturalmente, che non si incontrano nello stesso punto. Guardando dal punto di vista del condensatore, il collettore appare di luminosità non uniforme (si veda in proposito la fig. 92, in cui un collettore scadente è stato fotografato proprio ponendo l'obbiettivo fotografico al posto del condensatore): i fasci (le zone) che convergono in un punto prima o dopo il piano del diaframma d'apertura non partecipano, o solo in parte, alla formazione del fascio illuminante; ne risulta che anche il piano oggetto (in cui si forma un'immagine più o meno a fuoco del collettore) non è uniformemente illuminato. Un tale effetto si rivela più facilmente ai bassi ingrandimenti e col diaframma d'apertura molto chiuso: in questo modo, i fasci (le zone) con inclinazione errata vengono tagliati dal diaframma stesso proprio perché si incontrano su un piano diverso e la chiusura del diaframma impedisce loro di proseguire; solo i fasci che convergono esattamente nel piano del diaframma vengono utilizzati.

Fig. 92 – Il diaframma di campo non è illuminato uniformemente e s'intravede una traccia della struttura del filamento (le cui spire sono dirette verticalmente).
Foto originale di prodotto Wild Heeerbrugg (CH) e Kodak, N.Y., USA

Per correggere la sferica del collettore vengono usati gli stessi mezzi usati nei condensatori: sistemi complessi a più lenti o superfici asferiche, con esclusione delle lenti incollate per via del riscaldamento (vedi il § 21.7).

22.2.4 - Le superfici smerigliate

Nel § 12.4 si è visto che, a causa dell'ingrandimento longitudinale, l'immagine del filamento prodotta dal collettore è molto estesa in direzione longitudinale.

In questo modo, essa si può trovare, più o meno sfocata, anche sul piano oggetto rendendo l'illuminazione di questo poco omogenea. Per ovviare a questo inconveniente, assai frequente, molti costruttori dispongono vicino al collettore una superficie smerigliata per distruggere o annebbiare l'immagine del filamento. La luce diffusa da questa superficie andrà in parte perduta cadendo fuori del diaframma d'apertura ma, se la superficie è posta fra filamento e collettore, l'ampia apertura del fascio diffuso viene in buona parte recuperata dal collettore stesso, che possiede appunto una forte apertura. La perdita fotometrica è quindi ridotta. A volte la superficie smerigliata è su una delle lenti, e quindi è fissa; meglio se è su una superficie interna (perchè si sporca meno).

A volte vi è una lamina smerigliata fra collettore e lampadina; se è estraibile, è la soluzione migliore (ai forti ingrandimenti è meglio toglierla). Se il vetro smerigliato è fra collettore e condensatore, la perdita fotometrica è forte per la poca apertura del fascio in quella regione, ed inoltre tale vetro dovrà essere lontano dal diaframma di campo affinché la sua "grana" non cada a fuoco sul piano oggetto.

22.3 - Il DIAFRAMMA di CAMPO ILLUMINATO

L'immagine di questo diaframma, detto semplicemente "**diaframma di campo**", si forma nel piano dell'oggetto, del vetrino, ad opera di un condensatore ben focalizzato. Tale diaframma delimita dunque la porzione illuminata dell'oggetto, cioè il "campo illuminato". Di ciò si è parlato più volte (vedi i discorsi sul campo del condensatore nel § 22.1, sul diametro del diaframma di campo nel § 22.1.2, ecc.). Ricordiamo solo alcuni punti.

Il diaframma di campo (Dc in fig. 32) è un diaframma ad iride, con un diametro massimo non superiore a quello utile delle lenti del collettore (raramente più di 40 mm), ed un diametro minimo di un paio di mm (non inferiore per ragioni meccaniche). A volte tale diaframma è centrabile rispetto al collettore, ma in questo senso la sua centratura non è critica e normalmente la sua posizione è fissa. Qualche costruttore adopera la centratura di Dc invece di quella del condensatore per centrare il campo illuminato, ed è una soluzione più corretta di altre.

La distanza fra diaframma di campo e collettore è molto legata alla struttura meccanica del sistema; è bene che essa sia piuttosto grande, almeno un paio di cm, poiché in questo modo i granelli di polvere od altre irregolarità presenti sulle lenti del collettore non vanno a fuoco sul piano oggetto: su quest'ultimo deve essere a fuoco solo l'orlo del diaframma di campo. In altre parole, il diaframma di campo è coniugato con l'oggetto, con l'immagine intermedia e con la retina dell'occhio; pertanto, ogni granello od imperfezione presente in uno di questi piani è visto come un corpo estraneo sovrapposto all'immagine utile. È sempre utile quindi allontanare da questi piani ogni superficie ottica, come appunto il collettore. Purtroppo,

si vedono abbastanza distintamente anche le imperfezioni presenti su superfici vicine, che non si possono in genere allontanare, come la superficie superiore della lente frontale del condensatore, la lente di campo dell'oculare, ecc.

22.4 - LO SPECCHIO SFERICO POSTERIORE

Pensiamo ad un proiettore da diapositive ed al suo sistema illuminante.

Si trova un principio di funzionamento simile allo schema di Köhler (vedi il § 8.8). Infatti vi è una lampadina elettrica, un "condensatore" formato in genere da due lenti, e l'obbiettivo da proiezione. Questo "condensatore" proietta un'immagine del filamento nella pupilla dell'obbiettivo, non sull'oggetto (cioè sulla diapositiva); il piano dell'oggetto non è illuminato dall'immagine del filamento, ma da una lente. Ebbene, si può paragonare il "condensatore" del proiettore al collettore della microlampada, e si attua nel proiettore il principio fondamentale di Köhler, cioè di illuminare l'oggetto non con un'immagine del corpo luminoso, ma con il fascio che attraversa una lente.

A parte questi parallelismi, vogliamo far notare che dietro la lampadina del proiettore, dalla parte opposta rispetto al "condensatore", vi è uno specchio sferico concavo, centrato sull'asse ottico comune del sistema. Il filamento della lampadina si trova vicino al centro di curvatura dello specchio; in queste condizioni, si può dimostrare che lo specchio forma un'immagine reale rovesciata del filamento, in rapporto d'ingrandimento 1:1 , nei pressi del filamento stesso. Con appositi dispositivi meccanici, si può decentrare leggermente il filamento in modo che la sua immagine non cada su di esso, ma vicino ad esso. Se filamento ed immagine coincidessero, la radiazione che concorre nell'immagine verrebbe assorbita dal filamento (che magari si surriscalderebbe) ed andrebbe perduta; se l'immagine si forma contigua al filamento (e ci si riesce con le viti di centratura della lampadina) si ha un corpo luminoso (filamento + immagine reale) di dimensioni doppie; anche il flusso di energia raddoppia poiché l'immagine, a parte le perdite dello specchio, ha la stessa brillanza del filamento; si suppone naturalmente che l'apertura dello specchio sia la stessa di quella del "condensatore".

Lo specchio sferico inoltre non consente solo di aumentare il rendimento fotometrico del proiettore: se il filamento è allungato, il complesso del filamento + immagine del medesimo (supposti accostati i lati lunghi di entrambi) può apparire quadrato e riempire meglio la pupilla dell'obbiettivo, che è circolare.

Similmente, molte microlampade dispongono di uno specchio concavo concentrico al filamento, che serve a raddoppiare o quasi il flusso utilizzato da parte del collettore ed a fornire un'immagine circa quadrata di un filamento allungato. A volte, questo specchio è fisso, centrato dal costruttore; a volte è munito di viti di centratura che permettono di centrare l'immagine del filamento dopo aver centrato quest'ultimo, in modo che il collettore fornisca un'immagine di entrambi all'interno del diaframma d'apertura.

A volte, lo specchio sferico è del tipo "freddo", vale a dire è costituito da un sistema di strati sottili che, per fenomeni interferenziali (vedi il § 22.1.3), riflettono in prevalenza lo spettro ottico e trasmettono (fuori dal sistema) l'infrarosso, in modo da ridurre il riscaldamento dell'oggetto del microscopio.

22.5 - IL PORTA FILTRI

Il posto più adatto per sistemare la maggioranza dei filtri (colorati, anticalorifici, di eccitazione della fluorescenza, ecc.) è subito sotto il condensatore del microscopio poiché tale piano è sempre coniugato molto lontano dal piano oggetto e la polvere o i corpi estranei presenti sul filtro risultano troppo sfocati per arrecare fastidio.

Ma i normali condensatori contengono al massimo un porta-filtri, e ciò non basta in molti casi. Altre sedi per filtri possono venir predisposte in altri luoghi, e spesso nei pressi della microlampada. Per le solite ragioni, di non mettere a fuoco la polvere, è bene che queste sedi siano più lontano possibile dal diaframma di campo; inoltre tali sedi (ed i relativi filtri) dovranno essere abbastanza grandi da non vignettare il fascio illuminante.

Le sedi per filtri possono essere singolarmente estraibili, in modo che si possono inserire due o più filtri simultaneamente. In altri casi, vi sono dei dischi-revolver con quattro o cinque sedi o dei sistemi a pulsanti; ma hanno il difetto che si può inserire un solo filtro per volta. Le medesime sedi debbono possedere un sistema di blocco che impedisca al filtro di uscire dalla sede e rompersi, ma nello stesso tempo permetta una facile sostituzione.

Quando la microlampada è esterna allo stativo, è generalmente munita di un portafiltri anche multiplo; se è interna, la sede per i filtri può trovarsi nei punti più impensati dello stativo.

22.6 - IL CORPO LUMINOSO

Sempre con riferimento alla fig. 32, la vera sorgente di radiazione della microlampada, e quindi del microscopio, è un corpo luminoso (Q in fig. 32).

I vari sistemi illuminanti descritti a suo tempo (vedi i §§ da 8.4 a 8.8) adoperano variamente il flusso prodotto da esso. Poiché è il più diffuso ed il più completo, noi ci baseremo sempre sullo schema di Köhler e sappiamo che l'essenza di questo schema sta nel proiettare l'immagine del corpo luminoso non sul piano oggetto ma sul condensatore. Il sistema di Köhler nacque proprio quando le vecchie lampade a fiamma o ad arco (a struttura omogenea) adatte all'illuminazione critica furono soppiantate dalle lampade ad incandescenza, con filamento ad elica e quindi a luminosità non omogenea. A. Köhler si propose proprio di ottenere un'illuminazione omogenea dell'oggetto con un corpo luminoso irregolare.

Il corpo luminoso è un oggetto che emette radiazione nel campo ottico (λ compresa fra 400 e 800 nm) ed eccezionalmente (tecnica della fluorescenza) nella banda UV (200-400 nm) o (microscopi in infrarosso) nella banda IR (800-10˙000 nm).

Lo **spettro di emissione** di un corpo luminoso può essere "**continuo**" se la banda di lunghezze d'onda emesse è ininterrotta, "**a bande**" se si tratta di una o più bande relativamente larghe, continue al loro interno ma separate da bande di non emissione, e "**a righe**" se l'emissione è concentrata in bande ristrette (di pochi nm di larghezza) separate da regioni di emissione trascurabile. Tranne quelle a vapori di mercurio, le sorgenti usate in microscopia sono quasi sempre a spettro continuo; a bande i LED, anche quelli cosiddetti "a luce bianca".

Nella fotografia a colori interessa di uno spettro continuo di qualunque sorgente il rapporto dell'energia contenuta nelle due bande estreme ("blu" e "rossa"); tale rapporto è legato alla temperatura del corpo luminoso e si esprime appunto a mezzo di un valore di temperatura detto "**temperatura di colore**" o TC. La TC attribuita ad una sorgente è la temperatura del "**corpo nero**" o radiatore integrale[138] che emette energia con una distribuzione spettrale paragonabile a quella della sorgente in esame. La TC si esprime in gradi assoluti o Kelvin[139] (°K) pari ai gradi centigradi o Celsius[140] (°C) + la temperatura dello zero assoluto [141] (- 273 °C, da sommarsi senza riguardo al segno).

Una TC più bassa indica prevalenza di rosso; aumentando la temperatura assoluta di un corpo a partire dalla temperatura ambiente, aumenta la sua TC, cioè il massimo della radiazione da esso irradiata si sposta, dall'infrarosso al rosso, arancio, giallo, ... , blu, ma oltre un certo limite la sorgente si distrugge. La TC di un filamento di tungsteno può essere più alta della temperatura effettiva, fino a 150°C in più.

Una differenza di TC superiore a 100 °K fra radiazione della sorgente e sensibilità di un'emulsione fotografica a colori porta ad un colore **dominante** nella foto sviluppata.

La TC del cielo varia da 5˙000 a 8˙000 °K ed è pari a 5˙500 °K con cielo parzialmente nuvoloso.

In maggioranza, le sorgenti usate sul microscopio sono artificiali : 1) a solido incandescente (filamento di tungsteno o simili); 2) ad arco (plasma ed elettrodo arroventato); 3) a semiconduttore (LED), tutte ad alimentazione elettrica; 4) a fiamma, cioè a combustione.

22.6.1 - Sorgenti ad incandescenza

Il corpo luminoso è un filamento o un nastro di **tungsteno** (o wolframio) che è un metallo ad alto punto di fusione (3410°C), racchiuso in un'ampolla di vetro o silice, vuota o ripiena di gas inerte, magari a pressione moderata per limitare l'ossidazione e l'evaporazione del metallo.

L'incandescenza del filamento è prodotta dal calore generato dalla corrente elettrica di alimentazione. Variando la tensione di alimentazione V, varia la temperatura e la TC del filamento, la sua brillanza e la durata della vita. Un aumento di V del 25 % raddoppia o triplica la brillanza e riduce la vita a meno del 6 % del valore iniziale. La vita dimezza per un aumento di V del 5 % circa. La fig. 93 mostra le variazioni percentuali (in ordinata) di flusso totale (f, in lumen), di rendimento (r, in lumen/watt), di potenza (p, in watt), di corrente (c, in ampere), di resistenza elettrica (o, in ohm), sempre al variare percentuale di V (ascissa). La brillanza del filamento varia con l'ottava o decima potenza della temperatura, la quale varia al variare di V secondo la:

$$V'/V'' = (T'/T'')^{2,7} \qquad (74)$$

in cui T' e T'' sono le temperature alle tensioni V' e V''.

Il vantaggio delle sorgenti ad incandescenza sta proprio nella possibilità di variare brillanza e flusso variando V. Per variare V non si usa una resistenza in serie che dissiperebbe

---

[138] Il "corpo nero" è un radiatore che trasforma integralmente in radiazione elettromagnetica tutta l'energia che possiede ed assorbe tutta la radiazione che riceve; un metallo incandescente si avvicina molto a questo comportamento.

[139] Lord William Thomson KELVIN (1824-1907), fisico inglese.

[140] Anders CELSIUS (1701-1744), astronomo svedese.

[141] È la temperatura alla quale un corpo non possiede alcuna energia termica, nel senso che non può essere ulteriormente raffreddato.

troppa potenza, ma un trasformatore variabile ("Variac") o a prese multiple o un circuito a semiconduttori (SCR, triac, od altro). Quando si accende una lampada a tungsteno, è bene partire da tensione bassa ed aumentarla gradatamente per aumentare la vita del filamento: a freddo infatti il filamento ha resistenza minore e sopporta un picco di corrente all'accensione.

Lo spettro del tungsteno incandescente è continuo ma con TC relativamente bassa; esso va compensato con appositi filtri "di compensazione" (§ 23.2) per il riconoscimento diagnostico dei colori (metodo di colorazione dei batteri sec. Gram , ad es.) o nella fotografia a colori con pellicole "daylight".

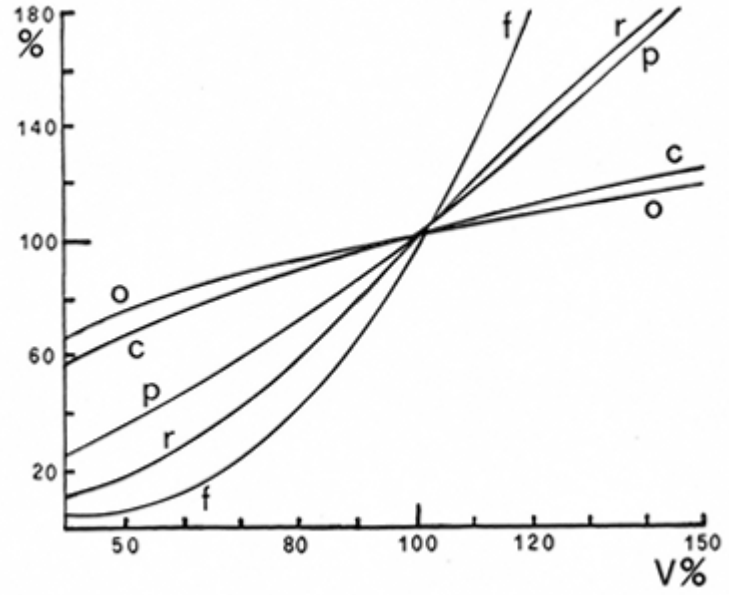


Fig. 93 – Da: R. Kingslake, "Applied Optics and Optical Engineering", Academic Press, N.Y. 1965

La massima emissione del tungsteno si ha fra 1μ a 2˙500°K e 0,8μ a 3˙400°K effettivi. Sotto i 2˙000°K, un filamento a tungsteno non emette nello spettro ottico; le lampade da microscopio hanno una TC nominale che oscilla fra 2˙500 e 3˙400 °K . Più su, il tungsteno accelera la sublimazione (vedi nota 1 nel § 22.6.1.3) e poi comincia a fondere.

La tensione di alimentazione di tali lampade oscilla fra 4 e 220 V (continua o alternata); la potenza fra 5 e 150 W, il flusso fra 5 e 2˙500 lumen, la brillanza fra 1˙000 e 2˙000 stilb. La vita nominale va da 50 a 2˙000 ore.

In corrente alternata, il flusso e la TC di un filamento seguono le variazioni della potenza dissipata, con frequenza doppia delle variazioni di tensione[142] e con un certo ritardo a causa dell'inerzia termica. La variazione di flusso, detta "**ondulazione**" o "flicker", si esprime come:

$$O\,\% = \frac{J_{max} - J_{min}}{J_{max} + J_{min}} \times 100 \qquad (75)$$

in cui J_{max} e J_{min} indicano i flussi massimo e minimo.

Per le comuni ampolle, O varia da 5 a 50 %, ed è minore quando il filamento è più grosso e compatto.

Va notata anche la tolleranza nella posizione del filamento rispetto allo zoccolo, che può arrivare a ± 3 mm; l'immagine del filamento data da un collettore con un ingrandimento di

[142] Il massimo di potenza si ha sia con le semionde positive che con quelle negative.

10:1 ad es., avrà in quel caso una tolleranza di posizione trasversale di ± 30 mm e quindi può uscire del tutto dal perimetro del diaframma d'apertura; ciò spiega la necessità di un meccanismo di centratura del corpo luminoso o di "precentratura" delle lampadine (vedi i §§ 22.7 e 22.8).

22.6.1.1 - Sorgenti ad incandescenza a tensione di rete

Tali lampadine si collegano alla rete elettrica senza trasformatore o altri organi intermedi; il filamento però deve possedere elevata resistenza e quindi deve essere molto sottile, lungo ed esteso, spesso ripiegato a zig-zag o a C. Pertanto non è pratico l'uso di un collettore che non potrebbe fornire nel diaframma d'apertura una macchia di luce concentrata.

In genere queste lampade "a collegamento diretto" hanno potenza non superiore a 25 W a causa della produzione di calore e si usano con vetro smerigliato o con bulbo opale per realizzare l'illuminazione critica con diffusore. La resa fotometrica è scarsa, appunto per la presenza di un diffusore e la mancanza di un collettore.

22.6.1.2 - Sorgenti a filamento concentrato

Si tratta di filamenti corti e grossi avvolti in eliche compatte di poche spire. L'omogeneità raggiunta è sufficiente per un illuminatore sec. Köhler, mentre per l'illuminazione critica occorre un diffusore.

Il filamento rivolge verso il collettore una superficie rettangolare o quadrata, meglio se quadrata per riempire nel miglior modo la pupilla del condensatore. La posizione all'interno del bulbo è a volte eccentrica. La resistenza elettrica è piccola, proprio perché il filamento è corto e la tensione di esercizio varia da 4 a 24 V ("**bassa tensione**"). Ciò richiede un trasformatore o altro organo capace di abbassare la tensione di rete. Però le piccole dimensioni del filamento (spesso intorno a 2×3 mm) permettono l'uso di un collettore a bassa focale ed elevata apertura, con elevato rendimento. Per questo motivo, un'ampolla a filamento concentrato da 6 V - 15 W con collettore può dare un'immagine finale (a parità di altre condizioni) con illuminazione maggiore di un'ampolla a tensione di rete da 50 W con diffusore.

I tipi più usati hanno TC da 2˙600 a 3˙200 °K, potenza da 5 a 150 W, vita da 100 a 2˙000 ore, flusso da 5 a 1˙000 lumen, brillanza da 1˙000 a 2˙000 stilb.

La presenza di un trasformatore permette di variare con semplici mezzi la tensione di alimentazione e quindi la brillanza del filamento; si ricordi però che, abbassando la tensione di alimentazione V , si abbassa anche la TC , il che nuocerà al riconoscimento dei colori dell'oggetto ed alla fotografia a colori.

22.6.1.3 - Sorgenti "al quarzo - jodio" o "ad alogeni"

Nelle sorgenti finora esaminate, l'alta temperatura del filamento provoca la sublimazione[143] del metallo che annerisce gradatamente il bulbo e causa l'assottigliarsi del filamento stesso fino alla rottura.

Si evita questo dannoso fenomeno introducendo nell'ampolla un alogeno (in genere jodio) che si combina coi vapori di tungsteno a temperatura relativamente bassa; il composto si decompone poi a contatto col filamento (se incandescente) depositando su di esso nuovamente il metallo. La combinazione jodio-tungsteno avviene però solo a 250 °C circa e

[143] Per sublimazione s'intende il passaggio diretto di un corpo dallo stato solido al gassoso (vapore), senza attraversare una fase liquida.

questa deve essere la temperatura del bulbo il quale perciò sarà piccolo e fabbricato con silice per resistere a tali temperature. L'assenza di annerimento del bulbo permette un rendimento costante per tutta la vita dell'ampolla. Il recupero dei vapori di tungsteno permette, a parità di vita, una TC ed un rendimento più elevati rispetto ai tipi classici; generalmente le ampolle allo jodio (si può scrivere anche "iodio") sono alimentate per una TC di 3˙200 - 3˙400 °K con una vita di almeno 50 ore. Il tipo più usato, 12 V - 100 W, ha un flusso di 2˙700 lumen, un rendimento di 29 lumen/watt, dimensioni del filamento: 2 × 4 mm.

Rispetto ai tipi convenzionali a filamento concentrato, le ampolle "ad **alogenuri**"[144] o "ad alogeni" (non sempre contengono jodio, vedi la nota in calce) hanno vita più breve, ma TC e brillanza maggiore. Sono adatte a tutte le tecniche, esclusa forse la fluorescenza in UV. Esse stanno quindi soppiantando le altre lampadine ad incandescenza.

Non ci dilunghiamo qui sulle **sorgenti a LED** poiché si tratta di una tecnologia in continuo cambiamento. Del resto i LED spesso non sono adatti alla microscopia per vari motivi: − le dimensioni del corpo luminoso, anche se dotato di un involucro bombato con funzioni di lente convergente, sono in genere troppo piccole; − la struttura spesso non è omogenea in quanto formata da 2 − 4 corpi luminosi piccoli e ravvicinati; − la TC non è generalmente nota e comunque lo spettro di emissione non è continuo, ma a bande; − la TC varia in maniera imprevedibile con la tensione d'alimentazione; − la brillanza non varia in maniera lineare con la tensione e non è sempre regolabile a piacere.

I LED sono in genere fissati su una base opaca e lo specchio posteriore di molte microlampade diviene inutile.

22.6.2 - Sorgenti ad arco

La sorgente di calore è un arco elettrico che si stabilisce fra due elettrodi ravvicinati in atmosfera gassosa. L'arco è sostenuto da una corrente a forte intensità e bassa tensione.

Il corpo radiante è dato dall'estremità di uno o entrambi gli elettrodi arroventati dall'arco e/o dal plasma creato fra di essi. La forte dissipazione di calore obbliga a tenere lontano il collettore il quale avrà perciò una ridotta apertura. Ciò nonostante, sono queste le sorgenti più intense, preziose per la micro-proiezione, l'ultra-microscopia e la fluorescenza in UV.

Non essendovi il pericolo di fusione del filamento, la temperatura effettiva e la TC possono superare 10˙000 °K. Spesso gli archi hanno una resistenza elettrica negativa[145] per cui occorre un'impedenza in serie ("**ballast**"), limitatrice di corrente: senza quest'ultima, ad una diminuzione della tensione applicata seguirebbe un aumento di corrente ed una normale fluttuazione dell'alimentazione provocherebbe prima o poi una specie di corto circuito. Inoltre, l'accensione spesso richiede o un momentaneo contatto fra gli elettrodi o un impulso di tensione assai forte e breve.

L'emissione in UV è forte, il che è pericoloso per gli occhi e richiede opportune cautele.

◊◊ Archi a bassa intensità. Gli elettrodi di carbone o metallo sono in aria libera; si richiede corrente rettificata o continua. Il corpo radiante è dato dall'estremità incandescente dell'elettrodo positivo, il cui punto di sublimazione pone un limite alla TC. Gli elettrodi di carbone di storta permettono una TC di 3˙600 - 3˙800 °K, con una emissione fra 0,3 e 4,2 μ ;

---

[144] Alogenuro è un composto di un alogeno (come lo jodio) con un metallo, per es. lo joduro di tungsteno. Alogeni sono quattro metalloidi : jodio, bromo, cloro e fluoro.

[145] E perciò non obbediscono alla legge di Ohm.

curva di emissione molto simile a quella del corpo nero (massimo ad 1 μ, con stretto picco a 390 nm).

L'arco a carbone, come quello "a fiamma", quello "ad alta intensità", ecc. sono quasi inutilizzati attualmente in microscopia.

◊◊ Archi concentrati. Sono archi corti fra elettrodi metallici, come l'arco "a **zirconio**"; uno degli elettrodi è cavo e pieno di ossido di zirconio, che è la vera sorgente. Si usa a volte un tipo da 40 W, 3 A e 50 V con resistenza "ballast"; diametro della sorgente poco più di 1 mm. La TC è elevata (3˙200 °K), lo spettro di emissione è abbastanza continuo (nella regione ottica) e la tensione di alimentazione può essere variata entro ampi limiti (purché continua).

◊◊ Archi compatti a plasma ("bruciatori"). Sono archi concentrati che creano un plasma, che è la vera sorgente. Sono racchiusi in un involucro di silice con atmosfera gassosa, in cui la temperatura può salire a centinaia di gradi e la pressione a decine di atmosfere. Esiste quindi il pericolo di violente esplosioni[146]; rimane poi il pericolo della forte emissione UV . Gli archi a plasma sono più pratici e più intensi degli archi a carbone, che hanno soppiantato anche in altre applicazioni (proiettori cinematografici). La distanza fra gli elettrodi va da 0,2 a 10 mm; la resistenza elettrica è ancora negativa, per cui si richiede l'impedenza in serie. L'impulso iniziale di accensione è ancora necessario; spesso è opportuno poter variare leggermente la corrente (non la tensione) di alimentazione per tener conto delle differenze individuali fra una lampada e l'altra; alimentatore e lampada sono quindi complessi e costosi. Vi sono archi compatti per corrente alternata con elettrodi uguali; gli altri, per corrente continua o raddrizzata, andrebbero preferiti perché sono più stabili ed hanno vita più lunga; in essi l'anodo è più voluminoso perché scalda di più; l'arco è più brillante presso il catodo.

Gli archi alimentati in corrente alternata o raddrizzata hanno una forte ondulazione (vedi il § 22.6.1) per la loro scarsa inerzia termica. La tolleranza sulla corrente di alimentazione è dell'ordine di ± 10 % per cui non è possibile variare la brillanza o il flusso variando i parametri dell'alimentatore. È questo uno svantaggio rispetto alle ampolle a tungsteno; ed inoltre vi è il pericolo di esplosioni, l'elevato irraggiamento UV, la complessità dell'alimentatore, ecc. Gli archi più corti, a parità di potenza, hanno maggior brillanza ma minor flusso totale.

La morte di questo tipo di archi deriva dalla sublimazione degli elettrodi che anneriscono il bulbo (diminuzione di brillanza, aumento di temperatura del bulbo per il più forte assorbimento, aumentato pericolo di esplosioni), oppure da una difficoltà all'innesco o da eccessiva instabilità dell'arco.

I tipi più usati sono due:

•• Archi compatti in **xeno**. Quando l'ampolla è ripiena del gas "nobile" xeno, l'arco è stabile, ha vita lunghissima (1˙000 - 2˙000 ore) ed emette uno spettro continuo con TC prossima a quella del cielo (5˙500 - 6˙000 °K), come si vede dalla fig. 94. Si presta quindi per TUTTE le tecniche, a cominciare dalla fotografia a colori con pellicole "per luce diurna" senza bisogno di filtri di compensazione. Per la forte dissipazione di calore, la microlampada deve essere esterna allo stativo ed il collettore deve essere costruito in silice (molto resistente agli sbalzi di temperatura) che è anche trasparente all'UV. Dietro l'ampolla si pone spesso lo specchio sferico (§ 22.4) per un recupero del flusso emesso in direzione opposta al collettore.

Un arco molto usato è l'OSRAM XBO 162, da 160 W, 20 V, 3˙200 lumen, 9˙000 stilb,

[146] Gli archi in vapori di mercurio riducono molto la pressione interna quando sono spenti, e pertanto sono meno pericolosi; quelli in xeno sono in pressione anche da spenti e pertanto possono esplodere in qualunque momento, se urtati.

per corrente alternata o continua. Lunghezza dell'arco: 2 - 3 mm.

•• Archi compatti in **vapori di mercurio** ad altissima pressione. Sono le sorgenti più forti e più ricche di UV usate in microscopia. Il bulbo contiene una piccola quantità di mercurio liquido che l'arco fa evaporare creando una pressione di qualche decina di atmosfere. La brillanza è alcune volte maggiore che negli archi in xeno, specie negli archi piccoli. Lo spettro emesso è a righe (le principali alla lunghezza d'onda di 366, 406, 435 e 546 nm, senza contare le altre righe in UV − fig. 95).

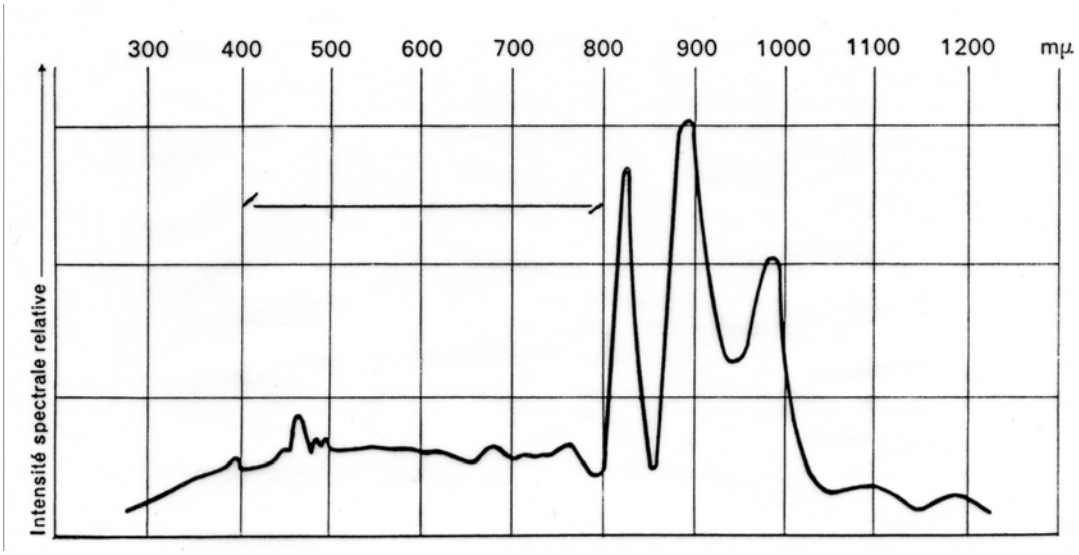


Fig. 94 Da: Wild Herbrugg, Catalogo M! – 302, 1963

Lo spettro a righe impedisce una definizione della TC, che oscilla comunque fra 7˙000 e 10˙000 °K. Questa struttura a righe dello spettro non si presta alla fotografia (specie a colori) ed è sgradevole anche per l'osservazione (difficile riconoscimento dei colori) ma, con opportuni filtri a banda stretta, consente l'isolamento di radiazioni quasi monocromatiche. Vedi la fig. 95. Queste "righe" di massima emissione delle lampade a mercurio sono ampiamente utilizzate nella tecnica della fluorescenza per la "eccitazione" dell'oggetto, ed è questo un vasto campo per una loro specifica applicazione.

La vita di questi "bruciatori" è modesta (100 - 300 ore); l'accensione richiede sempre un impulso ad alta tensione e la resistenza negativa impone l'uso del "ballast"; dopo l'accensione, occorre lasciar passare qualche minuto prima di spegnere e così dopo lo spegnimento. Accensioni frequenti accorciano la vita della lampada.

Sono molto usate le ampolle OSRAM HBO 75 W ed HBO 200 W con un arco di 2-3 mm, una brillanza rispettivamente di 6˙000 e 30˙000 stilb, un flusso di 2˙500 e 9˙500 lumen. La casa NIKON usa un bruciatore da 100 W, con arco piccolissimo (pochi decimi di millimetro). Molto diffuso è anche un arco da 50 W.

Le lampade a mercurio vanno riservate alla micro-proiezione ed alle ricerche in UV (fluorescenza, ecc.).

A freddo, le lampade a vapori di mercurio hanno una pressione interna piccola a causa della condensazione dei vapori; sono perciò meno pericolose di quelle a Xeno, che rimangono in pressione anche a freddo.

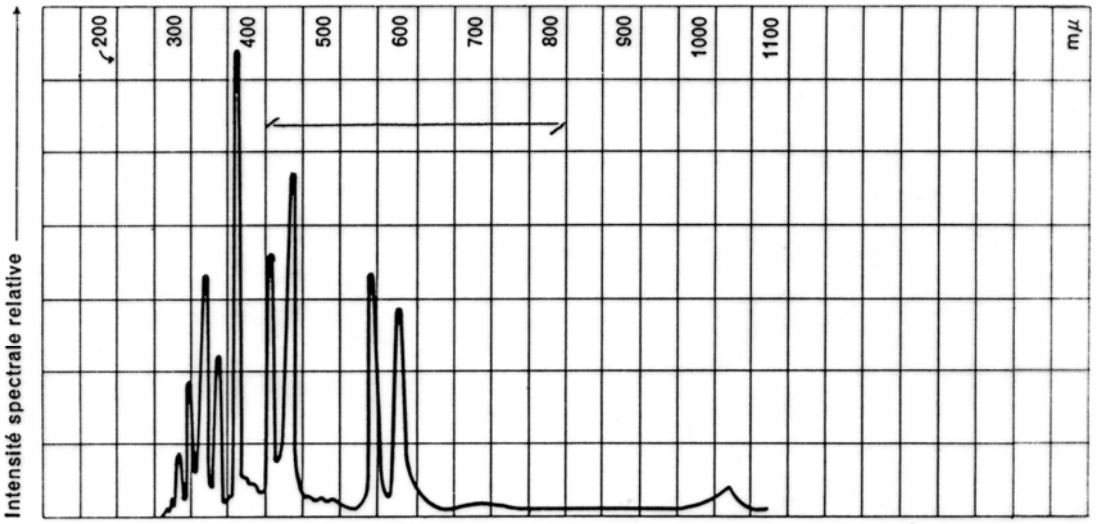


Fig. 95 Da: Wild Herbrugg, Catalogo M1 – 302, 1963

22.6.3 - Sorgenti a fiamma

Accenniamo qui ad alcune sorgenti in cui il corpo luminoso è costituito dalla fiamma che si stacca da un combustibile solido o, più spesso, liquido o gassoso.

Alludiamo alle "**lampade a petrolio**" o "**ad acetilene**" o "**a gas**". A volte, la fiamma del gas è poco luminosa di per sé, ma rende incandescente un corpo solido, per es. una reticella contenente ossido di torio (99 %) e di cerio (1 %): è questa la "lampada o **becco Auer**"[147] o "**reticella Auer**".

La brillanza delle lampade a petrolio ed a gas non è elevata, mentre è molto maggiore nelle lampade Auer. Senza entrare nei dettagli costruttivi, va detto che tali lampade anche se più scomode di quelle ad alimentazione elettrica, trovano impiego "sul campo" o in località dove manca l'energia elettrica. Spesso, la loro brillanza è sufficientemente omogenea su buona parte della loro superficie, quanto basta a consentire uno schema di illuminazione critica senza diffusore ed anche senza collettore (vedi i §§ 8.6 e 8.7). In altre parole, dato un microscopio con un normale condensatore ed uno specchio orientabile, una lampada a fiamma può dare risultati soddisfacenti anche dal punto di vista fotometrico, senza bisogno di microlampada. Anche la costanza nel tempo di queste lampade è sufficiente, almeno per l'osservazione visuale.

22.6.4 - Caratteristiche del corpo luminoso

Della composizione spettrale e della **temperatura di colore** (TC) si è già accennato nel § 22.6.

Ricordiamo solo che in certi casi (colorazioni selettive con valore diagnostico, colori di interferenza in radiazione polarizzata, fotografia a colori, ecc.) ha molta importanza

[147] Karl AUER, barone di Welsbach (1858-1929), chimico austriaco.

l'apprezzamento del colore nell'immagine dell'oggetto e quindi la TC della sorgente; la presenza di una "**dominante**" di colore in un'immagine può dare false interpretazioni. Anche l'aberrazione cromatica del condensatore (vedi il § 21.7) può dare una dominante, che varia focalizzando il condensatore stesso. Per ben valutare la situazione esistono appositi "**colorimetri**".

Nelle sorgenti ad incandescenza, come si è detto, la TC è piuttosto bassa: anche alimentandole a tensione nominale, si oscilla fra 2˙600°K e 3˙400°K; per l'osservazione visuale è opportuno inserire nella o presso la microlampada un "**filtro diurno**", cioè un filtro di compensazione che trasmette in maggior misura le lunghezze d'onda minori e quindi appare azzurrognolo ed innalza la TC (nei filtri più comuni, di circa 1˙000 °K). Per la fotografia a colori, occorre essere più precisi ed usare filtri di compensazione in grado di innalzare la TC in misura maggiore e definita, supponendo che la lampada sia alimentata alla tensione nominale e tenuto conto della TC per cui è progettata la pellicola. Esistono in questo senso pellicole per "**luce diurna**" o "**daylight**" (TC = 5˙000 o 6˙000 °K), pellicole per "**luce artificiale**" di tipo A (TC = 3˙400 °K) e tipo B (TC = 3˙200 °K). È ovvio che, per una pellicola "daylight", la TC della sorgente ad incandescenza dovrà essere innalzata parecchio e si dovrà usare un filtro di compensazione[148] più scuro, per es. il Kodak **Wratten** 80 A od 80 B.

Le lampade ad arco in xeno sono adattissime per la visione e la fotografia con pellicole "diurne" perché la loro TC corrisponde a quella della "luce diurna" media. Quelle a mercurio invece, per il loro spettro a righe, sono inadatte sia alla visione che alla fotografia, e non vi è filtro di compensazione che tenga, poiché un tale filtro ha sempre una curva di trasmissione continua, senza gradini, e non può tener conto delle "righe".

Nella pratica, le sorgenti ad incandescenza vengono spesso "sotto-voltate", cioè alimentate a tensione inferiore a quella nominale, sia per ridurre la "luminosità" dell'immagine, sia per allungare la vita (vedi il § 22.6.1). Ciò porta però ad una riduzione della TC, in maniera difficilmente valutabile, per cui <u>la foto va scattata solo con lampada a tensione nominale.</u>

La **brillanza**. Abbiamo visto nel § 22.2.2 (formula (73)) che uno dei fattori che determinano l'illuminazione E nell'immagine del microscopio è la brillanza B del corpo luminoso della microlampada.

Per brillanza o **luminanza** B s'intende il flusso emesso da una sorgente per ogni cm^2 della sua superficie e per ogni steradiante (unità di misura dell'angolo solido: una sfera intera corrisponde a 4π steradianti). L'unità di misura della brillanza è lo stilb (sb) pari ad un flusso di un lumen per cm^2 e per steradiante[149].

La brillanza della sorgente va scelta in base al lavoro da eseguire, alla sensibilità dell'emulsione fotografica, ecc. I valori più elevati vengono richiesti, in ordine crescente, in fotografia, in contrasto di fase, in contrasto interferenziale, in campo scuro, in radiazione polarizzata, in fluorescenza, in micro-proiezione. E sempre di più ai più forti ingrandimenti.

Nel § 22.6.1 (fig. 93) si è vista la dipendenza dei vari parametri di un filamento di tungsteno dalla tensione di alimentazione V (in ascissa) ed in particolare la dipendenza del flusso (f, in figura) e quindi della brillanza. Flusso e brillanza dipendono infatti dalla temperatura T che dipende dalla tensione V . Il rapporto fra tensione e temperatura è dato dalla (74); invece il rapporto fra energia emessa da un filamento e temperatura è dato dalla legge di **Stefan - Boltzmann**[150] :

---

[148] Sui filtri di compensazione, vedi il § 23.2 .

[149] Oggi lo stilb è sostituito spesso dal **nit** (n); $1\ n = 10^{-4}$ sb .

[150] Joseph STEFAN (1835 - 1893) e Ludwig BOLTZMANN (1844 - 1906), fisici austriaci.

$$W = \sigma T^4 \qquad (76)$$

in cui W (in erg) rappresenta l'energia totale emessa da un "corpo nero"[151] (la legge è valida con qualche approssimazione per molti corpi caldi, compreso il tungsteno), T è la temperatura assoluta (in °K) e σ (sigma, lettera s greca minuscola) è una costante. La dipendenza dell'energia emessa (ad una certa temperatura) dalla lunghezza d'onda è descritta da una legge più complessa (legge di **Planck**[152]) che indica come la lunghezza d'onda di massima emissione aumenti col diminuire della temperatura. In altre parole, sottovoltando una lampada ad incandescenza, si abbassa la brillanza e cresce la lunghezza d'onda di massima emissione, cioè diminuisce la TC: la radiazione emessa apparirà prima gialla, poi arancio, poi rossa. Survoltando, avviene l'inverso, ed il colore tende al blu.

Occorre poi considerare l'**angolo solido di emissione uniforme**, cioè l'angolo a tre dimensioni (il "cono di luce") entro cui la brillanza è accettabilmente uniforme, in relazione alle esigenze del lavoro. Tale angolo solido non deve essere inferiore all'apertura del collettore. Ovviamente questo parametro è più importante in fotografia. La ragione dell'importanza dell'uniformità di emissione sta in questo: il fascio conico che il collettore utilizza corrisponde al "campo oggetto illuminato" del microscopio (il collettore o il diaframma di campo sono coniugati con l'oggetto) ed ogni irregolarità nella brillanza del corpo luminoso nelle varie direzioni corrisponde ad un'irregolare luminosità del campo illuminato. Questo problema è serio con le lampadine a bassa tensione ed a filamento concentrato (donde il largo uso di vetri smerigliati nelle microlampade), ed è gravissimo con le lampade a tensione di rete, con filamento esteso. Queste ultime infatti vengono usate solo se accompagnate da un diffusore, magari ricavato dalla stessa parete dell'ampolla. L'omogeneità direzionale della brillanza è molto migliore nelle lampade ad arco ed in quelle a fiamma.

Nel § 12.4 si è parlato delle conseguenze delle irregolarità di struttura del filamento.

La **tensione di alimentazione** va pure considerata al momento della scelta di una microlampada: per le lampade a tensione di rete, è sufficiente una presa collegata alla rete di distribuzione dell'energia elettrica. Per le lampade a bassa tensione, vi sono alimentatori più o meno sofisticati di tipo elettro-meccanico o elettronico, con tensione di uscita variabile a scatti o con continuità, con protezione verso i corti-circuiti, strumento indicatore della tensione di uscita, ecc. ma può bastare un semplice trasformatore. L'utilizzatore dovrà solo accertarsi che l'ampolla che monta nella sua microlampada corrisponda alla tensione di uscita massima dell'alimentatore di cui dispone. Un errore anche piccolo può far "bruciare" in fretta l'ampolla. Poiché certi alimentatori con tensione di uscita variabile fanno uso di semiconduttori e producono una tensione di uscita di tipo impulsivo, non è facile misurare il valore utile di questa tensione di uscita: quello che conta è il "valore efficace" di essa, mentre molti strumenti indicano il valore di picco (voltmetri "elettronici"), o il valor medio (voltmetri a bobina mobile); lo strumento più indicato a questo scopo è quello "a filo caldo", difficilmente reperibile.

Per le lampade ad arco occorre invece un alimentatore ingombrante, pesante e costoso, contenente almeno un trasformatore, un'impedenza-serie ed un circuito per l'impulso di accensione. In via accessoria vi può essere un raddrizzatore (si è già detto che l'alimentazione in corrente raddrizzata è preferibile), un conta-ore per conoscere la "vita" della lampada, un amperometro per controllare che la lampada non sia attraversata da una corrente superiore al nominale (ciò ne accorcerebbe rapidamente la durata), un organo per variare la corrente di alimentazione, ecc.

---

[151] Vedi il § 22.6 .

[152] Max PLANCK (1858 - 1947), fisico tedesco, uno dei fondatori della fisica quantistica.

Anche la **dissipazione** di calore della sorgente ha importanza. Si pensi che il rendimento di una sorgente di radiazione ottica è sempre basso. Se per **rendimento** si intende il rapporto fra energia emessa nello spettro ottico ed energia emessa fuori da esso (essenzialmente infrarosso), si hanno valori anche del 3-4 % per le lampade ad incandescenza. Il rendimento è un po' migliore per le lampade al quarzo-iodio, molto migliore nelle lampade ad arco, ma in sostanza quasi tutta la potenza elettrica assorbita da una sorgente ad alimentazione elettrica va dissipata in calore.

Come regola pratica, si ricordi che una potenza di 20 W è il massimo concesso ad una microlampada incorporata nel piede di un microscopio; fino a 100 W occorre un'edicola esterna allo stativo, delle dimensioni di circa 1 dm^3 , possibilmente munita di alette di raffreddamento e di fori di aerazione. Oltre i 100 W, occorrono edicole proporzionalmente più grandi. I fori di aerazione devono essere concepiti in modo da lasciar sfuggire il meno possibile la luce, che disturba in ogni caso.

Sarà cura del costruttore evitare che il calore generato dalla microlampada si trasmetta, per convezione o per conduzione, a certe parti sensibili dello stativo, come i movimenti di focalizzazione ed alcune parti ottiche. Tale trasmissione non deve comunque produrre alterazioni dell'immagine quando si eseguono fotografie a lunga posa o misure quantitative.

Tutti i materiali termo-sensibili presenti nella microlampada (plastica, vernici, isolanti elettrici, ecc.) devono essere in grado di resistere alla temperatura di regime[153]. Le parti metalliche esterne devono essere protette dal surriscaldamento in modo da non provocare scottature in caso di contatto accidentale; ciò si ottiene con distanziali che isolano termicamente, con doppio involucro metallico, ecc.

Le parti in vetro (lenti, filtri, specchi) devono resistere sia alla temperatura di regime che agli sbalzi di temperatura conseguenti all'accensione ed allo spegnimento. Non è raro trovare tali parti incrinate dopo un certo tempo. Per questo motivo sarebbero preferibili le lenti in silice fusa, resistentissima al calore e trasparente all'UV, ma tale materiale è costosissimo. In particolare i filtri blu ed i filtri di eccitazione per la fluorescenza, che assorbono molto IR, tendono a scaldarsi ed a rompersi. Un'opportuna "tempra", cioè un trattamento termico particolare, può conferire a molti vetri una maggiore resistenza al riscaldamento; tali filtri a volte sono contraddistinti colla sigla "**g**" (= gehärtet = indurito, temperato − in tedesco).

Per lo stesso motivo non si mettono mai nelle microlampade lenti incollate ed ogni lente andrebbe montata senza serrarla nella sede per lasciare spazio alla dilatazione del vetro.

Le **dimensioni** del corpo luminoso sono importantissime per quanto detto nel § 22.2 , e con la (71) si è visto con quali altri parametri esse determinano le dimensioni del fascio che incide sul diaframma d'apertura. Ancora una volta, va ripetuto che la sostituzione di un'ampolla con una "equivalente" deve tener conto, fra l'altro, delle dimensioni del filamento: se è troppo grande, una parte della sua immagine sfugge dal condensatore e va perduta; se è troppo piccolo, anche la sua immagine è troppo piccola e si riduce l'apertura utilizzabile del condensatore.

Si è detto anche che la forma del corpo luminoso, per adattarsi alla forma rotonda del diaframma, dovrebbe essere per lo meno quadrata, ed è ciò che si cerca di ottenere con i filamenti concentrati e con gli archi compatti. Invece molte ampolle (del tipo di quelle in uso sugli automezzi, ad es.) sono sconsigliabili in quanto contengono un filamento troppo allungato. Un ripiego può essere dato dall'uso dello specchio sferico posteriore, più volte citato, che consente di accostare al filamento allungato un'immagine reale di esso che ne raddoppia la larghezza.

Anche la **distanza** fra corpo luminoso e parete del bulbo ha importanza, in quanto non deve superare la distanza frontale del collettore (vedi il § 22.2.1). Normalmente il progettista

---

153 Quella temperatura che l'involucro raggiunge dopo un tempo illimitato di funzionamento a temperatura ambiente ed alimentazione nominale.

sa coordinare i vari parametri del sistema utilizzando lampadine commerciali. L'utilizzatore deve solo stare ben attento nella sostituzione di un tipo di lampadina con un'altra ed avere sempre sottomano qualche pezzo di scorta.

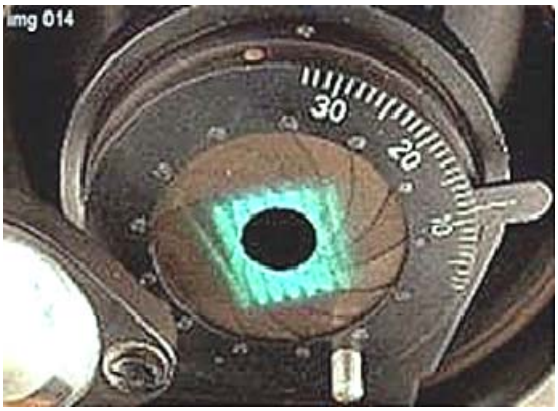
Troppe volte si vedono apparecchi anche di pregio abbandonati e dimenticati in qualche cantina solo perchè non si trova più la lampadina adatta.

22.7 - FOCHEGGIATURA del CORPO LUMINOSO

Nel § 12.4 si è detto che l'ingrandimento longitudinale provoca un forte allungamento (in direzione assiale) dell'immagine del filamento prodotta dal collettore, e così tale immagine risulta più a meno a fuoco anche dove non dovrebbe, per es. nel piano dell'oggetto.

Ciò nonostante, se non altro per non peggiorare le cose, occorre focheggiare il corpo luminoso rispetto al collettore in modo da ottenere, per l'immagine di esso, la posizione di miglior compromesso. Può essere mobile il collettore oppure l'ampolla, quello che conta è che sia variabile la distanza fra di essi. I dispositivi meccanici per ottenere questo sono assai variabili e non occorre descriverli tutti: si farà riferimento, caso per caso, alle istruzioni del costruttore.

Il procedimento generale da seguire è questo: si crei uno schermo a livello del diaframma d'apertura del condensatore, o appoggiandovi un pezzo di carta o semplicemente chiudendo il diaframma. Su tale schermo si vedrà l'immagine del corpo luminoso, e si focheggerà fino ad avere l'immagine più nitida possibile. Quell'immagine sarà affetta da forti aberrazioni e sarà pertanto poco nitida, ma si può limitare questo difetto chiudendo leggermente il diaframma di campo e riducendo così le aberrazioni del collettore. Abbiamo detto "chiudendo leggermente" poiché chiudendo troppo il diaframma di campo (che agisce da diaframma d'apertura per il collettore), è ben vero che si riducono le aberrazioni del collettore, ma si aumenta la profondità di fuoco per cui è più difficile apprezzare la posizione di miglior fuoco.



Un altro modo di focalizzare il corpo luminoso può essere quello di osservare nell'oculare un campo visuale "vuoto" (preparato poco colorato o addirittura vetrino pulito). Si usi l'obbiettivo più debole in modo da vedere nell'oculare la maggior superficie possibile del collettore; eventualmente si aumenti la focale del condensatore (per es. estraendo la lente frontale); si abbassi la tensione di alimentazione della lampadina (o si inseriscano filtri grigi) in modo da non essere abbagliati.

Il condensatore e l'eventuale specchio mobile siano centrati e focalizzati correttamente (il diaframma di campo appaia nitido e centrato). Variando la focalizzazione della microlampada si vedrà prima o poi apparire una traccia confusa della forma del corpo luminoso o delle spire del filamento. Si cercherà allora la posizione che dà la massima omogeneità nella luminosità del campo.

In molti strumenti moderni si usano poi ampolle ad incandescenza "**precentrate**", in cui l'ampolla è fissata ad uno zoccolo speciale con precisi riferimenti meccanici; poiché la

tolleranza nella posizione del filamento rispetto allo zoccolo normale è troppo forte per le applicazioni della microscopia, si realizza un secondo innesto o zoccolo speciale sul quale il costruttore fissa l'ampolla con tolleranza abbastanza stretta. Lo zoccolo speciale viene inserito nella microlampada in maniera tale da trovare facilmente una posizione precisa. In questo caso, la posizione del filamento può essere abbastanza corretta da rendere inutile un meccanismo di focheggiatura.

22.8 - CENTRATURA DELLA MICROLAMPADA

Cominciamo col parlare della centratura del corpo luminoso rispetto al collettore (o viceversa).

Se l'ampolla è "precentrata" (vedi sopra), in teoria andrebbe nella posizione corretta appena si appoggia lo zoccolo speciale sulle sue superfici di riferimento. In pratica, rimane spesso qualche errore; si tratta di una soluzione più sbrigativa, ma non ottimale dal punto di vista tecnico. Per giunta, le lampade precentrate sono molto costose e sono reperibili solo presso il costruttore dello strumento o la sua rete di vendita. A distanza di anni, è facile che esse non siano più fornite.

Se l'ampolla non è precentrata, il suo supporto o il collettore debbono essere centrabili, a meno che non vi sia nel sistema un forte diffusore. La centratura è d'obbligo se si tratta di un buon illuminatore sec. Köhler e va ripetuta almeno dopo ogni sostituzione della lampadina. Vi sono tre casi possibili:

1) La microlampada è rigidamente fissata nel o a lato dello stativo. Si spera che il costruttore abbia centrato le varie parti correttamente. Per la centratura del filamento, si proceda come si è detto per la focalizzazione: si proietta l'immagine del filamento sul diaframma d'apertura (tutto chiuso), si chiude leggermente il diaframma di campo e si sposta la parte mobile (ampolla o collettore) finché l'immagine è centrata rispetto al diaframma d'apertura.

2) La lampada è esterna, ma fissata rigidamente allo stativo con un telaietto metallico, con una "base" comune, o altri mezzi. Se tale lampada è già stata allineata in precedenza, si ricade nel caso 1). Se va allineata, vedere il caso 3).

3) La lampada non è stata allineata. A parte varie soluzioni particolari suggerite dal costruttore, la cosa più semplice è puntare la microlampada verso una parete, con il diaframma di campo quasi o totalmente aperto. Attorno all'immagine del filamento (che va focalizzata) si vedranno degli aloni in parte colorati (aberrazione sferica e cromatica). Si centri il filamento finché gli aloni risultano di pari larghezza, intensità e colore da tutti i lati dell'immagine.

Parliamo ora dell'allineamento di tutta la microlampada nel suo complesso, come se fosse un blocco unico. Si suppone che essa non sia rigidamente collegata allo stativo e pertanto non sia allineata dal costruttore, come nel caso 1) sopra visto.

Ebbene, si deve orientare la microlampada finché l'immagine del filamento è in centro allo specchio (o al primo specchio) che si trova fra collettore e condensatore. Se in questo spazio vi è una lente a grande campo fissa, si suppone che sia stata centrata dal costruttore. Se è estraibile, è meglio toglierla e semmai centrarla in seguito, collo stesso metodo usato per centrare il condensatore (§ 21.9). Vi dovrebbero essere apposite viti. Se l'immagine del filamento non è ben visibile sullo specchio, vi si può alitare sopra per appannarlo o vi si può

poggiare un pezzetto di carta sottile che permetta di intravvedere gli orli dello specchio stesso.

Se lo specchio sotto il condensatore è orientabile, come ultima cosa si allinea anche quello, muovendolo finché l'immagine del filamento cade in centro al diaframma d'apertura, che è bene tenere chiuso in questa fase.

Questo tipo di lampada esterna, che va allineata dall'utilizzatore, tende a scomparire: il costruttore cerca di semplificare il lavoro dell'utilizzatore collegando rigidamente fra loro lampada e stativo e, quando la potenza dissipata è bassa, la lampada viene spesso incorporata nel piede o nella colonna dello stativo. In questo caso però, vuoi per tolleranze di lavorazione, vuoi per lievi spostamenti graduali nel tempo (derive termiche, ad es,), vuoi per urti occasionali, il sistema non risulta sempre centrato al meglio; non essendo previste regolazioni da parte dell'utente, non vi è possibilità di correzione ed il sistema rimane permanentemente scentrato. Tanto peggio per l'efficienza.

22.9 - ERRORI nella CENTRATURA di TUTTO il SISTEMA ILLUMINANTE

A questo punto, dovrebbe essere chiaro come si deve procedere nel mettere a punto l'intero sistema illuminante. Si tratta di operazioni importanti poiché anche il più perfetto microscopio può produrre immagini fortemente degradate se si commette qualche banale errore nella regolazione del sistema illuminante.

Abbiamo appena descritto le operazioni di centratura del corpo luminoso e della microlampada, che del resto non sono necessarie nel caso di ampolle e microlampade precentrate. Nel § 8.9 abbiamo descritto le operazioni generali di allineamento del sistema di Köhler; avendo ormai esaminato in dettaglio le varie parti del sistema illuminante, vogliamo qui riassumere le operazioni fondamentali, sottolineando i possibili errori e le loro conseguenze.

Si suppongano già centrati o fissi il filamento della lampadina e la microlampada nel suo complesso.

Il caso peggiore si presenta quando si hanno due o tre parti singolarmente centrabili su un asse comune. Per es., per centrare l'immagine del diaframma di campo (vedi il § 8.9, capo 6), è possibile centrare il condensatore o uno specchio sottostante o qualche lente intermedia. In questi casi è bene centrare prima il condensatore (osservando l'immagine del diaframma d'apertura che si forma nella pupilla d'obbiettivo, come detto nel § 21.9) e poi centrare l'immagine del diaframma di campo a mezzo dello specchio (o della lente a grande campo). Altro caso è quello di obbiettivi singolarmente centrabili rispetto al revolver e di un condensatore centrabile. Per fortuna, in questi casi il tavolino è girevole attorno ad un asse fisso (come avviene spesso nei microscopi polarizzatori) e su questo si centrano uno per uno gli obbiettivi; poi si centra il condensatore rispetto agli obbiettivi (guardando l'immagine di Dc). Se però è centrabile anche il tavolino, non vi è più riferimento e bisogna centrare gli obbiettivi sulla posizione "media" del tavolino o viceversa.

Ma lasciamo da parte i casi particolari e veniamo al caso più comune di un illuminatore di Köhler con ampolla precentrata, microlampada incorporata o fissata allo stativo, specchio fisso, condensatore centrabile, obbiettivi non centrabili.

Conviene allora partire da una focalizzazione almeno approssimata dell'oggetto a mezzo di un obbiettivo debole; anche se il sistema illuminante è ancora da regolare, si dovrebbe avere quel po' di luce che basta a focalizzare.

Fatto questo, si deve identificare l'immagine del diaframma di campo Dc; si tolgano di mezzo finché è possibile gli elementi diffondenti, si chiuda almeno in parte il diaframma di campo Dc (e magari il diaframma d'apertura Da), si focheggi il condensatore ed eventualmente lo si sposti con le rispettive viti di centratura al fine di centrare il campo illuminato. Alla fine si deve vedere nitido o con qualche alone l'orlo di Dc, concentrico al campo visuale. Aprendo Da , gli aloni che circondano Dc si allargano e forse occorrerà rifocalizzare il condensatore finché gli aloni appaiono color porpora (ridurre la dominante di colore nel campo illuminato facendo in modo che gli aloni siano costituiti dai colori estremi dello spettro, come il rosso ed il blu-viola).

La focalizzazione del condensatore va ritoccata quando si cambia vetrino o quando si focalizza l'obbiettivo su un preparato di forte spessore. La centratura di esso va rifatta quando si cambia l'obbiettivo o qualche sistema intermedio "di tubo", come un cambiatore d'ingrandimento. Tale centratura è ovviamente più critica ai più forti ingrandimenti.

Il Dc va aperto quel tanto da illuminare tutto il campo visuale e nulla più, e tale regolazione va ripetuta se si cambia obbiettivo od oculare o qualche sistema intermedio. Se il campo illuminato risulta ancora troppo piccolo (con Dc tutto aperto) o troppo grande (con Dc tutto chiuso) occorre cambiare la focale del condensatore come detto nei §§ da 21.1.1 a 21.1.6, magari estraendo od inserendo la lente frontale od una eventuale lente a grande campo.

Il Da si può regolare visualmente cercando il miglior compromesso fra risoluzione - luminosità (Da aperto) e contrasto - penetrazione (Da chiuso). La luminosità dell'immagine va regolata variando la tensione di lampada (purché non si tratti di lampada ad arco e non si facciano foto a colori per via della temperatura di colore) oppure inserendo filtri diffusori o neutri. MAI si vari la luminosità dell'immagine focalizzando il condensatore (vedi il § 21.4) o regolandone il diaframma. Per una più corretta regolazione di Da , si veda anche quanto si è detto nel § 8.9, punto 8.

Vediamo ora alcuni inconvenienti possibili e relative cause.

Può accadere che un porta-filtri sotto il condensatore, davanti alla lampada o sopra l'obbiettivo oppure un prisma o una lente a grande campo estraibili siano rimasti in posizione intermedia e la montatura meccanica faccia ombra e renda buia una parte o tutto il campo immagine. La stessa cosa può avvenire col revolver porta-obbiettivi o con un cambiatore d'ingrandimento che non siano stati ruotati fino alla posizione d'arresto. Anche un condensatore scentrato può obliterare in parte il campo illuminato.

Se la montatura che fa ombra occupa solo una porzione laterale del fascio illuminante in modo che questo divenga globalmente obliquo, l'immagine può apparire anche normalmente illuminata, ma si avrà un effetto di ombreggiatura e la posizione dei dettagli dell'immagine cambierà lateralmente quando si focheggia l'obbiettivo o il condensatore. Nei rari casi in cui il diaframma d'apertura è decentrabile, anche una posizione eccentrica del diaframma, specie se parzialmente chiuso, può creare l'illuminazione obliqua o rendere del tutto buio il campo.

Può anche avvenire che, con tutto centrato, il campo rimanga ancora buio. A parte le cause ovvie (lampadina spenta o bruciata, specchio mobile malamente inclinato, corpi estranei lungo il cammino ottico, revolver intercambiabile a slitta parzialmente estratto, ecc.) può avvenire che sia inserito uno dei diaframmi anulari per il contrasto di fase o il campo scuro, e che simultaneamente il diaframma d'apertura non sia completamente aperto; la pupilla del condensatore si presenta così completamente obliterata.

L'illuminazione non uniforme può dipendere anche da un errore di centratura della lampadina (se è precentrata, può essere serrata male nel suo morsetto), da cattiva focalizzazione di essa (se è precentrata potrebbe essere stata montata alla rovescia), dalla scelta di una lampadina del tipo non adatto, da una distanza errata fra stativo e microlampada

(se quest'ultima è indipendente dallo stativo stesso). Può anche avvenire, con obbiettivi deboli ed un condensatore a forte apertura, che si debba o si voglia chiudere al massimo il diaframma d'apertura; in questo caso, la profondità di fuoco del condensatore diviene elevatissima e sul piano dell'oggetto possono risultare più o meno a fuoco molte superfici della microlampada con tutte le possibili irregolarità (grani di polvere, superfici smerigliate, spire del filamento, ecc.) che appaiono come macchie. Non c'è che aumentare la focale del condensatore (per esempio estraendo la sua lente frontale) ed allargarne il diaframma oppure introdurre un vetro smerigliato sotto il condensatore.

A volte, per le ragioni dette nel § 12.4, l'illuminazione dell'oggetto è irregolare perché riporta la struttura ad elica del filamento. Oltre a focalizzare meglio il filamento stesso ed il condensatore, non resta che inserire un filtro smerigliato, possibilmente fra lampadina e collettore.

È ovvio che la sporcizia, su molte superfici, può provocare macchie più o meno sfocate.

Vi può essere poi il caso di illuminazione insufficiente. Escludiamo i difetti di progetto su cui l'utente ha ben poche possibilità di intervento. Invece, supponendo che le centrature siano corrette, da parte dell'utente vi può essere:

•• tensione insufficiente alla lampadina; •• lampadina vecchia a bulbo opacizzato; •• filamento sfocato; •• diaframma di campo troppo chiuso (con condensatore sfocato); •• eventuale specchio mobile male orientato; •• diaframma d'apertura troppo chiuso; •• condensatore troppo abbassato o molto scentrato; •• lente frontale del condensatore o lente a grande campo inserita o disinserita a sproposito; •• preparato opaco; •• presenza di filtri o di divisori di fascio (per es. visione-fotografia) indesiderati.

23 - I FILTRI OTTICI

Un filtro ottico è un dispositivo parzialmente trasparente o riflettente capace di alterare l'intensità di una radiazione di lunghezza d'onda λ compresa fra 200 e 10˙000 nm. Se la trasmissione o la riflessione del filtro è indipendente da λ entro una certa regione spettrale, il filtro si dice "**neutro**" o "**grigio**" in quella regione; se varia in funzione di λ, il filtro si dice "**selettivo**"; se la variazione in funzione di λ si verifica nella regione ottica dello spettro, il filtro è "**colorato**".

La radiazione non trasmessa dal filtro può essere prevalentemente assorbita (filtri ad assorbimento) o riflessa (filtri a riflessione) o diffusa (diffusori) o deviata dal cammino ottico principale (certi polarizzatori a prisma). I filtri interferenziali (vedi oltre) sono a riflessione, quelli in vetro colorato o gelatina o soluzioni liquide sono ad assorbimento. Tutti i filtri assorbono o riflettono almeno qualche percento della radiazione incidente, mentre la parte diffusa o deviata può essere assai ridotta. La parte assorbita può trasformarsi in altre radiazioni elettromagnetiche, come l'IR o la radiazione ottica (fluorescenza e fosforescenza), ma generalmente si trasforma in calore, per cui tutti i filtri, specie quelli ad assorbimento, si scaldano molto quando irradiati.

Il comportamento ottico di un filtro a trasmissione è definito dalla funzione T_λ, cioè dalla variazione della **trasmissione** T al variare di λ. Tale funzione si rappresenta graficamente con una "**curva di trasmissione**" in cui T figura in ordinata, in scala lineare, logaritmica oppure log-log (doppio-logaritmica[154]). T è definita dal rapporto fra energia emergente dal filtro (E) ed energia incidente (I):

$$T = \frac{E}{I} \qquad (77)$$

In un filtro ad assorbimento si può trascurare la riflessione alle superfici del filtro e studiare il rapporto τ (**trasmissione pura**)[155] fra l'energia che arriva alla superficie di uscita del filtro (e) e l'energia che penetra al di là della superficie d'ingresso (i). Tale rapporto:

$$\tau = \frac{e}{i} \qquad (78)$$

dipende dal solo assorbimento nella massa del filtro.

In un filtro ad assorbimento esiste la relazione:

$$T = R\,\tau \qquad (79)$$

in cui R è il "**fattore di riflessione**" che tiene conto delle riflessioni alle superfici e varia da 0,96 a 0,90 per incidenza normale. τ è poi legato allo spessore **d** del filtro dalla relazione esponenziale:

$$\tau = \tau_o^{\,d} \qquad (80)$$

---

[154] $x = 1 - \log\log\frac{1}{\tau} = 1 - \log a - \log d$, in cui τ, **a** e **d** sono quelli della (81) ed **x** è l'ordinata del grafico. (84)

[155] τ è la lettera t minuscola greca (tau).

in cui τ_0 è la "trasmissione unitaria" corrispondente a d = 1 mm. La (80), sempre con **d** espressa in mm, si può scrivere:

$$\tau = e^{-ad} \qquad (81)$$

in cui **e** è il numero di Neper[156], pari a 2,718... ed **a** è il "**coefficiente di assorbimento**":

$$a = - \log_e \tau_o \qquad (82)$$

In pratica, se d = 2 mm, si ha una trasmissione pura che è il quadrato della trasmissione valida per d = 1 mm; per d = 3 mm, si ha il cubo, ecc.

La formula (81) esprime la "**legge di Bouguer - Lambert**"[157] in cui il coefficiente **a** è pari a zero se il filtro è totalmente trasparente; è pari all'infinito per un corpo totalmente opaco.

Le curve di trasmissione con scala di τ lineare si interpretano facilmente, ma piccoli valori di τ si leggono male e variando **d** la curva cambia forma; se invece le ordinate sono disegnate in scala doppio-logaritmica (vedi la nota 154) i bassi valori di τ si leggono meglio e variando **d** si ha solo uno spostamento verticale della curva.

La trasmissione di un filtro si può anche esprimere come "**densità ottica**", indicata con D:

$$D = \text{Log} \frac{1}{\tau} \qquad (83)$$

in cui D trascura il coefficiente R ed è quindi direttamente proporzionale a **d** ; il vantaggio di usare la grandezza D è questo: ponendo in serie diversi filtri, la densità risultante è la somma delle densità parziali. Usando la trasmissione τ bisognerebbe invece calcolare il prodotto.

TABELLA V

D	0,00	0,1	0,3	0,5	1,0	1,3	2	3
τ	1,00	0,79	0,50	0,32	0,1	0,05	0,01	0,001

Il valore di τ si può esprimere in % moltiplicandolo per 100.

Dato un sistema ottico con una sorgente che emette in un certo spettro, una curva di trasmissione globale determinata ed un recettore con una certa curva di sensibilità, si può calcolare il rapporto fra l'energia utile ricevuta dal recettore dopo l'inserzione di un filtro e l'energia senza filtro. Quel rapporto esprime la riduzione di energia utile nella gamma di lavoro del sistema e si chiama "**fattore di filtro**". Esso non è quindi una proprietà del solo filtro ma del sistema globale di cui il filtro fa parte. In fotografia, il fattore di filtro fa riferimento a sorgenti a spettro continuo ed a normali emulsioni, e serve per moltiplicarlo al tempo di esposizione calcolato (o misurato) in assenza di filtro.

I filtri in microscopia sono spesso rotondi, con diametro 30 - 33 mm (o 50 mm per le microlampade), oppure più piccoli, da fissare sotto o sopra gli oculari o da inserire all'interno del tubo. Per le microlampade esistono anche filtri quadrati o rettangolari o di altra forma.

---

156 Sir John NEPER o NAPIER, barone di Merchinson, matematico scozzese (1550-1617).

157 Pierre BOUGUER (pron. Bughé) (1698-1758), fisico e geodeta francese; Johann Heinrich LAMBERT (1728-1777), matematico, fisico e filosofo tedesco.

23.1 - COMPOSIZIONE DEI FILTRI

◊◊ Filtri liquidi. Sono costituiti da liquidi o soluzioni contenuti in vaschette di vetro a facce ben piane e parallele. Ricordiamo il nitrito di sodio al 2 % in acqua, che assorbe buona parte dell'UV e dell'IR, ed il solfato di rame, pure anticalorifico, di colore bluastro.

◊◊ Filtri in gelatina. Si tratta di gelatina rappresa, tirata in fogli lucidi, protetta da lacca o lamine di vetro. Questi sono filtri economici che possono avere una gran quantità di curve diverse di trasmissione. Sono però sensibili al calore che li deforma e li scolora (il colore in genere è ottenuto con coloranti organici che sono termolabili); essi non sopportano la pulizia se non sono protetti fra vetri. Sono costruiti da Eastman Kodak Co., Rochester, NY (USA), da Ilford Ltd, Ilford Essex (GB), ecc. I Kodak esistono in due serie: Wratten e "Color Compensating" (CC); gli Ilford si chiamano "Microfilters".

◊◊ Filtri in vetro colorato. Si tratta di lamine a facce piane e parallele, in vetro ottico speciale. Sono più costosi ed esistono in minor varietà di tipi di quelli in gelatina: infatti non possono contenere coloranti organici che verrebbero distrutti durante la fusione del vetro. Sono però resistentissimi agli agenti chimici e fisici, compreso il calore. Rari tipi col tempo si appannano in superficie. Alcuni sono fluorescenti, ed emettono luce giallo-rossa se colpiti da UV; ciò è dannoso nei filtri "di arresto" per la fluorescenza in UV, che vanno perciò protetti con un altro filtro contro l'UV.

I filtri passa-basso (vedi il § 23.2) hanno in genere curve molto ripide (T va da 90% ad 1 % nel giro di 50 nm); i filtri verdi hanno curve poco decise, verso il rosso addirittura risalenti; peggio ancora per i filtri blu-viola.

Il fattore di riflessione per incidenza normale R può scendere a 90 % e si può migliorare con i trattamenti anti-riflessi.

Costruiscono vetri colorati: Jena Glasswerk Schott & Gen. Mainz (Germania); Chance-Pilkington Optical Works, St. Asaph, Flintshire, North Wales (GB); Parra-Mantois (Paris, Francia); Corning Glass Works, Corning, NY (USA); Hoya Glass Works, Tokyo (Giappone), e tanti altri.

◊◊ Filtri interferenziali. Tali filtri, come gli "specchi freddi" (§ 22.1.3), i trattamenti antiriflettenti (§ 17.1.2), certi semiriflettenti a basso assorbimento, ecc. si basano sul principio dell'interferometro di Fabry e Pérot costituito nello schema di base da due superfici semi-riflettenti separate da uno strato di materiale trasparente di spessore dell'ordine di grandezza di una frazione di λ. Tale sistema, colpito da un fascio, crea una serie di fasci riflessi ed una serie di trasmessi con rapporti costanti di fase, per cui la riflessione e la trasmissione sono legate ad interferenze positive o negative in seno alla serie di fasci; essendo lo sfasamento fra i singoli fasci legato allo spessore dello strato trasparente ed al suo indice, all'angolo di incidenza ed a λ, le proprietà del filtro dipendono dalla sua struttura e dall'angolo di incidenza, e la trasmissione T non è costante nello spettro.

Gli strati sottili di cui è composto il filtro vengono depositati sulla superficie di una lamina di vetro per evaporazione, sotto vuoto spinto, di adeguati materiali.

Si possono, con questa tecnica, avere filtri con una larghezza di banda di 10- 50 nm, cosa impensabile con altri tipi di filtri. Essendo poi la curva di trasmissione legata ai parametri fisici del filtro, è possibile progettare e costruire un filtro con una curva di trasmissione prefissata, "su misura" per un dato problema.

L'energia non trasmessa è in massima parte riflessa: l'assorbimento ed il riscaldamento

sono dunque minimi.

Gli svantaggi dei filtri interferenziali sono: •• elevato costo, •• sensibilità agli agenti fisici (riscaldamento, urti, sfregamento), •• nelle regioni di trasmissione minima, T non è in genere inferiore a 0,001 mentre col vetro e la gelatina si può arrivare a 10^{-6}: questa limitazione è grave nei filtri per la fluorescenza, •• la trasmissione massima non supera in genere 0,45 nei filtri a banda stretta. Con filtri a molti strati è però possibile ottenere curve di ogni tipo e con valori di T assai elevati.

I filtri "anticalorifici" interferenziali riflettono l'UV e l'IR e trasmettono il visibile con un'efficienza maggiore degli analoghi filtri in vetro; inoltre si scaldano meno perché l'IR non è assorbito ma riflesso. In modo inverso funzionano gli "specchi freddi" già citati nel § 22.1.3.

Vi sono filtri interferenziali "policromatici" aventi diverse bande di trasmissione strette distribuite in un ampio spettro.

Come già accennato, il funzionamento dei filtri interferenziali è legato allo spessore di strato trasparente attraversato dalla radiazione, e quindi all'angolo d'incidenza. Nei filtri complessi a molti strati, la variazione dell'incidenza **i** provoca fenomeni complessi; nei filtri semplici a banda stretta, un aumento di **i** equivale ad un aumento di spessore degli strati sottili e la banda di trasmissione si sposta verso i piccoli valori di λ:

TABELLA VI

Incidenza **i**	5°	10°	15°	30°	**45°**	60°
Spostamento della banda di trasmissione in nm (valori indicativi, validi all'interno dello spettro ottico)	0,6	2,5	6	30	**55**	100 nm

La variazione della banda permette di coprire con un solo filtro una regione spettrale di 50 - 100 nm (nel visibile) e con alcuni filtri tutta la regione ottica. Per variare l'incidenza sul filtro si costruiscono appositi porta-filtri ruotanti. Aumentando **i** però la banda, oltre a spostarsi, si allarga (fino a 10 volte) e diviene bifida nel senso che presenta due massimi di trasmissione vicini corrispondenti a due fasci polarizzati parallelamente e perpendicolarmente al piano d'incidenza[158].

◊◊ Filtri misti. I filtri interferenziali, oltre la banda passante desiderata, trasmettono anche su bande indesiderate; per eliminare queste ultime, e per ridurre la trasmissione residua nelle regioni di non trasmissione (di "reiezione"), si costruiscono filtri misti incollando un vetro colorato opportuno su un filtro interferenziale. Il filtro risulta così in parte a riflessione ed in parte ad assorbimento. Affinché non si scaldi il vetro colorato, è bene rivolgere verso la sorgente il lato del filtro interferenziale, cioè il più riflettente.

Costruiscono filtri interferenziali e misti la già ricordata Schott & Gen. di Magonza, la Balzers AG, Balzers (Liechtenstein), la C. Zeiss di Oberkochen, la Bausch & Lomb (USA), la Seavom di Argenteuil, S. & O., Francia, ecc.

◊◊ Filtri polarizzatori. Possono servire per le osservazioni in radiazione polarizzata o come attenuatori di luce. Possono essere costituiti da un gioco di prismi birifrangenti o da fogli di plastica contenenti microcristalli o molecole fortemente dicroici. Questi fogli di plastica ("**Polaroid**") vengono in genere rivestiti con lamine in vetro, sono economici ed assai diffusi (vedi anche il § 30.7).

---

[158] Come regola pratica semplificata, si può dire che, per un angolo d'incidenza di 45°, la lunghezza d'onda di massima trasmissione diminuisce di circa 10%.

Un polarizzatore a prisma come quello di **Nicol**[159] o un buon Polaroid si comporta, a parte l'effetto polarizzante, come un filtro grigio con T = 40 % circa; due "Nicol" in serie con le sezioni principali parallele hanno T = 30 – 35 %; se però le direzioni di vibrazione non sono parallele, la T può scendere a valori assai bassi secondo il coseno dell'angolo fra le due direzioni[160]. Due polarizzatori di cui si possa variare l'orientamento reciproco possono dare così un filtro grigio variabile con T massima di 30 %.

I Polaroid sono sensibili al calore della sorgente ed occorre proteggerli con un filtro anticalorifico.

23.2 - FUNZIONI dei FILTRI

◊◊ Filtri passa-alto e passa-basso.

Sono filtri "a taglio netto", cioè con passaggio più brusco possibile fra due regioni di trasmissione massima e minima possibile. La somma di queste due regioni deve occupare almeno lo spettro ottico. In un filtro passa-alto la regione di massima trasmissione si trova a minore λ, cioè a frequenza maggiore dell'altra; viceversa per il passa-basso. I passa-alto migliori sono interferenziali; i passa-basso migliori sono in vetro o misti.

Tali filtri sono definiti dalla posizione del "**gradino**" di trasmissione, e precisamente dal valore della λ per cui T è pari ad un valore soglia (per es. 5, 10, 37 % o altri valori). Inoltre va definita la "**pendenza**" del gradino come differenza di λ fra i punti della curva per cui T = 5% e 70% (o altri valori arbitrari). Va anche definita la "**estensione**" in lunghezza d'onda delle regioni trasmessa e soppressa.

◊◊ Filtri passa-banda.

Qui una banda di trasmissione massima confina con due bande di trasmissione minima o "**soppresse**". Si può anche avere l'inverso. La posizione della banda trasmessa (o soppressa) si definisce come λ "media" (centro della banda); la "**larghezza di banda**" come differenza fra le lunghezze d'onda estreme, per le quali T diviene la metà del massimo ("**larghezza a metà altezza**"[161]). La λ "media" è allora la media aritmetica fra le due lunghezze d'onda estreme. La pendenza dei fianchi della curva, oltre alla "larghezza a metà altezza", si definisce come la "larghezza di base", cioè la differenza fra le lunghezze d'onda per cui T é pari al 5% del massimo.

Va poi definita la T massima e l'estensione delle bande soppresse o "di reiezione" per le quali T è minore di 1 %.

Se vi è una banda soppressa fra due trasmesse, la larghezza di banda si misura per T = 37% e si definisce la minima trasmissione della banda soppressa.

I migliori filtri passa-banda sono misti. Filtri a banda stretta (da 5 a 100 nm) esistono solo del tipo interferenziale o misto, e la posizione della banda varia di molto con l'incidenza (vedi sopra, TAB. VI). Sono pure interferenziali i filtri a molte bande strette (policromatici). I filtri a banda larga di vetro sono scadenti; migliori i misti.

Sono filtri a banda larga gli anticalorifici in vetro (i "KG" della Schott, ad es.) e misti

---

[159] William NICOL (1768 - 1851), fisico scozzese.

[160] Riferendoci al § 2.2.1 ed alla fig. 2, il coseno dell'angolo α è dato da c_1 / i.

[161] Questa grandezza si indica spesso con FWHM (Full Width at Half Maximum) oppure con HPBW (Half Power Bandwidth).

("Calflex" di Balzers, ad es.). Vetri a banda soppressa sono i "didimi" (vetri al Neodimio e Praseodimio) che attenuano fortemente il verde, ed appaiono di color rosa (per es. BG 36 di Schott, ON 16 di Chance).

◊◊ Filtri di compensazione.

In questi filtri vi è un passaggio lento e graduale fra una regione spettrale di T maggiore ed una di T minore. Non vi è gradino netto né banda soppressa. La curva ha piccola pendenza. Queste caratteristiche non si ottengono dai filtri interferenziali, ma solo da quelli in gelatina o vetro, come gli FG (Farbtonglas) di Schott ed i "Color Compensating" Wratten di Kodak. Un filtro di compensazione nella regione ottica altera sempre il rapporto fra "blu" e "rosso", quindi la temperatura di colore o TC (vedi il § 22.6). Se T' e T" sono le TC prima e dopo il filtro, l'effetto di esso (T" - T') si esprime col valore "**Mired**" ("Micro reciprocal degree" o "grado inverso milionesimo") o col "**Decamired**" (DM) che è pari a 10 Mired :

$$\text{Mired} = \left(\frac{1}{T''} - \frac{1}{T'}\right) \cdot 10^6 \qquad (85)$$

Un filtro che riduca il rosso più del blu appare celeste ed innalza la TC; allora T " è maggiore di T ' ed il Mired è negativo. In caso contrario il filtro appare rosa-ambrato ed abbassa la TC: il Mired è positivo; il segno del valore Mired indica se la TC scende o sale. Il Mired di una serie di filtri è pari alla somma dei singoli Mired, tenuto conto del segno.

Il valore Mired si usa anche per indicare la TC di una sorgente:

$$\text{Mired} = \frac{10^6}{TC} \qquad (86)$$

Per es. una sorgente a tungsteno a 2˙900 °K ha un Mired di 345; aggiungendo un filtro celeste con Mired = - 33 si ha una radiazione con Mired = 345 - 33 = 312 e TC = 3˙200 °K, adatta per pellicole per luce artificiale tipo B. Il cielo, con TC = 5˙500, ha Mired = 182.

Il Mired di una radiazione è quindi la somma algebrica dei Mired della sorgente e dei filtri interposti.

Per utilizzare una pellicola "daylight" con una sorgente ad incandescenza (TC = 3˙200 - 3˙400 °K) occorre un filtro di compensazione con Mired = - 120 circa (- 12 DM). Tali filtri sono spesso indicati appunto colla sigla B 12.

La densità D di un filtro di compensazione si calcola in base al valor medio della trasmissione T, e non supera in genere 0,5 (la T media è maggiore di 32%).

Sono di compensazione i filtri "di bilanciamento" e "color compensating" che in fotografia correggono la TC della sorgente per adattarla alla sensibilità dell'emulsione, ivi compresi gli "skylight" (§ 23.3).

◊◊ Filtri grigi o neutri (vedi il § 23).

Sono definiti dal valore medio di trasmissione o densità, dai limiti della banda entro cui sono neutri e dalla differenza fra T massima e minima in quella banda. I tipi interferenziali non assorbono e non scaldano ma sono costosi; più economici quelli in vetro o a deposito metallico.

◊◊ Filtri diffusori.

La radiazione trasmessa è principalmente diffusa, indipendentemente dall'apertura e dall'incidenza del fascio incidente. Il diffusore perfetto ("di Lambert[162]") è quello che mostra la stessa brillanza B in tutte le direzioni ma non lo stesso irraggiamento: per le direzioni formanti un angolo α con la normale, B è costante solo se l'energia emessa per ogni cm^2 è

[162] Johann Heinrich LAMBERT, matematico, fisico e filosofo tedesco (1728 - 1777), già citato nella nota [138].

pari a $I_o \cos \alpha$ in cui I_o è l'energia emessa secondo la normale. L'irraggiamento varia quindi secondo $\cos \alpha$.

I diffusori opale hanno una trasmissione totale inferiore al 50% cioè un forte assorbimento, ma si comportano quasi come diffusori di Lambert; poiché l'energia è diffusa in tutte le direzioni, se un filtro opale è illuminato con un fascio collimato, aumenta l'apertura del fascio trasmesso rispetto a quello incidente e la brillanza diminuisce; in pratica, un filtro opale introdotto fra collettore e condensatore può abbassare l'illuminazione nell'immagine finale di 100 - 500 volte.

Il vetro smerigliato ha un rendimento molto maggiore poiché ha una T totale di circa 75%, ma anche perché è parzialmente direzionale, nel senso che il fascio diffuso è relativamente stretto. Purtroppo, in certi casi la "grana" del vetro smerigliato può nuocere. Un buon vetro opale non ha grana.

23.3 - I FILTRI in MICROSCOPIA GENERALE

◊◊ Filtri "diurni" o "a luce solare".

Sono filtri di compensazione che innalzano la temperatura di colore TC di una sorgente di un migliaio di °K; nell'osservazione visuale danno ad una sorgente a tungsteno un colore più gradevole, meno giallastro, e si può tenerli costantemente nel condensatore; la trasmissione è dell'ordine del 70 %. In fotografia a colori non sono utili poichè l'innalzamento di TC da essi operato è inferiore a quello richiesto dalle normali emulsioni per luce artificiale ("tungsten" o "indoor"). Sono a volte chiamati "skylight" (= "luce di cielo").

◊◊ Filtri neutri o grigi.

Con piccolo ingrandimento totale in campo chiaro, un buon illuminatore di Köhler abbaglia l'occhio e sono necessari riduttori di brillanza sotto forma di filtri neutri. Abbassare la tensione di alimentazione di una sorgente ad incandescenza, ove possibile, abbassa di molto la TC . Chiudere il diaframma d'apertura o abbassare il condensatore, è già stato spiegato quanto sia irrazionale. Il solo intervento corretto è quello basato su filtri grigi.

◊◊ Filtri verdi.

Gli obbiettivi acromatici sono corretti da sferica solo per una lunghezza d'onda nella regione del verde; la loro focale coincide per il "blu" ed il "rosso", ma è minore per il verde e massima per il viola. Un oggetto scuro in luce bianca appare quindi bordato di viola (immagine sfocata a corta λ) o di verde (immagine sfocata a λ intermedia) o di porpora (rosso e viola danno un residuo di sferica). In fotografia, l'alone viola è dannoso per la grande sensibilità delle pellicole (anche di quelle in B-N) al viola. Tutto ciò si riduce con un filtro passa-banda verde, possibilmente del tipo misto, che ha una curva a fianchi più ripidi. Si migliora così la definizione dell'obbiettivo.

Il filtro verde è inutile coi sistemi più corretti. È invece utile in contrasto di fase per diminuire gli effetti della dispersione dell'anello di fase ed aumentare il contrasto.

Il filtro verde impedisce il riconoscimento dei colori e non è utilizzabile nella fotografia a colori.

◊◊ Filtri blu.

Come dice la (50) nel § 18.3, l'uso di radiazioni a corta lunghezza d'onda aumenta la

risoluzione di un obbiettivo: infatti, abbassare la λ è come aumentare le dimensioni dell'oggetto. I nostri occhi però sono poco sensibili in quella regione ed i filtri blu-viola sono utilizzabili solo in fotografia in bianco-nero. Non sono poi consigliabili con gli obbiettivi acromatici, data la scarsa correzione di quei sistemi agli estremi dello spettro ottico.

◊◊ Filtri anticalorifici.

Sono passa-banda a banda larga che trasmettono quasi tutto il visibile e sopprimono il più possibile l'UV e l'IR. Ve ne sono di ottimi in vetro (come il KG1 di Schott) ma si scaldano ed irradiano a loro volta calore, che va arrestato con un secondo filtro dello stesso tipo. I tipi interferenziali si scaldano assai meno ed hanno una banda a fianchi più ripidi, ma la trasmissione media può essere inferiore. La trasmissione è comunque di almeno 50 % (fattore di filtro: 1,6 ×). L'assorbimento nei tipi in vetro è generalmente un po' maggiore nel rosso, per cui il colore è verde-celeste e si ha un innalzamento della TC di 50 - 100°K.

In fluorescenza, i filtri anticalorifici assorbono molto UV, ma non danneggiano troppo quando si eccita la fluorescenza con radiazioni nello spettro ottico, e comunque non se ne può fare a meno per l'alta dissipazione delle sorgenti ed il forte assorbimento dei filtri di eccitazione in vetro, che tendono a rompersi.

Si ricordi che molti strumenti, specie di vecchia data, utilizzano per l'incollaggio delle lenti il Balsamo del Canadà, che è una resina naturale che rammollisce al calore; comunque gli sbalzi di temperatura non giovano alle lenti incollate. Uno o due filtri anticalorifici possono quindi essere lasciati stabilmente nel sistema illuminante.

Anche molti filtri colorati assorbono l'IR, tendono a scaldarsi ed è bene proteggerli con un anticalorifico se la sorgente dissipa più di 20 W.

L'UV, oltre a scolorire il preparato ed uccidere eventuali microrganismi viventi, è dannoso agli occhi: con le sorgenti ad arco è necessario, oltre l'anticalorifico, uno specifico filtro anti-UV posto naturalmente prima dell'oggetto; quando si usa la tecnica della fluorescenza, un filtro anti-UV può essere costituito dal "filtro di arresto", però esso è posto in questo caso dopo l'oggetto e protegge solo gli occhi. Un eventuale filtro anti-UV prima dell'oggetto va tolto in fluorescenza.

◊◊ Diffusori.

In un illuminatore di Köhler si possono porre fra collettore e condensatore uno o più diffusori, con perdita di illuminazione e di contrasto (luce diffusa); meno dannosi sono fra corpo luminoso e collettore, per le ragioni già illustrate nel § 22.2.4. Si usino solo se nessun altro mezzo è possibile per rendere più uniforme l'illuminazione del campo; ai bassi ingrandimenti, è meglio aumentare la focale del condensatore o toglierlo del tutto.

◊◊ Filtri di contrasto.

Un oggetto debolmente colorato su fondo chiaro appare più contrastato se illuminato con radiazione di colore complementare del suo; infatti esso assorbe prevalentemente le radiazioni di colore complementare. In fotografia questo accorgimento è prezioso (bianco-nero). Viceversa, un oggetto fortemente colorato appare meno contrastato se illuminato con radiazione dello stesso colore. Questa regola è assai utile nell'esame di preparati scoloriti o sovracolorati ed in casi particolari, come la cuticola degli Insetti, che diviene trasparente in radiazione "rossa" o IR.

Se l'oggetto è colorato con vari colori o con colori non puri, la regola sopra citata è di difficile applicazione; si procede per tentativi, magari usando filtri policromatici. In casi particolari (strisci di sangue o di cellule), l'oggetto è colorato spesso con due colori agli estremi dello spettro ottico (rosso-rosa per l'eosina, viola per l'ematossilina), e l'applicazione della regola del contrasto richiederebbe un'illuminazione con radiazione mista "viola" e "rossa"; ciò è possibile con un filtro didimo (§ 23.2) che ha la massima trasmissione per gli estremi dello spettro ed assorbe il giallo-verde, cioè la regione spettrale che è inutile ai fini del contrasto. Esistono filtri interferenziali didimi con curve più nette di quelli in vetro, e sono

detti “dicromatici”.

Anche i filtri policromatici a banda stretta o larga, cioè interferenziali o in vetro, possono essere utili e si ricordi che quelli interferenziali si possono inclinare ottenendo in genere uno spostamento di tutte le bande verso il viola. I filtri policromatici possono essere utili anche per migliorare la resa dei colori di una telecamera o anche di una foto a colori, ma occorrerà procedere per tentativi poiché il risultato dipende dall’oggetto, dalla sensibilità spettrale del sensore e dallo spettro di emissione della sorgente.

24 - TUBI PORTA - OCULARI

Nei microscopi di vecchia fabbricazione, ed ancora oggi nei modelli economici, si può vedere una struttura come quella di fig. 96, in cui l'oculare è inserito dall'alto in un vero e proprio **tubo porta-oculari**, cilindrico, diritto, in linea retta con l'obbiettivo (T in figura). Fra il tubo T e l'obbiettivo vi è il revolver R ed il "**corpo**" C. Le parti T e C determinano la centratura reciproca e la distanza fra obbiettivo ed oculare. Il corpo C può essere assai più corto del tubo T; quello che conta è la somma delle loro lunghezze poiché, aggiungendovi lo spessore del revolver R , esse determinano la "**lunghezza meccanica** del tubo" o Lm (vedi il § 10).

Un tale "**tubo monoculare diritto**" ha il vantaggio di non richiedere nessun elemento ottico accessorio fra obbiettivo ed oculare, eliminando la radiazione diffusa per riflessione sulle superfici del vetro di quegli elementi, causa di perdita di contrasto. Inoltre esso è assai economico. Per contro, esso ha un grave difetto: l'oculare è verticale e richiede una forte inclinazione del capo, che può provocare una precoce stanchezza. Per ovviare a questo, molti costruttori, come nel caso di fig. 96, rendono il "**braccio**" (B in fig. 96) inclinabile assieme al tavolino Ta ed al condensatore C per mezzo del perno P . Così l'intero tubo si inclina a volontà nella posizione più comoda.

Ma qui sopravviene un altro inconveniente: anche il tavolino si inclina e così il vetrino può scivolare e gli eventuali liquidi (preparato di micro-culture, olio da immersione, ecc.) colano. Per avere il tavolino orizzontale e l'oculare inclinato si ricorre ai "**tubi monoculari inclinati**" o "**a gomito**" come quello di fig. 97. In essi vi è un prisma come quello di fig. 34 - B (al § 11) che inclina l'asse ottico senza produrre perdite rilevanti della qualità d'immagine. Ovviamente, il prisma provoca un "avanzamento" dell'immagine (vedi il § 3.2), ma di questo si tiene conto in modo che la lunghezza "equivalente" del tubo (Lm), quella che ha valore dal punto di vista delle coniugate dell'obbiettivo, rimanga la medesima prevista dal progetto dell'obbiettivo stesso. Si è visto nei §§ 13.2.3.1 e 19.1.2 quali sono le conseguenze di un'alterazione della lunghezza del tubo.

Si noti anche che il prisma di fig. 34-B contiene due superfici riflettenti: la doppia riflessione fa sì che l'immagine finale risulti orientata come sarebbe in assenza di prisma. Una sola superficie rovescerebbe l'immagine nel senso alto-basso ma non in senso destra-sinistra: per questo si evita di porre in questa sede uno specchio singolo.

L'inclinazione del tubo a gomito non è standardizzata: perfino nei vari modelli dello stesso costruttore vi possono essere forti differenze; l'angolo fra l'asse del tubo e l'orizzontale può essere 45°, 35°, 30°, 25° fino a 15°. Il valore di questo angolo è importante quando si fissano al tubo certi accessori che fanno riferimento al piano del tavolo: camere lucide, tubi da disegno, ecc. Ed inoltre è una questione di comodità per via della posizione del capo[163].

Il tubo a gomito è generalmente girevole (magari allentando una vite) attorno all'asse verticale dell'obbiettivo. Ciò facilita l'osservazione a due o più persone sedute attorno allo strumento.

In uno stativo come quello di fig. 97, il tubo a gomito, nel caso di un singolo osservatore, può essere ruotato dalla parte del braccio B oppure dalla parte opposta, come in figura. Quest'ultima disposizione facilita la visibilità del tavolino e dell'oggetto ma sposta il baricentro più lontano dalla colonna verticale Co. Così si può dire dei tubi bioculari, che sono assai più pesanti.

---

[163] Alcuni strumenti sofisticati possiedono tubi "ergonomici" ad inclinazione variabile ma, anche in loro assenza, molti problemi si risolvono con una sedia ad altezza regolabile.

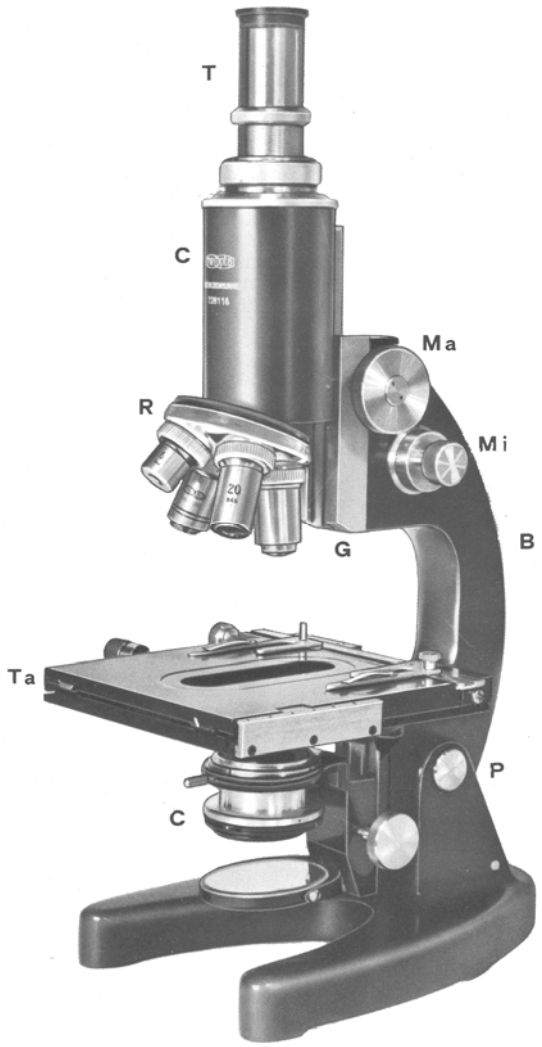


Fig. 96 Da Catalogo Meopta, Praga

Un tubo monoculare, diritto o inclinato, è generalmente intercambiabile con gli altri tipi sotto descritti, bi- o tri-oculari. Il meccanismo di fissaggio può essere a vite o "a coda di rondine circolare": quest'ultimo consta di un incastro rotondo, con orlo sporgente, che in sezione appare come un trapezio ("**coda di rondine**"). Tale incastro si appoggia su tre punte, di cui una sarà estraibile, e magari molleggiata, per consentire la sostituzione del tubo. Le altre due punte sono fisse e determinano la centratura del tubo. Il bloccaggio a tre punte è rapido, stabile e robusto, ed inoltre elimina del tutto i giochi poiché rientra nella categoria degli attacchi "cinematici".

I tubi monoculari a volte sono "**telescopici**", vale a dire a lunghezza variabile, in quanto costituiti da due parti di diverso diametro che rientrano l'una nell'altra, come in un cannocchiale. Essi sono utili in due casi almeno: •• correzione di un residuo di aberrazione sferica nell'obbiettivo, magari dovuto ad errato spessore della lamella (vedi il § 13.2.3.3); •• variazione dell'ingrandimento in modo da arrotondare l'**equivalente micrometrico** dell'obbiettivo (vedi i §§ 12.1 e 12.3). Un'apposita scala permette di sistemare i tubi telescopici al valore voluto di lunghezza (lunghezza totale Lm), che può variare sempre di qualche cm, per es. da 15 a 19 cm; verificare sempre la fedeltà di tale scala che, specie in strumenti di vecchia data, può non corrispondere al valore reale di Lm .

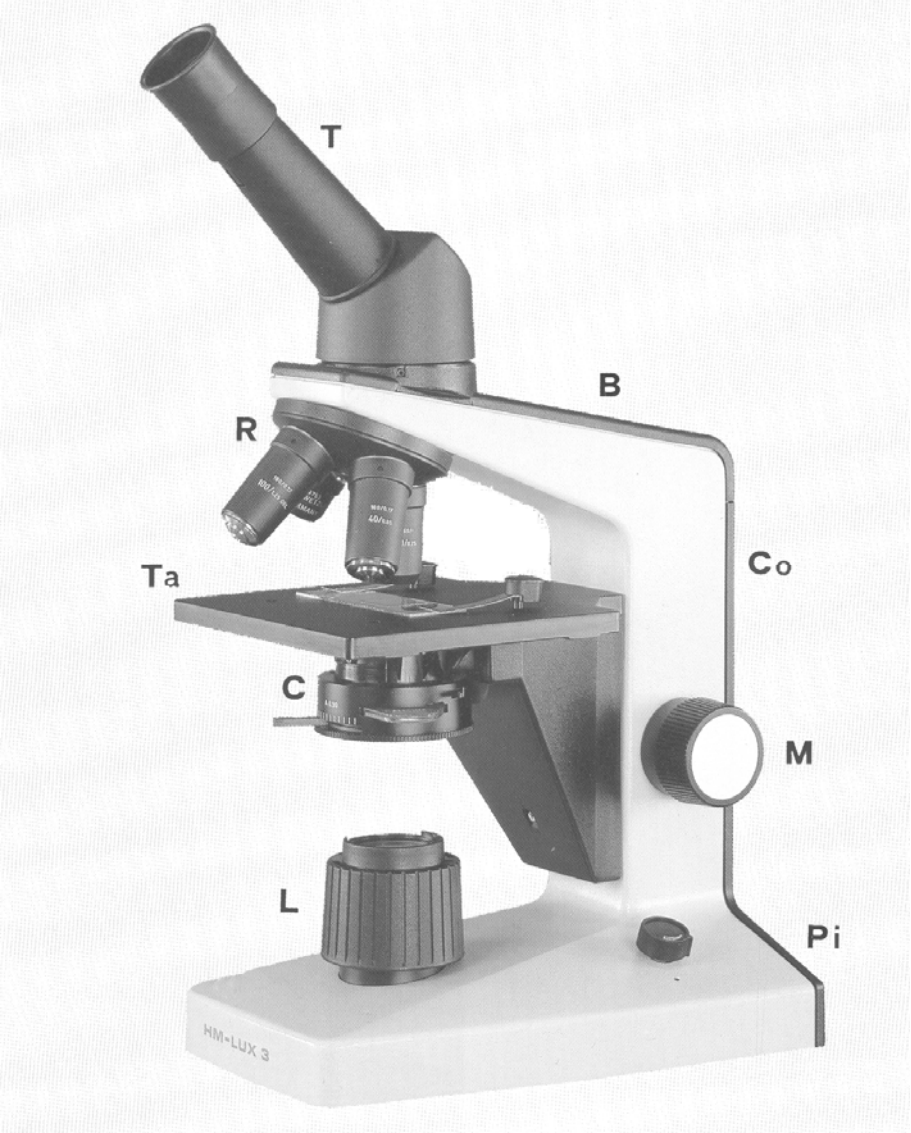


Fig. 97 Da Catalogo LEICA, Mod. HM LUX 3

I tubi diritti verticali sono poi quasi obbligatori quando si adopera una microcamera del tipo da applicare sopra l'oculare, fissata al tubo porta-oculari. Tale microcamera ha sempre un peso notevole e deve trovarsi sull'asse dell'obbiettivo, come appunto si può fare con un tubo verticale. Invece, se la si applicasse su un tubo inclinato, il suo peso farebbe leva sull'attacco del tubo e danneggerebbe la stabilità e la robustezza dello strumento.

24.1 - TUBI BI - OCULARI

Si noti subito la grafia "**bi-oculari**", che indica tubi con due oculari che ricevono la stessa immagine, distinta da "**binoculari**", che indica tubi fatti a binocolo cioè con due oculari e due obbiettivi, che producono due immagini distinte. I tubi binoculari si usano nei microscopi stereoscopici per dare la visione stereoscopica, cioè la sensazione del rilievo, e ne parleremo nel § 29.

Nei microscopi normali si usano invece tubi bioculari, costruiti secondo lo schema di fig. 98 e chiamati anche "**testata**". Esaminiamo da vicino la figura.

Il fascio W, proveniente dall'obbiettivo Ob, può eventualmente attraversare un prisma E che inclina l'asse ottico come nei tubi monoculari a gomito, visti sopra; il prisma E funziona in genere col principio del prisma a due riflessioni interne, come quello rappresentato in fig. 34 - B. Esso può essere assente[164] poiché la funzione di inclinare l'asse ottico può essere svolta da un altro organo presente in un tubo intermedio (vedi oltre).

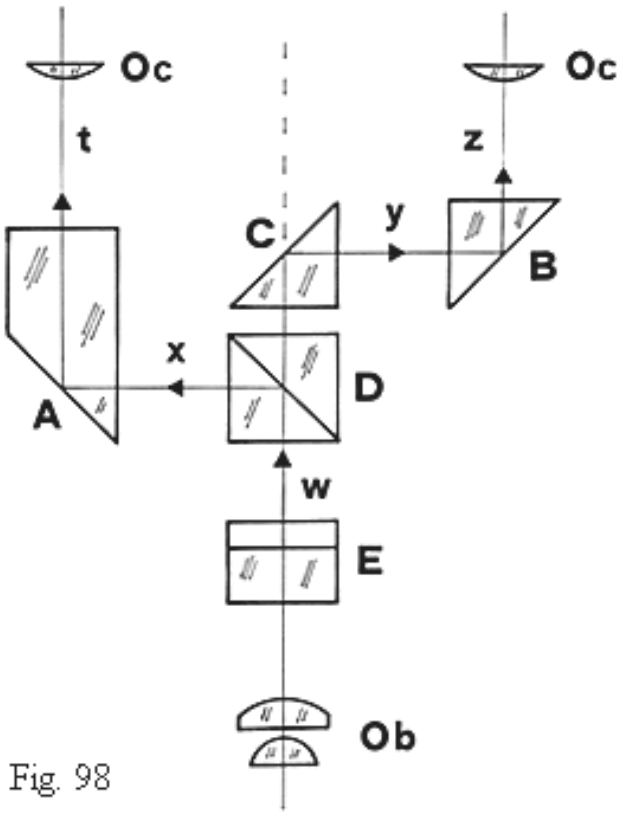


Fig. 98

Ebbene, il fascio W è quello che emerge dall'obbiettivo (o dalla lente di tubo per gli obbiettivi a coniugata infinita) e che converge nell'immagine intermedia. Attraversando il prisma D, il fascio W viene diviso in due parti identiche dalla superficie semi-riflettente disposta diagonalmente nel prisma, inclinata di 45° sulle facce del prisma stesso. Il prisma D è descritto nel § 11 (fig. 34 - C). La superficie semiriflettente è otticamente piana e non deve alterare la struttura geometrica dell'immagine riflessa o trasmessa; le due immagini parziali ottenute (fasci **x** ed **y**) possono essere fotometricamente uguali se i coefficienti di riflessione e di trasmissione del prisma sono uguali.

A questo punto, con altri prismi a riflessione interna (A, B e C), del tipo del prisma di fig. 34 - A, si riportano i fasci parziali **x** ed **y** ad essere paralleli (vedi i fasci **t** e **z** in fig. 98). Sopra i prismi A e B si formano le due immagini intermedie e si trovano gli oculari (Oc). Tutto si svolge come se ognuno dei due oculari, a parte la perdita fotometrica, ricevesse dall'obbiettivo il fascio W diretto, con in più lo spessore in vetro dei prismi D + A oppure D + C + B. Tale spessore, a parte le perdite per assorbimento o per riflessione (almeno 4 % per ogni superficie, molto meno per le superfici "trattate" contro i riflessi), provoca l'insorgenza di varie aberrazioni, in specie cromatiche. Il costruttore può tener conto di questo nel progetto dell'obbiettivo o dell'intero sistema, ma è ovvio che un accoppiamento obbiettivo-oculare può essere ottimizzato (dal punto di vista delle aberrazioni) per l'uso con la serie di prismi del tubo bioculare o in assenza di prismi (tubo monoculare diritto), ma non può essere ottimizzato per tutte le diverse situazioni. In pratica, il controllo di un obbiettivo + oculare, specie per la cromatica laterale, va fatto con tutti i tubi previsti per quello strumento, e fra l'uno e l'altro si noterà qualche differenza.

[164] Vedi la fig. 100.

24.1.1 - Correzione diottrica e parfocalità

Nella fig. 98 sono schematizzati i due oculari (Oc) centrati sugli assi ottici parziali **t** e **z**. I due oculari vanno infilati in due tubi (o "boccole") porta-oculari paralleli[165] (vedi la fig. 99 nel § 24.1.3).

Ora, le due immagini debbono essere identiche e simultaneamente a fuoco: debbono verificarsi alcune condizioni. Intanto, gli spessori in vetro attraversati dai due fasci parziali (**x - t** e **y - z** in fig. 98) debbono essere identici, e così l'indice e la dispersione del vetro; in secondo luogo, i due tubi porta-oculari debbono portare gli oculari alla stessa distanza dall'immagine intermedia, cioè i due canali debbono essere parfocali fra loro, ovvero la lunghezza equivalente del tubo Lm deve essere la stessa per i due oculari. Naturalmente, la parfocalità presuppone anche che i due oculari siano identici: uguale ingrandimento V , uguale indice di campo **s'** , e soprattutto uguale distanza fra la battuta (vedi i §§ 10 e 20.4) ed il primo fuoco. Nel § 20.5 si è parlato in dettaglio dell'equipollenza degli oculari.

Normalmente, anche nei tubi bioculari, le cose sono fatte in modo che, con focalizzazione corretta, l'immagine o le immagini finali siano a distanza infinita; l'osservazione è così possibile senza che l'osservatore debba "accomodare" e sforzare l'occhio. Ma qui nasce una complicazione: in molte persone vi è una differenza di potenza "sferica" (sferica, escludente quindi l'astigmatismo) fra i due occhi, cioè una "**anisometropìa sferica**"; per vedere nitido con entrambi gli occhi, tali persone dovrebbero mettere a fuoco separatamente i due canali del tubo bioculare. In pratica, questo è reso possibile rendendo regolabile la lunghezza di uno od entrambi i tubi porta-oculari a mezzo di una ghiera, cui corrisponde una vite nella superficie interna degli stessi.

Consideriamo il caso in cui solo uno dei due tubi porta-oculari sia regolabile. Si mette a fuoco il canale a tubo fisso con i normali meccanismi di messa a fuoco, magari chiudendo l'altro occhio. Fatto questo, si guarda nell'altro canale a tubo regolabile e, senza alterare la messa a fuoco, si cerca di riavere l'immagine più nitida possibile regolando la ghiera che varia la lunghezza del tubo. In questa regolazione, si ricordi quanto detto nel § 12.1 a proposito della regolazione degli oculari micrometrici: per evitare di far intervenire l'accomodazione dell'occhio, conviene partire dalla posizione "tutto fuori", cioè tutto estratto, dell'oculare.

Se invece entrambi i tubi porta-oculari sono regolabili, conviene tenerne uno fisso nella posizione "0" e regolare l'altro come sopra detto.

La posizione "0" o "di riposo" è sempre indicata, almeno con un trattino o un puntino, sulla ghiera di regolazione dell'oculare. Essa dovrebbe corrispondere alla distanza ideale fra obbiettivo ed oculare, quella prevista dal progettista. Ma è sempre opportuno verificare l'esattezza di questa posizione[166]: si metta a fuoco un preparato sottile (uno striscio, un reticolo, un micrometro oggetto); poi si ruoti rapidamente il revolver per verificare la focalizzazione con i vari obbiettivi, in particolare col più debole e col più forte[167]; si ruoti la ghiera dell'oculare ponendola in differenti posizioni (e si ripeta ogni volta la sostituzione

---

165 Certi costruttori rendono gli assi dei due oculari leggermente convergenti per concedere una leggera convergenza agli occhi dell'osservatore, ma ciò stimola la manifestazione dell'"effetto del tubo" (vedi il § 4.2 e quello che qui segue).

166 La ghiera di regolazione è generalmente fissata con tre piccoli "grani" (viti senza testa) e può quindi allentarsi e ruotare in posizione errata senza che l'operatore se ne accorga; è sulla ghiera che si fa forza per ruotare il tubo porta-oculari regolabile.

167 Si usi il più forte a secco per evitare il fastidio dell'immersione ed il rischio d'imbrattare d'olio gli altri obbiettivi forti.

degli obbiettivi) fino ad ottenere la miglior parfocalità degli obbiettivi (vedi il § 19.1.2). Quella è la posizione ottimale. Se non si riesce ad ottenere la parfocalità fra i vari obbiettivi, vuol dire che questa possibilità non è stata prevista nel progetto dello strumento.

Oltre alla posizione di "0", la ghiera porta spesso una graduazione con qualche tacca e qualche volta dei numeri. Quella graduazione è utile solo come riferimento quando si deve ritrovare la posizione ottimale per un certo osservatore, ma non ha valore assoluto: l'effetto della rotazione della ghiera (lo spostamento dell'immagine finale) varia col variare della focale dell'oculare (vedi la nota 126 nel § 20.10) .

24.1.2 - L' "effetto del tubo" e la convergenza

Nel § 4.2 si è spiegato quel fenomeno psicologico chiamato "effetto di tubo", per il quale un osservatore sprovveduto, mentre avvicina l'occhio all'oculare, "accomoda", cioè sforza l'occhio a focalizzare sull'interno del tubo invece che su distanza infinita; in questo modo, anche l'immagine finale del microscopio verrà portata a piccola distanza invece che all'infinito, e per fare questo basta un ritocco alle manopole di messa a fuoco.

Così, oltre a stancare inutilmente l'occhio, si alterano le coniugate dell'obbiettivo con le note conseguenze.

L'effetto di tubo si presenta anche con i tubi bioculari con gli stessi effetti, in più col rischio che l'accomodazione non sia la stessa per i due occhi e così insorga una **anisometropia** temporanea. Ma c'è una complicazione: quando noi osserviamo ad occhio nudo un oggetto vicino, incosciamente eseguiamo due operazioni:

•• "accomodiamo", cioè alteriamo la curvatura della lente cristallina dell'occhio in modo da avvicinare il piano della visione distinta;

•• "convergiamo", cioè spostiamo gli assi dei due occhi l'uno verso l'altro in modo che essi si incrocino nello stesso punto dell'oggetto vicino. In stato di riposo, i nostri occhi (se sono normali) sono focalizzati per un oggetto a distanza infinita ed i due assi sono paralleli.

Ebbene, **accomodazione** e **convergenza** sono fenomeni automatici e collegati fra loro. Questo significa che, appena si verifica l'effetto del tubo, l'accomodazione involontaria trascina con sé la convergenza, e gli assi dei due occhi non sono più paralleli. Ma gli assi degli oculari in un tubo bioculare sono paralleli[168] (proprio per consentire l'osservazione con occhi rilassati, non accomodati). Allora gli assi degli occhi non sono più paralleli agli assi dei rispettivi oculari e le immagini retiniche non sono più congruenti: in parole povere, "si vede doppio". Ciò può essere causa di fatica e mali di testa.

24.1.3 - Distanza inter-pupillare

La distanza fra gli assi dei due occhi (supposto che siano paralleli come deve avvenire al microscopio) si chiama "**distanza interpupillare**" o, semplicemente, "**distanza pupillare**"; essa può variare, grosso modo, da 55 a 75 mm.

Così nei tubi bioculari deve esistere un meccanismo per variare la distanza fra gli assi degli oculari e farla coincidere colla distanza pupillare dell'osservatore. Facciamo riferimento

[168] Abbiamo già fatto notare che qualche strumento del passato è stato costruito con oculari leggermente convergenti (Galileo, Spencer, ecc.), ma questa soluzione non è "fisiologica" ed è stata abbandonata.

ancora alla fig. 98 (§ 24.1): per variare la distanza fra gli assi finali **t** e **z** vi sono essenzialmente due modi.

1) Spostare ogni oculare assieme al prisma, rispettivamente, A e B nel piano del disegno, cioè nella direzione degli assi **x** ed **y**; naturalmente questo movimento deve avvenire simmetricamente rispetto all'asse centrale W in modo che i cammini ottici dei due canali restino identici. Il movimento del gruppo oculare + prisma avviene per ognuno dei due canali a mezzo di una slitta a "coda di rondine" e le due slitte possono essere comandate a mano o tramite una manopola centrale o una leva, con movimento simmetrico (un opportuno meccanismo rende solidali i due movimenti). Sulle slitte o sulla manopola vi può essere una scala graduata da 55 a 75 mm, il che indica la distanza pupillare impostata. È questa la soluzione di fig. 99 che consente di incollare fra loro i prismi C e D di fig. 98.

Ma c'è un problema: durante il movimento delle slitte varia la lunghezza dei tragitti parziali **x** ed **y** e quindi la distanza obbiettivo-oculare, con tutte le conseguenze più volte citate, fra cui una variazione del "valore micrometrico" utilizzato nelle misure geometriche (vedi il § 12.3). Per ovviare a ciò, alcuni costruttori (vecchia produzione Zeiss, ad es.) rendono regolabili entrambi i tubi porta-oculari e sulle rispettive ghiere incidono una scala numerata da 55 a 75: il valore impostato di distanza pupillare si riporta su entrambe le ghiere e con ciò la variazione di lunghezza dei cammini **x** ed **y** viene compensata dallo spostamento assiale degli oculari: la lunghezza equivalente del tubo rimane così quella ideale. Se questa compensazione non è eseguita con cura, si ha un'altra causa di variazione dell'ingrandimento e del "valore micrometrico", e quindi un'altra causa d'errore nelle misure.

Infatti, questo meccanismo di compensazione in pratica non funziona: la distanza pupillare va cambiata ogni volta che cambia l'osservatore, e nessuno ha il tempo e l'attenzione di leggere il valore di distanza sulla scala apposita, riportarla su un oculare, poi sull'altro e riprendere il lavoro. In sostanza, le ghiere degli oculari vengono lasciate in una posizione qualsiasi, difficilmente quella corretta, e spesso diversa per i due oculari. Un disastro. Almeno uno dei tubi porta-oculari dovrebbe essere fisso per servire di riferimento all'altro.

Fig. 99 Da foto originale di prodotto PZO, Varsavia

Una miglior soluzione consiste nel collegare le due slitte porta-oculari ad un meccanismo che fa loro compiere un movimento a 45° rispetto all'asse W (sempre nel piano del disegno

di fig. 98) in modo che, appena si varia la distanza pupillare, automaticamente varia l'altezza degli oculari, di entrambi, ed i due movimenti si compensano (Leitz). Questa soluzione è più costosa della precedente, ed il tubo risulta più pesante ed ingombrante.

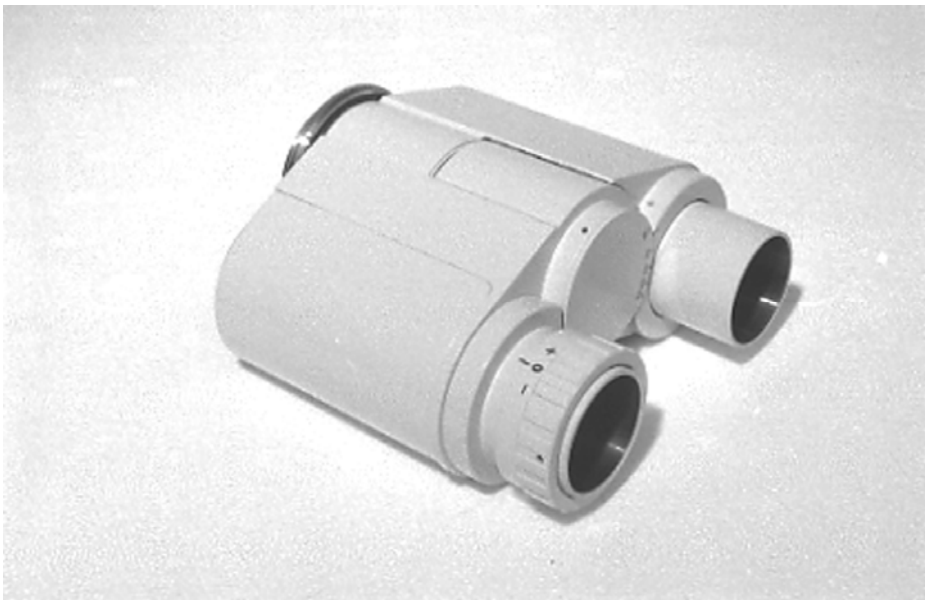


Fig. 100 Da foto originale di prodotto Aus Jena, Jena, DDR

In ogni caso, il movimento dei prismi nel piano del disegno di fig. 98 ha un vantaggio: durante la variazione della distanza pupillare gli oculari non ruotano attorno al loro asse, né attorno al centro dell'immagine; ciò è prezioso quando l'oculare contiene reticoli o sagome di vario genere (vedi sotto).

2) La distanza pupillare può variare in un altro modo (fig. 100).

Il sistema ottico del tubo (fig. 98) si può dividere in due parti: il prisma A è solidale con quello D e ruota intorno ad un asse coincidente con W ; il prisma B è solidale col C (magari si tratta di un unico prisma) e ruota sul medesimo asse W . Le due metà del tubo ruotano allora rispetto alla base dello stesso tubo, che può contenere il prisma E . Normalmente le due metà del tubo stanno ripiegate l'una sull'altra, come in fig. 100, e variando la loro inclinazione può variare la distanza pupillare (distanza fra gli assi **t** e **z** di fig. 98) nella misura indicata sopra. In questo modo, il tubo assomiglia ad un binocolo, a parte la mancanza dei due obbiettivi.

Il vantaggio di questa soluzione è che la lunghezza dei fasci parziali **x** ed **y** rimane costante e così la lunghezza equivalente del tubo. Variando la distanza pupillare non si ha alterazione né di fuoco né di parfocalità degli obbiettivi, né di ingrandimento. Questa soluzione è infatti molto diffusa e va sotto il nome di **Siedentopf**[169].

Ma anche qui vi è un inconveniente: ruotando le due metà del tubo ruotano anche gli oculari e con essi gli eventuali reticoli contenuti in essi. Ciò è intollerabile in casi particolari: sistemi fotografici e relativi reticoli di inquadratura, microscopi polarizzatori con crocefilo, ecc. In questi casi si ricorre ad altre soluzioni, oppure si complica il tubo con un sistema di camme che fanno ruotare gli oculari in senso inverso alle due metà del tubo (Zeiss, ecc.).

[169] Heinrich Friedrich Wilhelm SIEDENTOPF (1872-1940), fisico tedesco, collaboratore della casa Zeiss a Jena.

24.1.4 - Centratura

Si è detto finora che gli assi dei due oculari (**t** e **z** in fig. 98) sono paralleli, e ciò è facilmente ottenuto con sufficiente precisione con le normali tecniche di lavorazione meccanica. Ma occorre anche che nei campi visivi dei due oculari compaia la stessa porzione del campo oggetto, ovvero che le due immagini intermedie abbiano la stessa posizione rispetto ai diaframmi di campo visivo dei due oculari. Si può parlare di "**parcentralità**" intrinseca del tubo bioculare.

Questa è una centratura assai critica nel senso che uno spostamento di un'immagine rispetto all'altra di 1/100 del diametro del campo può essere sufficiente a dare difficoltà di fusione delle immagini retiniche. Inoltre, la centratura reciproca dei due canali può variare mentre si varia la distanza pupillare per piccoli difetti meccanici o anche mentre si ruotano gli oculari all'interno del tubo per gli inevitabili giochi ed errori di centratura delle lenti degli oculari stessi.

Per questi motivi, in un tubo bioculare è difficile che esista e si conservi sempre una centratura reciproca perfetta delle immagini, e questa è spesso la causa di stanchezza al seguito di osservazioni prolungate.

Il rimedio consiste in un ritocco della posizione di qualcuno dei prismi (fig. 98), oppure della posizione trasversale di una o entrambe le boccole porta-oculari. Ma per questo occorre una certa esperienza, se non altro perché, nel lodevole intento di centrare le immagini, si rischia di perdere il parallelismo fra gli assi (vedi in questo sito l'art. n° 37).

Quando poi, in seguito ad un urto, una caduta, il distacco dei mastici, ecc., uno o più dei prismi della fig. 98 subisce una traslazione e/o una rotazione, sono possibili molte forme di disallineamento. Una correzione è difficile senza opportuni riferimenti ottici quali quelli offerti da appositi attrezzi. Occorrerà anche controllare che gli assi **t, z** e **w**, oltre ad essere paralleli fra loro, passino per il centro dell'obbiettivo: un apposito canocchialetto (un microscopio ausiliario con reticolo, ad es.) viene posto in luogo dell'oculare e focalizzato sulla pupilla d'obbiettivo, che deve risultare al centro del campo.

24.1.5 - Fattore di tubo

In molti casi, il costruttore riesce a fare in modo che il cammino ottico del tubo bioculare, tenuto conto dell'avanzamento provocato dai prismi, sia uguale a quello previsto dal progetto dell'obbiettivo.

In tal caso il tubo non contiene lenti e l'ingrandimento finale è uguale a quello che si avrebbe con un tubo monoculare diritto della lunghezza prevista. Si dice che il "fattore di tubo" è pari ad 1 ×.

Ma spesso l'ingombro dei prismi è tale che l'oculare si trova più lontano dall'obbiettivo di quanto non dovrebbe. Per mettere a fuoco, bisognerebbe aumentare la coniugata immagine dell'obbiettivo, ma questo, si è detto più volte, porta a troppi guai. Non rimane che innalzare della giusta misura l'immagine intermedia, senza alterare le coniugate dell'obbiettivo. Di solito, questo si ottiene ponendo all'ingresso del tubo una lente divergente di opportuna potenza, che rende meno convergente il fascio che concorre nell'immagine intermedia e

sposta verso l'alto il piano in cui si forma l'immagine stessa. In questo modo però l'immagine diviene leggermente più grande ed il "fattore di tubo" diventa 1,25 × o 1,5 ×, fino a 1,6 ×. Questo fattore superiore all'unità può essere utile in certi casi per aumentare l'ingrandimento complessivo, ma si corre sempre il rischio di superare l' "ingrandimento utile" (vedi il § 18.12) e comunque diminuisce la definizione, espressa in linee/mm nell'immagine finale. A questo punto si potrebbero usare oculari più deboli in modo da non alterare l'ingrandimento complessivo, ma questo avverrà normalmente a scapito del campo angolare dell'oculare (vedi i §§ 7.1 e 20.1).

Un allungamento del cammino si potrebbe ottenere, senza alterare l'ingrandimento, a mezzo di un "telan" (vedi il § 3.2.2 e la fig. 17), ma questa è una soluzione spesso ignorata dai costruttori.

24.1.6 - Equipollenza dei tubi

Da un costruttore all'altro, è generalmente diverso l'attacco meccanico dei vari tubi porta-oculari e la loro intercambiabilità è impossibile. Ma, per un medesimo costruttore, esistono in genere vari tipi di tubo, meccanicamente intercambiabili. Occorre però garantirsi circa l'equivalenza o equipollenza ottica di essi, come si è fatto per gli obbiettivi (§ 19.4), per gli oculari (§ 20.5) ed i condensatori (§ 21.6).

Intanto, è ovvio che dovrà essere uguale il diametro interno delle boccole porta-oculari, ma anche la loro lunghezza dovrà essere sufficiente a permettere agli oculari più lunghi di penetrarvi completamente. Poi occorrerà tollerare qualche residuo di aberrazioni, in specie cromatica laterale, per le ragioni illustrate nel § 24.1. Ma soprattutto deve esistere la **parfocalità** dei tubi: passando dall'uno all'altro non deve essere necessario ritoccare la messa a fuoco, altrimenti significa che la lunghezza equivalente del tubo non è la stessa per tutti i tubi e così essa potrà essere corretta per uno ma non per gli altri. Per una verifica, si metta a fuoco con un certo tubo un preparato sottile, possibilmente con un obbiettivo debole[170] ed un oculare forte. Poi, senza nulla toccare, si sostituisca il tubo; con lo stesso oculare, si deve ritrovare il fuoco. Se il fuoco va perduto, cioè i due tubi non hanno la stessa lunghezza equivalente, si capirà qual'è quello corretto osservando quale dei due assicura la miglior parfocalità degli obbiettivi (vedi il § 24.1.1).

Passando da un tubo monoculare ad uno bioculare si avrà naturalmente una perdita fotometrica: prima di tutto il semiriflettente D di fig. 98 invia ad ogni canale non più del 50 % del fascio ricevuto dall'obbiettivo (W); in secondo luogo, le superfici dei prismi, e qualche volta le superfici riflettenti se non sono a riflessione totale, fanno perdere qualche percento di energia per ogni superficie. Nonostante questa perdita fotometrica, il tubo bioculare è generalmente preferito poiché la fusione psichica delle due immagini retiniche aiuta a mediare le informazioni portate dai due nervi ottici e quindi ad integrare mentalmente la struttura discreta dell'informazione fornita dalla retina (che è formata da isolati elementi sensibili) ed a neutralizzare i difetti locali di essa. In altre parole, la visione bioculare aiuta la "risoluzione fisiologica" dell'immagine, mentre la risoluzione strumentale, nel migliore dei casi, rimane la stessa.

Il tubo monoculare è invece da preferire quando l'immagine è poco luminosa, come nelle osservazioni in campo scuro, fluorescenza, radiazione polarizzata, ecc.

---

[170] Un obbiettivo debole ha in genere la pupilla d'uscita e l'apertura lato immagine più grande di uno forte, quindi diviene più critico valutare la posizione dell'immagine intermedia.

24.2 - TUBI TRIOCULARI

Oltre alla visione nel o negli oculari, può essere utile un'altra immagine da utilizzare per la fotografia, l'elaborazione televisiva o elettronica, la fotometria, ecc.

Per ottenere ciò, vi sono varie soluzioni.

24.2.1 - Tubo intermedio

Vi può essere un tubo intermedio (vedi il § 25) interposto fra corpo del microscopio e tubo bioculare, il cui funzionamento si basa ancora sull'uso di una superficie semi-riflettente, generalmente all'interno di un prisma come quello di fig. 34 C., capace di fornire due immagini intermedie identiche, almeno geometricamente.

Questo tubo intermedio dovrà possedere un opportuno attacco per il tubo bioculare ed una seconda "uscita" da cui emerge la seconda immagine intermedia. Sulla seconda uscita si può installare o un tubo "diritto monoculare" (vedi il § 24) o un raccordo di altro tipo. Nel tubo diritto monoculare si può inserire un terzo oculare, di tipo normale e con ciò consentire, in alternativa: •• la visione ad un secondo osservatore; •• la fotografia, con microcamere progettate per essere applicate sopra un oculare; •• le riprese televisive, con apposito raccordo; •• misure ed elaborazioni varie sull'immagine (micro-fotometria, micro-spettroscopia, ecc.).

Se la seconda uscita (verticale) prevede un raccordo speciale, in esso può non esservi alcuna lente, in rari casi destinati alla cinematografia o alle riprese TV, oppure un "proiettivo" per la fotografia (§ 20.7) o altro. In questi casi, può non essere possibile la visione da parte di un secondo osservatore.

L'inserzione del tubo intermedio fra corpo e tubo bioculare altera forzatamente la struttura geometrica del sistema e quindi di per sé varia la lunghezza equivalente del tubo. Per questo solo fatto si altererebbe la messa a fuoco, l'ingrandimento, la parfocalità degli obbiettivi, ecc. Il rimedio è essenzialmente di tre tipi:

•• obbiettivi con "coniugata infinita" (la distanza obbiettivo - lente di tubo è indifferente e può essere aumentata per consentire l'interposizione del tubo intermedio); la lente di tubo si troverà naturalmente all'ingresso del tubo bioculare e quindi dopo il tubo intermedio;

•• una lente divergente debole posta all'ingresso del tubo intermedio, come si fa per certi tubi bioculari (vedi il § 24.1.5). L'immagine intermedia viene innalzata di quanto occorre, senza alterare le coniugate dell'obbiettivo, ma l'ingrandimento aumenta ed il "fattore di tubo" è superiore ad 1×.

•• un sistema Telan (vedi il § 3.2.2.) di cui la lente divergente è posta all'ingresso e la convergente all'uscita del tubo intermedio (in realtà si avranno due lenti convergenti alle due uscite del tubo). Questa soluzione, rispetto alla precedente, ha il vantaggio di non alterare l'ingrandimento.

Come accennato sopra, il fascio proveniente dall'obbiettivo viene suddiviso in due fasci geometricamente identici da una superficie semiriflettente piana ("**beam splitter**" o "**divisore**

di fascio"), come avviene nei tubi bioculari (prisma D in fig. 98). Si tratterà in genere della superficie diagonale di un prisma cubico come quello di fig. 34 - C (§ 11), eventualmente combinato con un prisma del tipo illustrato in fig. 34 - B per avere l'inclinazione dell'asse ottico per il tubo bioculare; si può anche trattare di un prisma unico che combina le due funzioni, colla superficie semi-riflettente inclinata di un angolo diverso da 45° rispetto all'asse ottico (in quest'ultimo caso l'asse degli oculari sarebbe orizzontale: un po' scomodo).

Se vi è un prisma unico e fisso come divisore di fascio, la superficie semiriflettente può avere un rapporto di divisione 1:1 (50 % del fascio nel canale visione, 50 % nel canale "fotografico" o verticale), ma spesso si preferisce facilitare il canale foto (ad es. 80 %) a scapito di quello per la visione: si parla di tubi "20/80", ad es.

Nei casi più sofisticati, il prisma è mobile ed eventualmente intercambiabile con altri prismi di diverso rapporto di divisione; i prismi sono montati su una slitta comune manovrabile dall'esterno. Se si ha un solo prisma, si può avere una posizione 0/100 (tutto il fascio nel canale foto, prisma divisore assente) ed una 20/80 o 50/50; se si hanno tre posizioni e due prismi, si avrà in genere una posizione 0/100 (senza prisma), una 50/50 (o 25/75 o 20/80) ed una 100/0 (tutto nel canale visione, prisma solo riflettente). I rapporti indicati sembrano dividere il fascio in due frazioni, per es. 80 % e 20 %, tali che la loro somma produca 100 %; tale indicazione presuppone che la superficie semi-riflettente non produca perdite fotometriche, e ciò è abbastanza vero se si tratta di sistemi interferenziali a strati sottili (§§ 17.1.2 e 22.1.3), ma se si tratta di semplici metallizzazioni, la frazione assorbita può arrivare al 30 %.

Una prestazione che si deve esigere da un sistema trioculare è la **parcentratura**, cioè il centro del campo visuale, quale appare negli oculari, deve coincidere col centro del campo nel canale verticale. Questa centratura si controlla facilmente, specie se nel canale verticale vi è un oculare. Meno facile è modificarla, spostando il prisma divisore, cioè spostando l'immagine riflessa, ma non l'immagine trasmessa dal prisma stesso.

Altra esigenza è la **parfocalità** dei due canali: se l'immagine è a fuoco negli oculari (lo si apprezza meglio ponendo sull'oculare un cannocchiale di 3 - 5 ingrandimenti focalizzato all'infinito), deve esserlo anche nel canale verticale. Se in questo vi è un sistema fotografico, occorre aprire la microcamera, poggiare un vetro smerigliato[171] sulla finestrella, con la superficie smerigliata o rigata dalla parte dell'emulsione, ed osservare l'immagine su quest'ultima con una forte lente d'ingrandimento, curando di vedere simultaneamente a fuoco la "grana" (o le righe) e l'immagine microscopica. Se la microcamera dispone di un proprio mirino laterale, sotto forma di un piccolo cannocchiale per la messa a fuoco, la parfocalità è meno necessaria, anche se augurabile, poiché la messa a fuoco finale per la foto si esegue in questo caso nel mirino.

[171] Meglio un vetro lucido, largo 34 mm (un po' meno della pellicola, supponendo un formato 35 mm), con qualche riga prodotta da una punta d'acciaio duro, come la punta di un "maschio" da meccanici. Curare che il vetro poggi sulle stesse superfici che fanno da riferimento per l'appoggio della pellicola.

Fig. 101 - Da foto originale di prodotto PZO, Varsavia

24.2.2 - Tubo unico

In altri casi, il tubo bioculare forma un tutto unico col tubo verticale (fig.101).

Nella parte bassa di questo "**tritubo**" vi è il prisma divisore o la slitta con due o più prismi. Anche qui, il tubo verticale può essere adatto a portare un oculare normale più certe microcamere a ciò previste (come nel tubo di fig. 101), oppure essere adatto ad altri accessori con altri tipi di sistema ottico.

Anche qui vi sono problemi di parcentratura e parfocalità e vari tipi di prismi con diverso rapporto di divisione del fascio: il rapporto più comune è circa 20 - 25% nel ramo visione, il resto nel ramo "foto". Inoltre, la parte bioculare può essere inclinata in vario grado rispetto all'asse dell'obbiettivo.

25 - TUBI INTERMEDI

Il "tubo intermedio" descritto nel § 24.2.1 è il tipo più semplice di quegli innumerevoli accessori che si interpongono fra obbiettivo (con relativo revolver, magari fissato all'estremità di un braccio) e tubo porta-oculari. Ogni costruttore propone qualche modello diverso di "**tubo intermedio**".

Esso costituisce un accessorio, negli strumenti di uso generale, oppure una parte essenziale, in strumenti per applicazioni particolari; può avere le forme più diverse, e solo il ricordo di strumenti semplici come quello di fig. 96, molto diffusi un tempo, può giustificare il termine "tubo". In ogni caso, è bene verificare qual'è il "**fattore di tubo**" (Ft), cioè l'ingrandimento aggiuntivo di questi accessori. Si va in genere da 1× a 2×. È sempre preferibile un "fattore" basso, meglio se 1×, sia per limitare la perdita di luminosità e di definizione, sia per non complicare il calcolo dell'ingrandimento totale. Nel § 12.7.3 si parla del metodo per la misura del fattore di tubo.

Inoltre, se vi sono due o più "uscite", si deve pretendere la parfocalità e la parcentralità fra di esse, come pure la parfocalità e la parcentralità fra lo strumento munito e privato del tubo intermedio.

All'interno di un "tubo intermedio" possono trovarsi parti ottiche e meccaniche con le più svariate funzioni, di cui proviamo ad elencare le più diffuse.

25.1 - LENTI SEMPLICI

Può essere la "lente di tubo" (convergente, con focale pari a 160 − 250 mm) richiesta dagli obbiettivi con seconda coniugata infinita (vedi il § 3.2.3 e la fig. 18).

Può essere la lente divergente debole citata nei §§ 24.1.5 e 24.2.1, che serve solo a spostare assialmente l'immagine intermedia (variando nel contempo l'ingrandimento) senza alterare la lunghezza equivalente del tubo.

Con gli obbiettivi a "seconda coniugata finita", si può anche avere un sistema "Telan" (§ 3.2.2) che sposta l'immagine intermedia senza variare l'ingrandimento. Si è detto che, fra le due lenti del Telan, il fascio è coniugato "all'infinito", nel senso che, per ogni punto dell'oggetto, si ha un fascio parallelo o "**telecentrico**". Ebbene, spesso il sistema Telan è usato proprio per sfruttare il percorso telecentrico in quanto in esso si possono introdurre filtri e prismi senza spostare l'immagine intermedia, e questo lo si è già detto nel § 3.2.2. Ma, nel percorso telecentrico, si possono anche introdurre altri sistemi di lenti purché "afocali". Si chiama "**afocale**" un sistema di lenti senza fuoco, senza piani di convergenza, e cioè un sistema per cui sia l'oggetto che l'immagine sono a distanza infinita. È tale un cannocchiale o un telescopio correttamente messo a fuoco (immagine finale a distanza infinita). In microscopia si usano spesso dei sistemi "**Galileiani**", cioè dei cannocchiali con obbiettivo convergente ed oculare divergente, di piccolo ingrandimento e di piccole dimensioni, secondo lo schema del cannocchiale di Galileo. Tali sistemi possono ingrandire o anche rimpiccolire

(invertendo le lenti) e si usano per introdurre un fattore d'ingrandimento diverso da 1 in un sistema intermedio. Vi possono essere dei "variatori d'ingrandimento", che contengono diversi sistemi galileiani ed operano per valori discreti, non per variazione continua, come avviene invece nei sistemi "pancratici" (vedi sotto).

In pratica, sono in uso valori poco diversi da 1: 0,8 ×, 1,25 ×, 1,5 × e simili (vedi anche il § 19.2.4).

Variando la distanza fra le lenti, un sistema galileiano può divenire non afocale; se la sua focale complessiva diviene, per es., 250 mm, esso può funzionare da lente di tubo per un obbiettivo "a coniugata infinita", ma con fattore d'ingrandimento diverso da 1 . Vi sono tubi intermedi contenenti un tamburo girevole e sul tamburo sono montati diversi di questi sistemi, con duplice funzione (lente di tubo e variatore d'ingrandimento) e con diverso fattore.

25.2 - LENTI COMPLESSE

Vi sono variatori d'ingrandimento di tipo "**pancratico**" o "**zoom**" cioè sistemi di lenti di cui è possibile variare con continuità qualche parametro ottico, fra cui la focale e l'ingrandimento. Tale variazione si ottiene spostando assialmente uno o più gruppi di lenti rispetto ad altri gruppi che sono fissi; lo spostamento è ottenuto con un comando esterno (anello centrato sull'asse, manopola, leva, ecc.).

Un tale "variatore d'ingrandimento" può consentire una variazione secondo un rapporto che è diverso da un sistema all'altro, e può arrivare a 1:10 ; nei microscopi normali, c'è sempre il pericolo di superare il limite dell' "ingrandimento utile" (§ 18.12)[172] ed i rapporti usati non superano in genere 1:5 ; nei microscopi stereoscopici si può essere meno schizzinosi, in quanto l'ingrandimento utile è superato assai spesso per altri motivi (riduzione di NA, vedi il § 29.1), e si usano rapporti più elevati.

Da qualunque sistema zoom ci si deve aspettare una ragionevole **parfocalità**: variando il rapporto d'ingrandimento dal minimo al massimo, non si dovrebbe notare una variazione del fuoco. Questa parfocalità è di solito assicurata tra l'inizio e la fine della corsa, ma non del tutto per le posizioni intermedie. L'utilizzatore può ottenere qualche miglioramento variando la lunghezza del tubo, il che è facile quando il o i tubi porta-oculari sono regolabili, in quanto ANCHE questo tipo di parfocalità è fortemente condizionato dalla posizione dell'immagine intermedia, cioè dalle coniugate dell'obbiettivo. Si deve anche pretendere una ragionevole **parcentratura** intrinseca, nel senso che l'immagine non si deve spostare lateralmente durante la manovra dello zoom.

I sistemi zoom sono assai usati negli obbiettivi da ripresa fotografica, cinematografica e televisiva.

In altri "tubi intermedi" può essere contenuto qualche accessorio utile per il lavoro in radiazione polarizzata: lente di Amici - Bertrand, diaframma di Wright, analizzatore, compensatori. Della prima si è già parlato nel § 19.5.5, e si è anche specificato quali altre funzioni essa può svolgere. Del secondo diciamo solo che serve a limitare il campo oggetto utilizzato quando si osservano le "figure d'interferenza" in conoscopia (vedi i §§ 19.5.5 e 30.7), appunto in unione alla lente di Amici.

---

[172] In genere, un sistema zoom provoca anche una variazione dell'apertura utile dell'obbiettivo, e compensa in parte la perdita di risoluzione (lato immagine) conseguente all'aumento dell'ingrandimento.

In altri casi, il tubo intermedio contiene una "**lente-relé**": si tratta di una lente convergente di media potenza, posta fra obbiettivo ed oculare, ma molto sopra l'immagine intermedia. Sia $\mathbf{f_r}$ la focale di tale lente, e la si faccia lavorare come schematizzato in fig. 12 (§ 2.6.2.3), cioè con M = 1: oggetto ed immagine si trovano dalla lente ad una distanza a = a' = 2 f_r (vedi la nota [173]). Se dunque la lente-relé dista dall'immagine intermedia di una lunghezza pari a $2f_r$, la lente creerà ancora più in alto, a distanza 2 f_r da se stessa, un'immagine reale dell'immagine intermedia, delle stesse dimensioni ma rovesciata, e quindi diritta rispetto all'oggetto[174]. Sopra questa seconda immagine intermedia si trova l'oculare. In questo modo si hanno alcuni effetti:

•• la distanza fra obbiettivo ed oculare aumenta di una lunghezza pari a circa quattro volte f_r ;

•• l'immagine negli oculari è diritta rispetto all'oggetto, invece che rovesciata come avviene normalmente;

•• la prima immagine intermedia non si trova all'interno dell'oculare, ma in uno spazio libero, fra obbiettivo e lente relé. In tale sede si possono quindi porre elementi ottici (compensatori, reticoli, micrometri, ecc.) che altrimenti andrebbero inseriti in oculari speciali poiché non trovano posto in un oculare normale. Col vantaggio che, in caso di visione bioculare, il reticolo appare in entrambi gli oculari poiché la suddivisione del fascio nei due canali oculari avviene dopo l'immagine intermedia e dopo la lente-relé.

Si potrebbe chiedersi a questo punto se tutte queste lenti, semplici o complesse, non siano dannose ai fini della qualità dell'immagine finale del microscopio e se, quindi, non sia meglio cercare gli strumenti più semplici, con meno elementi ottici fra obbiettivo ed oculare.

In realtà, tali elementi interposti hanno come minimo un effetto: ogni elemento possiede almeno due superfici aria-vetro ed ogni superficie riflette una parte della radiazione che l'attraversa (anche meno di 1 % per una superficie "trattata" contro i riflessi, molto di più per le superfici non trattate e molto ricurve); tutta questa radiazione riflessa contribuisce alla "luce diffusa" all'interno dello strumento ed abbassa il contrasto (vedi il § 17.1.2). Inoltre, ogni superficie presenta qualche irregolarità, tracce di polvere, ecc. e ciò va per lo meno a danno della definizione. Senza contare che la "luce diffusa" rappresenta anche una perdita fotometrica.

Per quanto riguarda le aberrazioni, invece, il problema non è grave: tutti i sistemi intermedi hanno modesta apertura, piccolo campo ed ingrandimento minimo; quindi non è difficile "correggerli".

25.3 - PRISMI

Si è già parlato nei §§ 11 (fig. 34 C) e 24.2.1 dei prismi divisori di fascio, singoli o intercambiabili. Altri prismi vengono usati per casi particolari di microscopi polarizzatori (prismi di Nicol, Ahrens, Glan-Thompson, ecc.) e si tratta di prismi non in vetro, ma in cristalli birifrangenti, anche di notevole spessore.

Vi sono prismi cubici con superficie interna diagonale semiriflettente che vengono usati

---

[173] Qui, l'oggetto per la lente-relé è dato dall'immagine intermedia.

[174] Spesso, la presenza di una lente-relé si rivela proprio perché il microscopio fornisce un'immagine diritta dell'oggetto.

nei tubi per illuminazione episcopica, di cui si parla in altra sede (§ 30.1). Invece di prismi, si usano anche lamine sottili in vetro, con una superficie rivestita dallo strato semiriflettente, inclinate di 45° sull'asse ottico.

Altri prismi per illuminazione episcopica (a riflessione totale, fig. 34 A) sono disposti in maniera da occupare solo metà od anche meno della pupilla dell'obbiettivo, e richiedono un dispositivo di sostegno e di estrazione. Lamine e prismi possono essere intercambiabili (ancora, vedi il § 30.1).

Tutti questi tubi intermedi per illuminazione episcopica portano lateralmente una finestra d'ingresso, cui è collegata una sorgente di radiazione o una microlampada completa con diaframmi (di apertura e di campo), porta-filtri, ecc.

Tubi e microlampade assai simili si usano per la fluorescenza in episcopia (§ 30.6), con la differenza che il corpo luminoso è dato in genere da una lampada a vapori di mercurio ed i semiriflettenti non sono neutri, come nell'episcopia normale, ma "**dicromatici**" (riflettono essenzialmente su una parte dello spettro ottico e trasmettono sulla parte rimanente)[175].

I semiriflettenti a lamina, rispetto a quelli a prisma, sono più economici, ma introducono un leggero astigmatismo su tutto il campo.

A volte, vi sono tubi intermedi adibiti espressamente a portare i prismi birifrangenti di Wollaston[176]- Nomarski per il **DIC** (contrasto interferenziale differenziale). Si tratta di una tecnica di contrasto che usa prismi complessi, formati da due prismi birifrangenti incollati, a forma di sottile cuneo, ma di piccolo spessore (§ 30.5).

25.4 - FILTRI

Molti tubi intermedi sono adibiti, esclusivamente o in unione ad altre funzioni, all'inserzione o alla sostituzione di filtri di vario tipo.

Può trattarsi di filtri di arresto per la fluorescenza, filtri polarizzatori sottili, compensatori birifrangenti, filtri grigi, ecc. Tali filtri sono del tipo in vetro ottico, misti o interferenziali (§ 23.1) oppure in gelatina o del tipo "Polaroid"; la forma è generalmente discoidale, con diametro da 10 a 33 mm in genere, spessore da 1 a molti mm. Poiché si tratta di sistemi con facce piane e parallele, una loro leggera inclinazione non produce danno alla qualità dell'immagine; i costruttori più accorti infatti montano tali filtri in modo che il loro piano formi con l'asse ottico un angolo di 85 - 89°. Questa disposizione ha il vantaggio che il fascio riflesso dal filtro non è parallelo all'asse ottico e va a cadere sulle pareti interne del tubo senza contribuire alla luce diffusa ed alla perdita di contrasto.

Nel caso della fluorescenza in episcopia (§ 30.6.2), si possono avere dei "blocchi" contenenti tutti i filtri necessari (di eccitazione, semiriflettente dicromatico, di arresto), che hanno all'incirca la forma di un cubo. Due o più "cubi" possono essere montati su un dispositivo a slitta od a revolver in modo da essere rapidamente intercambiabili e consentire un veloce passaggio da un sistema di filtri ad un altro; è così possibile confrontare in tempo rapido l'immagine di fluorescenza ottenuta con bande di eccitazione diverse, e questo è prezioso quando l'oggetto è trattato simultaneamente con diversi fluocromi.

In ogni caso, sono preferibili i filtri "trattati" contro i riflessi, ricordando però che i

---

[175] Gli specchi **dicromatici** vengono spesso chiamati "dicroici", ma si tratta di un errore poiché il **dicroismo** consiste in una variazione di colore dipendente dall'orientazione di una radiazione polarizzata rispetto ad un cristallo.

[176] William Hyde WOLLASTON (1766-1828), chimico, fisico e fisiologo inglese (pron. uòllaston).

"trattamenti" sono meccanicamente delicati e si graffiano facilmente con le normali operazioni di pulizia.

I filtri devono essere sempre estraibili, intercambiabili o almeno ispezionabili (per controllare la presenza di scheggiature, per la pulizia, ecc.). I dispositivi meccanici che consentono questo possono essere a slitta trasversale, a disco girevole (revolver), ecc. La pulizia di questi filtri è importante, anche quando sembra non necessaria (si ricordi quanto si disse a proposito delle "appannature" nel § 19.5.1) poiché essi si trovano nel sistema formatore d'immagine, a differenza di quelli posti fra oggetto e microlampada.

26 - I TAVOLINI

Il **tavolino porta-oggetti** ("stage" in lingua inglese, "platine" in francese) è l'organo che si trova sotto l'obbiettivo e serve all'appoggio, al fissaggio ed eventualmente al movimento dell'oggetto ("vetrino porta-oggetto" od altro). Esso rappresenta la prima parte del microscopio di natura esclusivamente meccanica di cui trattiamo. Esso, per lo meno, non è destinato a ricevere parti ottiche, come invece il porta-condensatore, il revolver, la microlampada o i vari tipi di tubi trattati finora.

La sua funzione consiste nel sostenere l'oggetto nella giusta posizione e col giusto orientamento rispetto all'obbiettivo ed eventualmente nel facilitarne i movimenti. Tali movimenti possono essere tre, il primo essenziale, gli altri accessori:

◊◊ traslazione in direzione assiale, nel senso di variare la distanza fra oggetto ed obbiettivo. È questa la "messa a fuoco" o "focalizzazione" che stabilisce la coniugata oggetto dell'obbiettivo, vincolata, come è noto, alla coniugata immagine, cioè alla posizione dell'immagine intermedia e ad altri fattori. Tale movimento comporta una variazione della distanza oggetto-obbiettivo, ma non è sempre l'oggetto (il tavolino) a muoversi: può muoversi il revolver con l'obbiettivo, o il tubo che porta il revolver (R + C + T in fig. 96) o l'intero braccio (2 in fig. 102, vedi il § 27.2.2);

◊◊ traslazione in due direzioni ortogonali fra loro ed ortogonali all'asse ottico. Questo movimento serve ad esplorare una certa superficie dell'oggetto, pur mantenendolo nello stesso piano, e quindi a fuoco;

◊◊ rotazione attorno ad un asse parallelo all'asse ottico. Ciò serve essenzialmente nella fotografia per orientare l'oggetto rispetto al formato fotografico; anche nei microscopi polarizzatori è essenziale la rotazione dell'oggetto; in questo caso l'asse di rotazione non deve essere solo parallelo, ma coincidere coll'asse ottico dell'obbiettivo. Di ciò riparleremo a proposito dei vari tipi di tavolino.

In certi strumenti dedicati esclusivamente all'osservazione episcopica di oggetti opachi (metalli, rocce ecc.) il tavolino può essere privo di fori e quindi totalmente opaco. Ma generalmente è previsto un foro centrale che permette di osservare l'oggetto in trasparenza (in diascopia o "luce trasmessa"). Il diametro di tale foro è vario (almeno un cm); il suo orlo superiore è generalmente a spigolo vivo; inferiormente è svasato poiché deve accogliere la parte superiore del condensatore: in condizioni normali, la superficie superiore del condensatore (lente frontale) è assai vicina alla superficie inferiore del vetrino, cioè deve sfiorare la superficie superiore del tavolino; così il tavolino, inferiormente, in corrispondenza del foro, deve presentare un alloggiamento capace di ricevere l'ingombro del condensatore.

Il foro di solito è molto grande ma parzialmente occupato da un anello sottile. Un foro troppo grande non è ammissibile poiché il vetrino vi cadrebbe dentro; l'anello sottile presenta un foro più piccolo, ma è sempre asportabile, con il vantaggio di facilitare la pulizia e l'accesso al condensatore e di poter riportare poi il diametro del foro al minimo possibile. L'anello è generalmente metallico; solo raramente in vetro.

Nel caso del tavolino "traslatore" (vedi sotto) il foro non è circolare ma allungato (per consentire uno dei movimenti del tavolino), e l'anello ne ricalca la forma.

È sottinteso che la superficie superiore dell'anello deve coincidere colla superficie superiore del tavolino, con tolleranza di pochi μ, per evitare che il vetrino venga inclinato dal

proprio peso quando poggia sull'orlo dell'anello.

È bene definire la tolleranza accettabile nella **perpendicolarità** del piano del tavolino rispetto all'asse ottico. Le considerazioni da fare sarebbero molte, ma in pratica si può procedere così: si prenda un preparato sottile (striscio di sangue o batteri, micrometro, ecc.) e lo si osservi con un obbiettivo medio a forte apertura, planare o non, e col diaframma d'apertura tutto aperto. Si metta a fuoco con cura un punto ai margini del campo visuale (usare un oculare col massimo indice di campo) e si osservino poi tutti gli altri punti marginali: non si deve percepire alcuna differenza di fuoco.

Per maggior precisione, e per una misura quantitativa del disassamento, si ricorre ad un auto-collimatore poggiato sulla superficie di riferimento del tubo porta-oculari, e si osservano i riflessi creati da una lamina di vetro plan-parallela poggiata sul tavolino (dopo aver tolto l'obbiettivo ed altre eventuali lenti interposte). L'errore ammissibile è dell'ordine di 4 primi (circa 0,06°). Per eliminare l'eventuale errore di parallelismo della lamina, ruotarla attorno all'asse di 180° e controllare che l'errore non si inverta. Curare anche che fra lamina e tavolino non esista alcun granello solido (basta poco).

Il fissaggio del tavolino avviene in genere a mezzo di una staffa o "mensola" (10 in fig. 102) alla quale il tavolino si avvita da sotto. Tale mensola può essere fissa (rispetto al piede) nel caso che la messa a fuoco sia affidata al braccio o al tubo come nel modello di fig. 96, oppure mobile quando la messa a fuoco è affidata al tavolino (come in fig. 97, 102, 106 e 107). Il tavolino in questo modo è appoggiato "a sbalzo" ed è assai meno rigido che se fosse appoggiato su due lati contrapposti, come avviene in rarissimi modelli. Il fissaggio a sbalzo ha il vantaggio di facilitare l'accesso a tutto ciò che sta sotto il tavolino (condensatore, microlampada, porta-filtri, ecc.) ed è assai più semplice meccanicamente, ma …

Nei migliori stativi, il tavolino è facilmente intercambiabile con altri di tipo diverso. In questo caso, il suo fissaggio non avviene con viti, ma con mezzi più comodi. È augurabile che tutti i tavolini previsti per un certo strumento siano parfocali, cioè dello stesso spessore, in modo da non richiedere un'alterazione dei fine-corsa della focalizzazione dell'oggetto e del condensatore.

E ancora, l'ideale sarebbe che la posizione verticale del tavolino rimanesse definita anche se esso è soggetto alla normale pressione delle mani o al peso dell'oggetto. Ma per "definita" si deve intendere che non esce dai limiti della profondità di fuoco degli obbiettivi; per gli obbiettivi più forti tale profondità è di una frazione di micron e nessuno strumento è in grado di assicurare tale rigidità al tavolino. Anche se esso non è portato da un movimento di messa a fuoco, la sola flessibilità elastica dei materiali è sufficiente a far perdere il fuoco sotto il peso di una mano.

Se la flessibilità elastica del tavolino, del braccio, ecc. è inevitabile, si deve almeno pretendere l'assenza di deformazioni plastiche: una normale pressione (il peso di una mano, ad es.) non deve produrre perdita PERMANENTE della focalizzazione, neppure cogli obbiettivi forti; al cessare della pressione il fuoco deve essere recuperato.

Qualche costruttore moderno offre tavolini i quali, oltre al (eventuale) movimento verticale di "messa a fuoco" tramite manopole, consente un rapido abbassamento di molti millimetri, per una semplice azione della mano, ed un altrettanto rapido ritorno alla posizione iniziale. Ciò consente di allontanare temporaneamente il preparato dall'obbiettivo (per la pulizia dell'olio, la sostituzione del preparato, ecc.) e di ritrovare subito dopo la messa a fuoco precedente. Si parla di "**refocusing stage**".

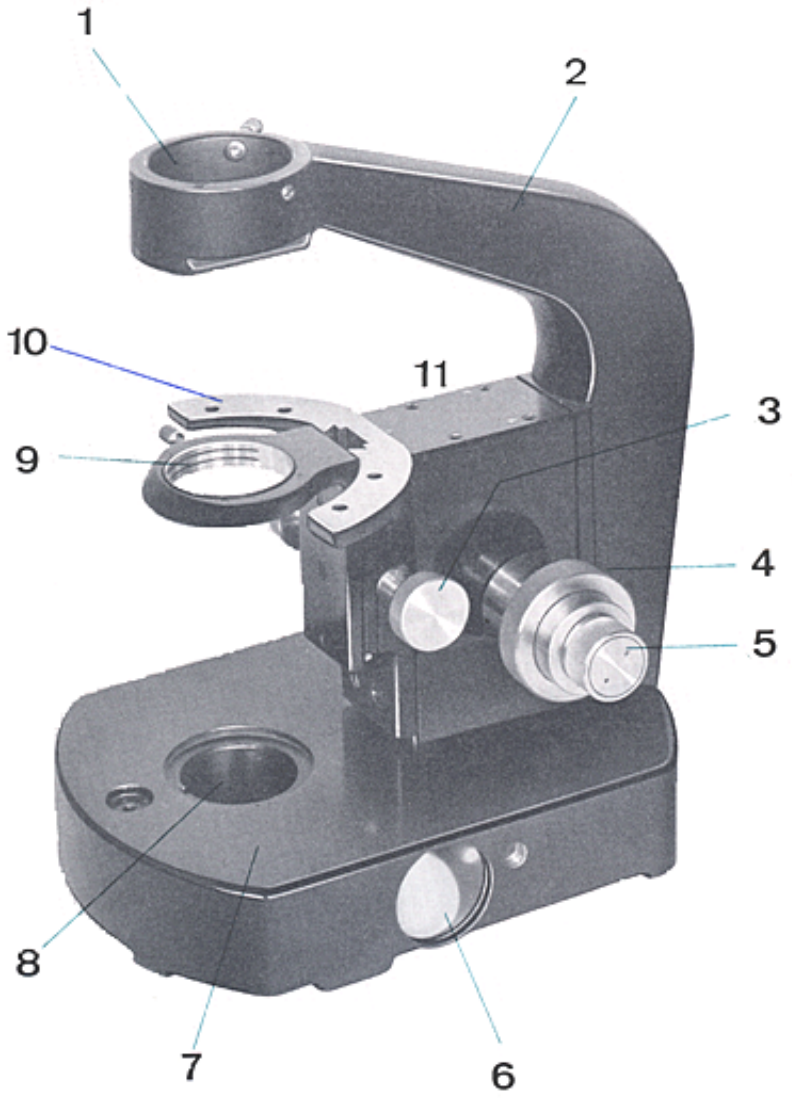


Fig. 102 – Stativo Wild, mod. M 20
Da: Catalogo Wild Heerbrugg, Mi 604, St. Gallen (Suisse)

26.1 - TAVOLINI FISSI

Si tratta di tavolini immobili rispetto alla loro mensola di supporto, come quello indicato con Ta in fig. 97. La forma è generalmente rettangolare o quadrata, raramente rotonda. Il foro centrale è rotondo; le sue dimensioni sono tali da consentire l'affioramento della lente frontale del condensatore ma, nel contempo, sono più piccole possibile per offrire al vetrino l'appoggio più ampio. Mancano mezzi per spostare il vetrino nel piano del tavolino, a meno che lo si spinga a mano o si applichi un guida-oggetti, come descritto sotto.

Per il fissaggio del vetrino vi sono due "**mollette**" dalla forma caratteristica (in fig. 97 se ne vede bene una; vedi anche la fig. 81, § 21) costituite da un perno di 4 o 5 mm di diametro con testa godronata e da una lamina flessibile più o meno perpendicolare al perno. Il perno si infila in apposito foro del tavolino finché la lamina flessibile si appoggia elasticamente sul vetrino. La reazione elastica della lamina spinge il perno a disporsi obliquamente nel foro e

così lo blocca in esso per il fenomeno detto "ingallonamento" o "soqquadro".

I tavolini fissi sono costruiti in genere in metallo: una piastra di fusione con nervature di irrigidimento nella faccia inferiore, generalmente in alluminio o sue leghe (vedi la fig. 87 al § 21.6, in cui si vede una branca della mensola e la superficie inferiore del tavolino con le nervature). Se sono costruiti in materiale plastico, oltre a venir segnati più facilmente dall'orlo dei vetrini, sono anche assai meno rigidi. Se sono verniciati, prima o poi la vernice si consumerà ed apparirà il color chiaro del metallo. Per lo meno, deve trattarsi di vernici indurite "a fuoco". Meglio ancora un trattamento di "**anodizzazione**" che riveste l'alluminio di uno strato durissimo di sesquiossido di alluminio (Al_2O_3), chimicamente identico al minerale corindone, che occupa il nono posto nella "scala delle durezze" di Mohs[177], ed alla sua varietà granulare "smeriglio". L'anodizzazione può dare al metallo un color nero lucido od opaco. Certi tavolini moderni sono rivestiti da uno strato di materiale ceramico, che è pure durissimo (Leica, ecc.).

Inutile dire che la planeità della superficie superiore del tavolino deve rispettare una tolleranza di pochi micron affinché il vetrino non oscilli quando vi viene poggiato.

26.2 - IL GUIDA - OGGETTI

Molti costruttori, come accessorio ad un tavolino fisso, offrono un dispositivo da fissare al tavolino stesso, che è in grado di serrare il vetrino tenendolo aderente alla superficie del tavolino e di farlo muovere in due direzioni ortogonali. È questo il "**guida-oggetti**".

Poiché il tavolino è ancora fisso, il movimento è affidato solo alla pinza sotto descritta e quindi il foro al centro del tavolino è ancora il più piccolo possibile.

L'ampiezza dei movimenti deve essere almeno di 20 mm in direzione sagittale (detta anche, per somiglianza coi diagrammi cartesiani, direzione Y , o "Nord-Sud") e 40 mm in direzione trasversale (detta anche X o "Est-Ovest"); i movimenti si possono misurare su apposite **scale millimetrate**, numerate da 0 a 30 o da 0 a 50 in direzione Y , e da 60 a 100 o da 50 a 130 o simili in direzione X . Una tale numerazione permette, con una sola coppia di numeri, di identificare una posizione del guida-oggetti e quindi un punto definito del vetrino. Montando successivamente lo stesso vetrino (orientato allo stesso modo) sullo stesso guida-oggetti è possibile ritrovare subito un qualunque punto di esso, purché si sia preso nota delle coordinate del punto. Questa operazione di ricerca si fa più precisa (almeno 0,1 mm) se le scale sono dotate di **nonii**[178] o **vernieri**[179], come si fa normalmente, e come è in uso in molti strumenti per la misura di angoli o di lunghezze (i normali "calibri" per meccanici, ad es.).

Riguardo la struttura del guida-oggetti, in genere vi è una porzione allungata in direzione Y, bloccata sul tavolino con una o due viti, che porta una guida "a coda di rondine" mossa da una cremagliera. Poiché il vetrino viene normalmente disposto col lato maggiore (75 mm) in direzione X , il movimento Y può essere di 20 - 25 mm soltanto, ed esplorare con ciò il lato corto del vetrino (25 mm).

---

[177] Friedrich MOHS, mineralogista tedesco (1773-1839); la sua scala delle durezze comprende dieci termini, dal talco al diamante.

[178] Sembra che qualcosa del genere sia stato ideato dal matematico e cosmografo portoghese Pedro NUNES (Petrus NONIUS) (1492-1577), ma si trattava di uno strumento per la misura degli angoli, diverso dal moderno nonio o verniero.

[179] Il matematico francese Pierre VERNIER (1580-1637), comandante del castello di Ornans, introdusse nel 1631 un artificio per la lettura delle graduazioni, che oggi chiamiamo "verniero" in ricordo di lui.

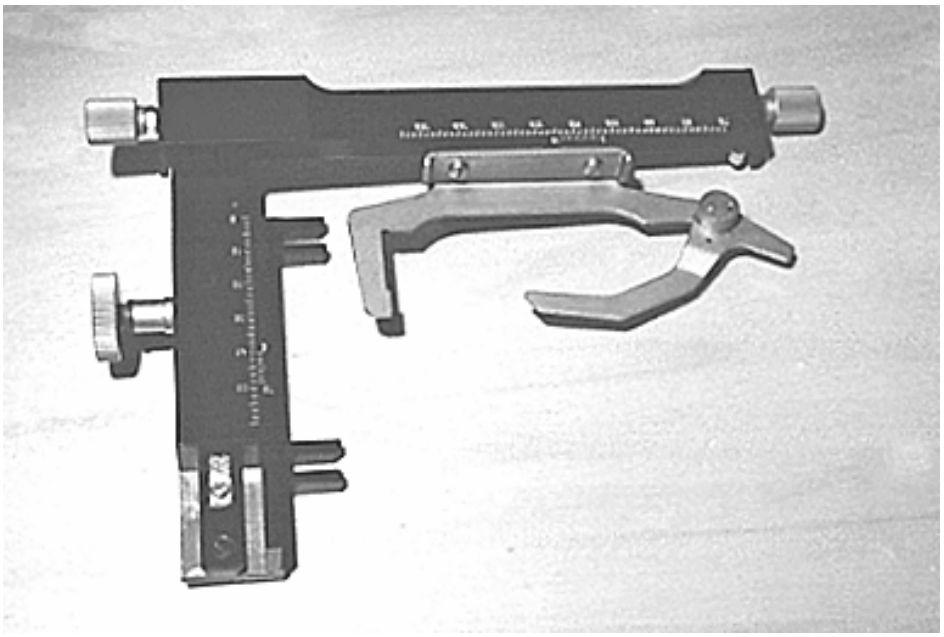


Fig. 103 Foto originale di prodotto Galileo, Firenze

Sulla guida Y è montata una seconda guida a coda di rondine[180] allungata in direzione X , la quale si muove su e giù (in direzione Y) quando si aziona la cremagliera Y . La guida X è più lunga (movimento di almeno 40 mm per abbracciare la più gran parte del lato lungo del vetrino) e reca una **pinza** a due bracci (distanti fra loro almeno 75 mm) che afferra il vetrino per i lati corti. La pinza si muove in direzione X a mezzo di un'altra cremagliera o di una vite, comandata da una o due manopole. Le manopole X ed Y possono essere disposte su un lato, all'altezza del tavolino, come in fig. 103, oppure rivolte in basso, con asse verticale, per facilitarne l'uso col braccio poggiato sul tavolo. In tal caso sono spesso coassiali. Raramente le due manopole sono voltate in alto.

In fig. 103 si vedono bene le due scale graduate con nonii (più lunga la X); la manopola X è doppia, nel senso che vi è una manopola a destra ed una a sinistra. Si vedono anche (sul lato interno della guida Y) le due forcelle che servono a fissare la guida al tavolino da sotto, con due viti. Sempre in fig. 103 è ben visibile la pinza porta-vetrino. Vi sono pinze a bracci fissi, magari con mollette, ma di solito vi è un braccio fisso (il più corto in fig. 103) ed uno mobile , articolato e ricurvo, che si impernia ad un estremo della guida X ed è spinto da una molla interna a richiudersi verso il braccio fisso, in modo da bloccare il vetrino. Tale braccio mobile , per somiglianza con le lunghe zampe degli Opìlii, è detto "**zampa di ragno**". A volte, entrambi i bracci sono montati su piccoli zoccoli a coda di rondine, che scorrono sulla guida X in modo da poterne variare la distanza.

Può capitare che la pinza, nel serrare il vetrino, lo tenga leggermente sollevato rispetto al tavolino e magari non parallelo ad esso. Ciò equivale ad un errore di orientamento del tavolino, il che porta ad un fuoco non uniforme in tutto il campo (vedi il § 26). Inoltre, durante i suoi spostamenti, il vetrino varierà di distanza rispetto all'obbiettivo e si perderà il fuoco globale. Questo è un controllo da fare sempre davanti ad un tavolino che non si conosce, ma la perdita di fuoco durante i movimenti del vetrino può dipendere da cause molto più banali: basta un granello di polvere od una scheggiolina di vetro per inclinare il vetrino.

La meccanica della pinza è delicata e critica, e può dare altri inconvenienti: basta ad es. che i bracci della pinza siano troppo flessibili o che il perno della zampa di ragno presenti

[180] Non sempre si tratta di una coda di rondine trapezoidale classica; per ridurre gli attriti si usano anche guide prismatiche a rulli o sfere.

qualche gioco: il vetrino tenderà ad infilarsi sotto i bracci ed a bloccarsi. Se poi i bracci sono troppo spessi, più del vetrino, e sporgono rispetto la superficie superiore del vetrino, può accadere che gli obbiettivi forti, durante la rotazione del revolver, li urtino, e ciò è generalmente causa di rigature o rotture della lente frontale. Ma il problema delle **interferenze meccaniche** fra obbiettivi e guida-oggetti è più ampio: il guida-oggetti è sempre di spessore assai superiore a quello del vetrino. Il caso di urti fra esso ed obbiettivo può verificarsi in tre casi; e tali casi possono anche presentarsi simultaneamente: ◊◊ spostamenti del guida-oggetti, specie in direzione Y ; ◊◊ rotazione del revolver e spostamento dell'obbiettivo; ◊◊ rotazione del tavolino, nel caso che questo sia rotante. Quest'ultimo caso è il più grave.

Prima di iniziare il lavoro con uno strumento ignoto è bene quindi verificare tutte le possibilità di interferenza; comunque tutti i movimenti del tavolino, del guida-oggetti e del revolver vanno eseguiti con cura, ed esercitando la minima pressione possibile. Anche le mollette (§ 26.1) dei tavolini fissi possono interferire cogli obbiettivi durante la rotazione del revolver, almeno quando esse convergono verso il piano mediano dello strumento.

Rimane il problema di urti fra obbiettivo e tavolino (o quanto vi è poggiato sopra) durante la focalizzazione. Ma di questo si parlerà nei §§ 26.5.5 e 27.2.2.

26.3 - TAVOLINI GIREVOLI

Nel § 26 si sono citati i casi della fotografia e dei microscopi polarizzatori, in cui è essenziale poter ruotare il tavolino attorno ad un asse parallelo o coincidente con quello del microscopio. I mezzi meccanici per ottenere la rotazione sono vari; per la riduzione dei giochi[181] è bene che il movimento avvenga su piste a rotolamento con sfere, e ciò riduce anche gli attriti.

Un tavolino girevole sarà in genere rotondo, anche se esistono dei tavolini rettangolari che ruotano solo di 90° o 180°.

In genere, è bene che l'asse di rotazione del tavolino coincida il meglio possibile coll'asse ottico dell'obbiettivo: in questo modo, la rotazione del tavolino mantiene costante la posizione del centro del campo-oggetto; in caso contrario, ruotando il tavolino, il punto centrale della regione visibile dell'oggetto si sposta e può uscire dal campo visuale. La coincidenza degli assi può essere ottenuta con obbiettivi singolarmente centrabili (§ 19.1.4.1) o con tavolino centrabile. La prima soluzione si ottiene muovendo il sistema di lenti all'interno della montatura dell'obbiettivo (con viti, camme o altro) o muovendo l'intero obbiettivo che è avvitato su un anello centrabile all'interno del revolver. Questa soluzione è preferita nei microscopi polarizzatori, ma è meccanicamente complessa. L'asse di rotazione del tavolino in questo caso può essere fisso. La seconda soluzione (tavolino centrabile) è più semplice, ma ha lo svantaggio che, passando da un obbiettivo all'altro, occorrerà in genere ripetere la centratura del tavolino per la non perfetta parcentralità degli obbiettivi (vedi il § 19.1.4).

Per centrare il tavolino si usano in genere due viti orizzontali dirette verso l'asse, che spingono contro una terza punta molleggiata, come si fa per i condensatori. La parte mossa dalle viti è un anello su cui si impernia il tavolino, e che è nascosto sotto il tavolino

[181] Deve naturalmente esistere un meccanismo (di solito un anello a vite) che permette di avvicinare fra loro le due superfici della guida in modo da ridurre a zero il gioco fra sfere e guida.

medesimo. Le viti possono anche servire a traslare il tavolino con l'oggetto che vi è fissato sopra (con due mollette, per es.), ma in questo modo ovviamente si perde la centratura. In fig. 104 è visibile un semplice tavolino girevole e centrabile; si vedono ai bordi le due viti di centratura, ed inoltre le due mollette ferma-preparato e l'anello sottile al centro. Fra i perni delle due mollette sono visibili tre fori per il fissaggio di un eventuale guida-oggetti (il foro al centro per una vite, i due laterali per le spine di orientamento). Quasi tutti i tavolini, fissi o rotondi, accettano infatti un guida-oggetti del tipo di quelli illustrati al capitolo precedente. Ma spesso, specie nei microscopi polarizzatori, il guida-oggetti è un po' diverso: al fine di evitare al meglio le interferenze fra obbiettivo e guida-oggetti, quest'ultimo è molto ribassato o appiattito, con manopole ad asse verticale, di forma lenticolare, rivolte in alto.

Poiché al microscopio polarizzatore si esaminano spesso sezioni di rocce, ed è necessario esplorare superfici determinate contando i vari tipi di cristalli presenti, è bene avere un modo comodo di misurare i movimenti del vetrino, senza eseguire ogni volta la lettura delle scale e dei nonii. Ciò è realizzato con i "**salta-punti**" ("point counter"); si tratta di semplici meccanismi a base di manopole dentellate e di mollette che vi sfregano sopra: durante la rotazione delle manopole e quindi durante lo spostamento del vetrino, si avvertono dei piccoli scatti ad ognuno dei quali corrisponde un avanzamento fisso del vetrino. A volte, sostituendo alcune parti del meccanismo, è possibile variare lo spostamento corrispondente ad ogni scatto della manopola, per es. da 0,1 a 0,2 o 0,5 mm. In questo modo sarà possibile, per i principali obbiettivi, fare in modo che per ogni dentello il campo oggetto visto nell'oculare esca dal campo visuale e venga sostituito da un campo contiguo. È così possibile esplorare interamente una data superficie dell'oggetto prima per campi contigui, poi per serie contigue di campi.

Nei microscopi polarizzatori, il tavolino rotondo può possedere altri accessori, che citiamo solamente, trattandosi di un argomento esaminato altrove (§ 30.7): pinze per il blocco della rotazione; scatti equidistanti per stabilire orientamenti preferenziali del tavolino (di solito ogni 45°), scala con nonio per misurare la rotazione, tavolini "universali" per ruotare il vetrino secondo tre o più assi, ecc.

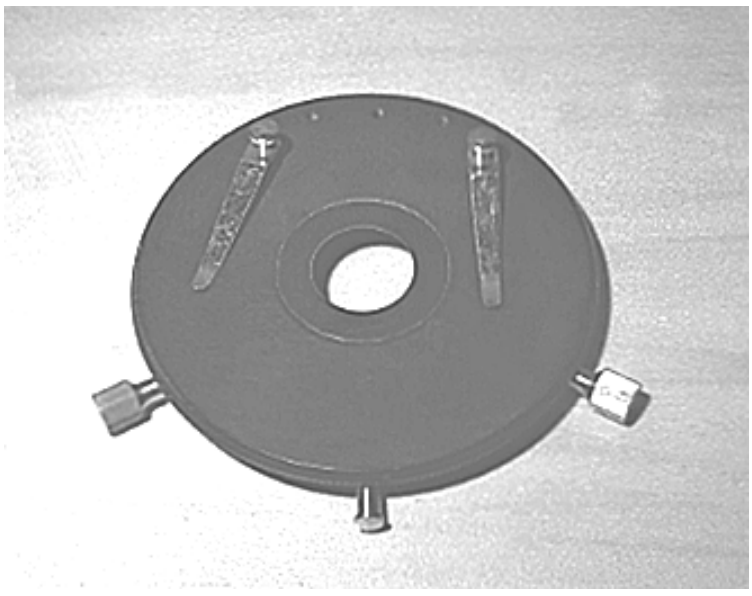


Fig. 104 – Foto originale di prodotto Reichert, Vienna

26.4 - TAVOLINI TRASLATORI

Impossibile descrivere tutte le soluzioni meccaniche adottate dai costruttori. La maggioranza dei "traslatori" si può però ricondurre ad un tipo base, che esaminiamo con qualche dettaglio.

In sostanza, il **tavolino traslatore** si compone di una parte fissata alla mensola ("sotto-tavolino") e di una parte che scorre su di essa, di solito in direzione Y. L'accoppiamento fra le due parti può essere costituito da guide a coda di rondine lineare, da guide a cilindri di scivolamento (due guide a V che serrano dei cilindretti con l'asse parallelo alla guida, su cui scorrono), da guide a rotolamento con rulli o sfere, ecc. La parte mobile del tavolino assicura così lo spostamento del vetrino in direzione Y . Per lo spostamento in X , vi è un pinza, fissata ad una seconda guida, ortogonale alla prima. Tale guida X è di solito assai stretta (circa 1 cm) ed incorporata nella parte mobile del tavolino. La pinza è del tipo di quella descritta a proposito dei guida-oggetti.

Tale struttura complessa dei traslatori giustifica il termine inglese "mechanical stage"; il fatto che i movimenti siano ortogonali fra loro, giustifica il termine "**tavolino ortogonale**". Un traslatore sarà sempre più pesante di un tavolino semplice, anche girevole.

Il movimento Y è generalmente dovuto ad una cremagliera, comandata da una o due manopole. La guida X è invece di solito mossa da una vite a passo largo, comandata da due manopole ai due lati del tavolino. A volte, le manopole X ed Y sono orizzontali e coassiali oppure ad asse verticale, di solito rivolte in basso, separate o coassiali: ciò facilita la loro manipolazione col braccio poggiato sul tavolo. Esistono anche dei traslatori in versione doppia, con manopole a destra o a sinistra, su richiesta.

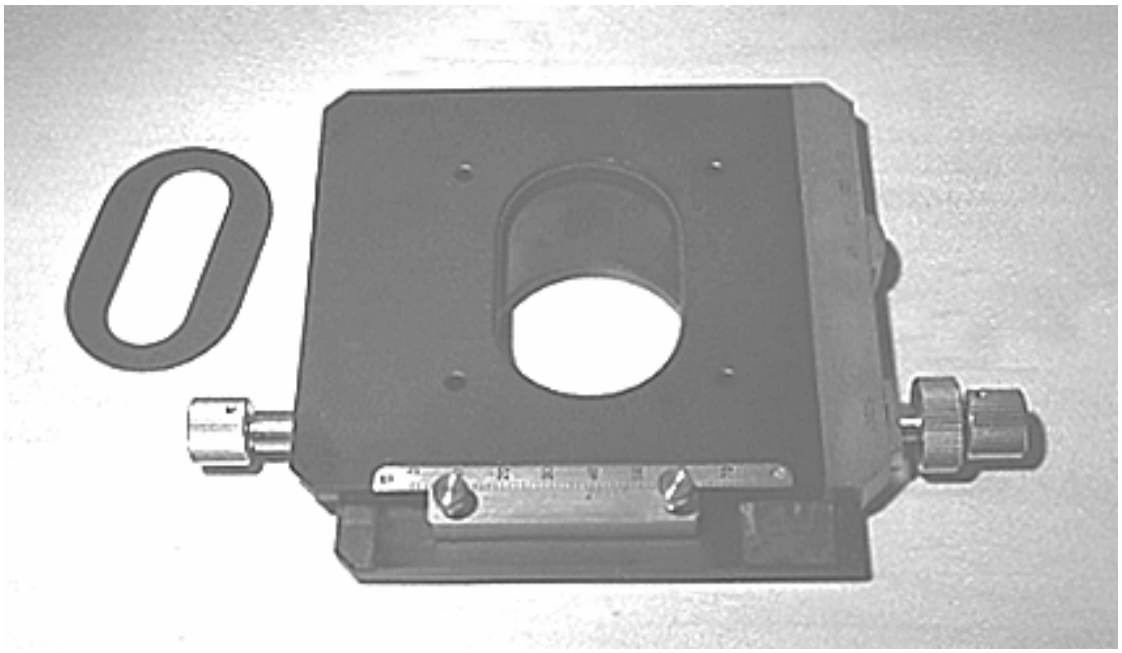


Fig. 105 – Foto originale di prodotto Meopta, Praga

Vi sono poi traslatori ortogonali che consentono anche la rotazione, almeno su 180°. Essi presentano i vantaggi dei due tipi di tavolino, ma sono pesanti ed ingombranti, ed acuiscono il

problema delle interferenze coll'obbiettivo.

In fig. 105 si vede un tipico traslatore con manopole sui due lati: a destra la manopola è doppia, coassiale, per i movimenti X ed Y ; a sinistra la manopola è unica, per il movimento X . Sono visibili le due scale millimetrate con nonii; manca la pinza ferma-vetrino, ma si vedono le due viti che servono a fissare la pinza alla guida X . Quest'ultima affiora sul lato inferiore del tavolino, ma altre volte affiora sulla superficie superiore. Al centro del tavolino mobile vi è un ampio foro attraverso cui si vede il corrispondente foro del sotto-tavolino fisso. Il primo foro è allungato in direzione Y , appunto per permettere il movimento in quella direzione, ed è quindi assai più ampio del foro di un tavolino fisso. A lato è visibile l'anello sottile, anche questo allungato, che chiude parzialmente il foro del tavolino mobile per consentire un migliore appoggio del vetrino. Questi fori, nel sottotavolino fisso e nel tavolino mobile in Y, dovranno ancora una volta essere abbastanza ampi, e con orlo assottigliato, per consentire la corsa verso l'alto del condensatore.

26.5 - PROBLEMI MECCANICI

Nel tavolino inteso in senso generico esistono degli organi mobili che assicurano la traslazione (in due direzioni ortogonali, con qualche eccezione, come quella citata dei tavolini rotondi e centrabili), ed il bloccaggio del vetrino. Per ognuno di questi movimenti si presentano dei problemi che esaminiamo separatamente.

Facciamo notare che tali problemi sono comuni ad altri organi mobili già trattati (porta-condensatore, regolazioni nei tubi bioculari, ecc.) o da trattare (revolver, messa a fuoco, ecc.), ma il frequente uso fa sì che il tavolino traslatore sia la porzione del microscopio che prima si guasta, ed è anche una delle più difficili da riparare.

26.5.1 - Rigidità

Nel § 26 si è già parlato della rigidità del tavolino in sé stesso. Ancora più critica è la rigidità di una guida mobile o di una pinza.

Spesso poi la pinza non obbliga il vetrino ad aderire perfettamente al tavolino e la minima pressione delle dita fa perdere il fuoco. Per ridurre questo effetto, alcuni costruttori aggiungono alle ganasce rigide della pinza o alla zampa di ragno due mollette elastiche che spingono il vetrino verso il basso, oppure le ganasce possiedono, nel lato che tocca il vetrino, un orlo smussato a mo' di piano inclinato, che tende sempre a trasformare il movimento orizzontale delle ganasce in una spinta verso il basso.

Quando il tavolino od il guida-oggetti possiedono manopole sporgenti, queste rappresentano un braccio di leva che può amplificare gli effetti della pressione delle mani: è molto difficile trovare un tavolino che non alteri il fuoco durante i movimenti del vetrino. I guida-oggetti applicati, in questo senso, sono assai più critici dei tavolini traslatori integrati.

26.5.2 - Giochi

Quando due parti meccaniche vengono accoppiate in maniera rigida (con viti o altro), le superfici a contatto possono essere serrate fra loro senza spazi intermedi. Quando invece l'accoppiamento deve consentire il movimento reciproco delle parti, occorre lasciare fra di esse un minimo spazio senza di che l'attrito impedirebbe lo scorrimento delle superfici. Tale spazio si chiama "**gioco**". Il gioco (ed un opportuno lubrificante) sono elementi essenziali di tutti i movimenti meccanici. Il gioco però, oltre al movimento previsto, consente un altro movimento in direzione generalmente perpendicolare al primo, che è dannoso. Basti pensare ad un perno che fluttua ("balla") in un foro troppo grande, spostandosi anche in direzione perpendicolare all'asse, oltre che ruotare.

Poiché al microscopio, oltre l'immagine dell'oggetto, vengono ingranditi anche i movimenti di quest'ultimo, i giochi possono risultare molto fastidiosi. Per es, se si sposta l'oggetto in una data direzione con l'apposita manopola, esso può muoversi spontaneamente in un'altra direzione non desiderata. Dunque, da questo punto di vista, i giochi andrebbero eliminati.

D'altra parte, come si è detto, deve esistere un minimo gioco, di costruzione, per evitare l'incollaggio delle parti. Per non ridurre troppo le tolleranze di lavorazione, e per evitare che, nei singoli pezzi, il gioco di costruzione vari troppo, si adottano numerosi sistemi di riduzione o "**ripresa**" **dei giochi**; non possiamo però qui entrare nei dettagli. Diciamo solo che l'usura tende sempre a ridurre le dimensioni dei pezzi con superfici di scorrimento, per cui il gioco, col tempo, tende ad aumentare. Il costruttore cercherà di ridurre l'usura utilizzando opportuni materiali e lubrificanti, ma col tempo, in sede di manutenzione, solo un'intelligente ripresa dei giochi può consentire di contrastare i dannosi effetti dell'usura.

Dal punto di vista della resistenza all'usura e dell'attrito, uno dei materiali più adatti è l'ottone, che però è pesante e costoso. Occorre diffidare delle parti in lega di alluminio ed in plastica.

Sotto molti aspetti, le **guide a scorrimento** (a coda di rondine o simili), per il solo fatto di contenere superfici che sfregano l'una sull'altra ("attrito radente"), sono superate dalle **guide a rotolamento**, in cui il movimento fra parte fissa e mobile è affidato non allo sfregamento fra due superfici piane o curve, ma al rotolamento di elementi sferici ("sfere") o cilindrici ("rulli"); si ha così un "attrito volvente". L'attrito in queste guide è molto piccolo, essendo l'attrito "volvente" assai minore di quello "radente"; ciò consente di serrare la guida molto di più e quindi di ridurre i giochi praticamente a zero senza aumentare troppo l'attrito.

In un movimento complesso con organi di comando, come una guida di tavolino traslatore trascinato da una cremagliera, vi sono almeno tre accoppiamenti mobili dotati di giochi: quello fra asse e foro della manopola; quello fra pignone (ruota dentata) e cremagliera e quello fra parte fissa e parte mobile della guida. Gli effetti dei vari giochi si possono sommare. In sede di manutenzione vi sono molti mezzi per ridurre questi giochi: variare lo spessore della parte "maschio" della coda di rondine, incurvare e/o spessorare[182] la cremagliera, rimboccolare i fori dei perni, ecc. ma si tratta qui di tecnologie essenzialmente meccaniche.

A volte qualche **ripresa dei giochi** è a disposizione anche dell'utilizzatore; infatti, molte guide a rulli o a sfere sono rappresentate da pezzi separati, almeno da un lato, fissati al resto

[182] Cioè infilare dei sottili spessori (fogli di alluminio, ad es.) fra la cremagliera e la sua superficie di appoggio.

della struttura da viti. Sfruttando il gioco nei fori delle viti, magari con l'ausilio di appositi "grani" (viti senza testa) di spinta, laterali, è possibile variare i giochi della guida. Anche certe guide a coda di rondine possiedono su un lato della parte "femmina" una barretta mobile ("**lardone**") spinta anch'essa da viti o grani, che consente di ridurre a volontà i giochi. Stringendo troppo il lardone si aumenta naturalmente l'attrito di scorrimento della guida.

26.5.3 - Isteresi

Si pensi ad un movimento, per es. di un tavolino traslatore, comandato da una cremagliera, mossa a sua volta da una manopola. Non è che un esempio, ma i concetti di base sono validi anche in altri casi.

Si consideri in quel movimento uno dei possibili giochi, per es. fra pignone e cremagliera. Si immagini ora di muovere il tavolino ruotando la manopola: i denti del pignone si impegnano, spingono sui denti della cremagliera, la quale è fissata alla guida e spinge il tavolino. Ora invertiamo il movimento. La rotazione del pignone cambia di senso; i denti del pignone spingevano su un lato dei denti della cremagliera, prima dell'inversione; ora si appoggiano sul lato opposto, pronti a riprendere il movimento. Ma fra le due posizioni, appoggio su un lato, appoggio sul lato opposto, vi è un qualche gioco; occorre una certa rotazione del pignone per passare da un appoggio all'altro. La conseguenza di ciò è che, quando si inverte la rotazione della manopola, il movimento del tavolino non si inverte subito ma solo dopo un certo tempo, almeno dopo che il movimento della manopola ha percorso un certo tratto a vuoto.

Il ritardo nell'inversione di un movimento rispetto all'inversione del comando si chiama **isteresi** ed è una diretta conseguenza del gioco negli organi di trasmissione del movimento. Anzi, se in un movimento, come detto sopra, vi sono vari giochi è probabile che i loro effetti si sommino per accrescere l'isteresi. Da qui un altro motivo per curare la ripresa dei giochi.

Dovuto a cause diverse, come l'elasticità dei materiali, è invece il "ritardo" o "**incoerenza**": quando cessa la forza applicata sulla manopola, può accadere che il movimento si prolunghi per un certo tempo; quando inizia ad agire la forza, il movimento può iniziare in ritardo; questo poiché, per un certo tempo, la forza applicata serve solo a vincere l'elasticità delle varie parti. Incoerenza ed isteresi si possono sovrapporre ed influire l'una sull'altra. Un controllo globale di questi difetti si può eseguire semplicemente osservando a forte ingrandimento un punto definito in un vetrino e spostando avanti ed indietro ognuno dei movimenti del guida-oggetti: quando la manopola di comando riprende la stessa posizione, anche l'oggetto deve ritornare allo stesso posto, indipendentemente da quale parte vi è arrivato, e senza ritardo. Il movimento deve essere "**repetibile**", e seguire fedelmente ed istantaneamente il comando.

26.5.4 - Frizioni

Qualunque movimento comporta delle superfici in scorrimento reciproco e quindi degli attriti. Pertanto il comando di quel movimento incontra sempre una resistenza. I lubrificanti, necessari per ridurre l'usura, riducono anche gli attriti, ma d'altra parte la viscosità del lubrificante oppone sempre una resistenza che si somma all'attrito.

Si potrebbe ridurre la viscosità ricorrendo a lubrificanti liquidi (olii), ma questo è generalmente da evitare poiché, col tempo, l'olio cola dalle parti lubrificate e le lascia praticamente asciutte. Questo è ancora più valido nel caso dei cuscinetti a sfere. Inoltre l'olio, nel caso di attrito radente, può creare un forte **attrito di distacco**: i due pezzi che devono scorrere l'uno sull'altro sembrano incollati; solo applicando una forza assai superiore a quella necessaria per mantenere il movimento si ottiene il distacco delle parti; a questo punto l'attrito cade bruscamente ed il movimento si conserva con forza assai minore. In generale, uno dei primi controlli da eseguire su qualunque movimento è proprio questo: l'attrito di distacco deve essere molto simile alla frizione offerta dal movimento continuo.

Dunque, salvo casi particolari, in un microscopio si devono usare solo lubrificanti solidi; nella maggioranza dei casi, si presta bene un buon "grasso da cuscinetti".

Ma torniamo alla resistenza offerta dai movimenti meccanici. Non si creda che essa debba essere la più piccola possibile. Infatti, un movimento troppo scorrevole si sposta al minimo urto involontario e diventa instabile. Allora, gli attriti visti sopra possono essere utili. Non solo, ma spesso si cerca di aumentarli stringendo opportunamente fra loro le parti in scorrimento con un meccanismo apposito ("**frizione**")[183].

Questa funzione viene svolta in mille modi diversi, addirittura con apposite manopole o viti ma, per essere efficienti, questi meccanismi devono essere regolabili; solo così si potrà, volta per volta, adattare il meccanismo alle esigenze del momento ed ai gusti personali, contrastare gli effetti dell'usura o l'indurimento progressivo di certi grassi (in caso di disuso prolungato si può arrivare al blocco totale) ed evitare che il movimento divenga comunque troppo duro o troppo lento per essere pratico.

Allora, ogni movimento deve essere accompagnato da un meccanismo di frizione, possibilmente regolabile. Se il costruttore non provvede adeguatamente, prima o poi il movimento diventerà inutilizzabile. Spesso, gli stessi meccanismi che attuano la ripresa dei giochi non fanno che variare la pressione fra le parti in movimento e pertanto influenzano gli attriti svolgendo così la funzione di frizione più o meno regolabile. Con l'uso di componenti elastici (rondelle a tazza o a spirale, molle, guide flessibili, ecc.) si può ottenere una pressione più o meno costante fra le parti in scorrimento: ciò può bastare a rendere costante anche l'attrito ed il gioco, ovvero a costituire una ripresa automatica e permanente del gioco. Si tratta di quei piccoli accorgimenti che distinguono il costruttore serio e competente da quello superficiale.

26.5.5 - Fine corsa

Tutti i movimenti, tranne alcuni movimenti di rotazione (tavolini, ad es.) hanno un'estensione limitata, nel senso che, ai due estremi, vi è un arresto o "**fine corsa**" che lo limita. Anche qui la realizzazione pratica può seguire svariatissime soluzioni, ma un fine corsa deve obbedire comunque ad alcune condizioni.

◊◊ Posizione - I fine corsa debbono essere tali da consentire all'organo mobile di svolgere la sua funzione ma non di provocare danni. Per es., un guida oggetti deve spostare un vetrino per tutta la zona utile, ma deve mantenersi entro limiti tali da non urtare cogli obbiettivi; oppure, il porta-condensatore non deve portare il condensatore ad urtare col vetrino verso l'alto o collo specchio (o la microlampada) verso il basso.

◊◊ Possibilità di regolazione - Può essere opportuno variare l'ampiezza di un

[183] Ciò diviene particolarmente necessario quando un dato movimento è verticale, e porta un organo pesante che tende a scendere per effetto della gravità (porta-condensatore, movimento macrometrico, ecc.).

movimento per usi particolari: per es. esplorare solo una porzione limitata di un vetrino mosso da un guida-oggetti. Nel caso di un condensatore o di un obbiettivo bisognerà che a questi organi sia impedito di urtare col vetrino (frattura nel vetrino o nelle lenti frontali); ma i vetrini non hanno sempre lo stesso spessore e saranno preziosi i fine-corsa regolabili (§ 19.1.3).

◊◊ Sensibilità - I fine corsa debbono provocare un aumento brusco della resistenza presentata dalla manopola di comando; tale aumento deve essere facilmente avvertibile ed evitare che il movimento venga forzato.

◊◊ Sicurezza - La parte mobile , quando il fine corsa è raggiunto, va generalmente a spingere contro una parte fissa. Se le due parti che si incontrano sono rigide, si dice che il fine-corsa è "positivo". Questo rende più sensibile il fine corsa e, se le parti a contatto sono sufficientemente robuste, blocca il movimento. Però in certi casi (per es. le viti micrometriche, vedi oltre) il movimento è demoltiplicato; se il fine corsa è disposto alla fine del movimento demoltiplicato, l'aumento di resistenza può essere impercettibile, e l'utente può forzare il fine corsa senza accorgersene. Poiché il movimento è demoltiplicato, esso eserciterà una forte pressione sul fine corsa con pericolo di deformazioni o rotture. Per evitare ciò si possono usare due accorgimenti.

In primo luogo, il movimento può essere munito di una "frizione"[184], cioè di un collegamento che può slittare in modo che, una volta raggiunto il fine corsa, il movimento stesso non venga più trasmesso e non produca danno.

In secondo luogo, il fine corsa può essere sistemato all'inizio della catena in modo da ricevere una spinta non ancora rinforzata dalla demoltiplicazione; ad es., per limitare il numero di giri di una manopola, si può usare una serie di rondelle, ognuna con un dente; ogni rondella, dopo un giro completo, si impegna sull'altra la quale, dopo un altro giro, si impegna sulla successiva e così via. Dopo un numero di giri pari al numero delle rondelle, il movimento si blocca. La catena di demoltiplicazione che segue non viene più sollecitata.

26.5.6 - Velocità

Si può definire **velocità** lo spostamento corrispondente ad un giro intero della manopola di comando.

Da un lato, è utile una bassa velocità, cioè un movimento lento del vetrino, per rendere più facili gli spostamenti piccoli; dall'altro è utile una velocità elevata per saltare in breve fra punti distanti del vetrino. Caso per caso, il costruttore cerca il miglior compromesso.

Ovviamente, la velocità di un movimento dipende solo dal tipo di meccanismo e di demoltiplica utilizzato.

Vedremo che, nel caso della messa a fuoco, si conciliano le contrastanti esigenze della velocità bassa ed alta dividendo il movimento in due meccanismi diversi, con velocità assai differenti, anche se agiscono nella stessa direzione. Questo doppio comando non è mai necessario nei movimenti del guida-oggetti, del condensatore o dei tubi.

In rari casi, la messa a fuoco è affidata a tre diversi movimenti, con diversa velocità. Dove si fa uso di elettronica, la velocità del movimento può essere regolabile con mezzi elettrici.

---

[184] In questo contesto, il termine "frizione" diviene sinonimo di "accoppiamento fra due parti con possibilità di scivolamento", mentre più sopra significava "presenza di ragionevole attrito nel movimento reciproco fra due parti".

26.6 - TAVOLINI A SCIVOLAMENTO

Vi sono tavolini speciali di costruzione semplice e costo ridotto, costituiti da una parte fissa inferiore ed una mobile superiore, generalmente rotonda. La superficie lungo la quale le due parti entrano in contatto è lavorata con molta cura, in modo da avere un'elevata planeità ed una bassa rugosità. Ponendo su queste superfici un velo di grasso a media viscosità si ottiene una mobilità del tavolino in tutte le direzioni, alla semplice pressione della mano. Naturalmente, un opportuno orlo ripiegato nella parte mobile od altro dispositivo rende impossibile il distacco della parte stessa.

È sorprendente come un tale tavolino "**a sfregamento grasso**" sia resistente ad un brusco urto casuale e sia invece docile e sensibile ad una pressione prolungata.

Il fine preciso di questi tavolini è di consentire movimenti dell'oggetto in tutte le direzioni e con una sola mano, mentre l'altra è disponibile per la messa a fuoco. Questa possibilità è preziosa quando si osservano oggetti mobili in sospensione liquida, per es. microrganismi viventi in micro-culture. I movimenti di questi esseri sono vivaci ed imprevedibili e non è possibile inseguirli con un normale traslatore munito di due manopole separate che vanno usate o con due mani o con la stessa mano, ma in tempi successivi.

Poiché la trasmissione del movimento è diretta, i tavolini a scivolamento sono esenti da tutti i problemi di isteresi, giochi, incoerenza o repetibilità appena discussi. Essi non sono diffusi come la loro praticità farebbe supporre, forse solo perché sono troppo semplici e quindi non sono apprezzati dagli utilizzatori e non sono convenienti per i venditori. Il loro solo, reale, inconveniente è che non consentono di esplorare tutta la superficie dell'oggetto con movimenti rettilinei, vale a dire per campi contigui allineati e per file parallele di campi.

27 - LO STATIVO

Si può definire "stativo" l'insieme delle parti meccaniche del microscopio, escludendo quindi solo le parti con funzioni ottiche (lenti, specchi, prismi, lamine trasparenti, filtri).

Ma in molti sistemi ottici (obbiettivi, oculari, condensatori, ecc.) la parte ottica è strettamente integrata ad una montatura meccanica al punto che, smontando le lenti, gli specchi, ecc. il sistema perde ogni funzione ottica, se non altro a causa delle inevitabili perdite della centratura e dei rapporti geometrici corretti. Nel § 19.5.2 si è visto come sia critica la centratura di un obbiettivo, ad es., e si è detto (vedi il § 13.2.4) che, nella maggioranza degli obbiettivi forti, esiste una lente flottante, la cui centratura va immediatamente perduta appena si smonta il pacco lenti dell'obbiettivo stesso.

Pertanto, si possono considerare come sistemi ottici complessivi, non divisibili, molte parti del microscopio già esaminate: obbiettivi, oculari, condensatori, tubi porta-oculari, tubi intermedi, microlampade, ecc. Togliendo tali sistemi, rimane allora una struttura esclusivamente meccanica che si può chiamare "**stativo**" in senso stretto, costituita da:

◊◊ Base o piede, di peso notevole, che dà stabilità allo strumento rispetto al piano su cui poggia (7 in fig. 102).

◊◊ Braccio (B in fig. 96 ; 2 in fig. 102) eventualmente scomponibile in braccio vero e proprio, più o meno orizzontale, e colonna, più o meno verticale (B e Co in fig. 97), che regge la maggior parte di ciò che segue.

◊◊ Tavolino con relativo supporto (vedi il § 26 ed inoltre Ta in fig. 96, 97, 106, ecc.).

◊◊ Revolver porta-obbiettivi (R in fig. 96 e 97) o almeno un dispositivo di fissaggio di esso (1 in fig. 102).

◊◊ Porta-condensatore (9 in fig. 102).

◊◊ A volte, vi saranno strutture di fissaggio della microlampada (6 e 8 in fig. 102).

Poiché porta i vari sistemi ottici, ne assicura la posizione ed i movimenti relativi, lo stativo si configura come un vero e proprio "banco ottico".

Mentre i movimenti dell'oggetto in un piano perpendicolare all'asse sono affidati al tavolino, quelli dell'oggetto rispetto all'obbiettivo (o viceversa) in direzione dell'asse sono affidati a meccanismi contenuti nello stativo stesso. Altrettanto va detto per il porta-condensatore.

La posizione ed i movimenti relativi delle varie parti del microscopio sono soggetti ad esigenze assai spinte: basti pensare che la penetrazione e la risoluzione degli obbiettivi più forti scendono a frazioni di micron. Per avere un'immagine stabile, la posizione relativa di oggetto ed obbiettivo dovrebbe restare costante entro gli stessi limiti. Inoltre, il potere d'ingrandimento del microscopio non si limita all'oggetto, ma interessa anche i movimenti di esso in tutte le direzioni: qualunque oscillazione dell'oggetto (dovuta ad elasticità, giochi, ecc.) viene amplificata nella stessa misura dell'ingrandimento. Pertanto, nessuno strumento è perfetto dal punto di vista meccanico: se non altro, la flessibilità dei vari supporti fa variare il fuoco e la posizione dell'oggetto alla sola pressione delle mani, almeno a forte ingrandimento. Del resto, le tolleranze più strette, sempre a forte ingrandimento, si hanno nella posizione relativa dell'oggetto e dell'obbiettivo, ma tali parti si trovano agli estremi di una lunga catena di strutture; si consideri uno stativo classico come quello di fig. 96 o 97 o 102: del vetrino si ha un fissaggio non sempre univoco rispetto al guida-oggetti; questo si muove rispetto al tavolino a mezzo di guide; il tavolino può essere fisso rispetto al braccio o alla colonna (fig.

96), ma in questo caso è mobile il tubo; se è fisso il tubo (fig. 97) è mobile il tavolino; dalla colonna e dal braccio si passa al tubo, poi al revolver, alla montatura dell'obbiettivo ed infine al barilotto generale rientrante (vedi il § 19.1).

Tutti questi accoppiamenti sono sorgente di giochi ed ogni parte è più o meno elasticamente flessibile. Le esigenze meccaniche poste allo stativo sono dunque assai spinte: la somma dei giochi e delle flessibilità di tutte le parti della catena appena descritta deve essere ridotta il più possibile.

27.1 - I TIPI FONDAMENTALI

Come per tutte le altre parti del microscopio, e come avviene per tutti i prodotti di alta tecnologia, si possono vedere per lo stativo infinite soluzioni, sia nella produzione attuale che nel passato.

In relazione alle conoscenze scientifiche, alle possibilità tecniche, alle richieste del mercato, alle mode, alla genialità dei progettisti, all'impegno dei tecnici, si sono viste, anche per lo stesso problema, soluzioni assai diverse. Molte di queste soluzioni sono state presto abbandonate, o per variazione dei gusti o per motivi soggettivi; altre sono cadute a causa di alti costi, di eccessiva criticità delle messe a punto, di rapido deterioramento di alcuni componenti. Altre soluzioni si sono rivelate poco pratiche o utili solo in casi particolari. Tutte però rappresentano il frutto di grandi sforzi di progetto e di costruzione e conservano almeno un valore storico.

Dispiace inoltre che certi ritrovati o intere linee di produzione siano stati abbandonati, senza riguardo al loro valore tecnologico, per motivi puramente commerciali; intere maestranze di elevata qualificazione e vere tradizioni e centri di cultura tecnica vengono soppressi per la cessazione dell'attività di una casa, per la fusione di una casa con un'altra che soffoca la prima, per la chiusura dei mercati, ecc. E molte produzioni, anche tecnicamente raffinate, vengono abbandonate per l'indifferenza e l'incompetenza di utilizzatori e venditori.

In altri casi, molti prodotti vengono ignorati, specialmente in paesi diversi da quello di produzione, per mancanza di una rete di distribuzione.

In compenso, certe soluzioni tecniche risultate efficienti ed economiche si ritrovano sempre, dopo la loro introduzione anche di 100 o 150 anni fa, con lievi varianti. Forse la tecnologia ottica è una delle più conservative. Così, i modelli principali di stativi che illustriamo brevemente sono validi oggi, come lo erano nella seconda metà dell'800.

27.1.1 - Stativi diritti

In certi stativi, esiste una colonna verticale, fissa rispetto al piede, che porta il tavolino ed il tubo (col tramite di un breve braccio). In linea di massima, si tratta di strumenti semplici ed economici. Questa soluzione era molto in uso nei secoli scorsi e può essere utile negli strumenti portatili, consentendo una riduzione degli ingombri.

Spesso, manca una microlampada incorporata e perfino un condensatore. Il tubo è in genere diritto e monoculare, quindi verticale. Inoltre, per ragioni di ingombro, in certi casi

vengono abbandonati gli standard meccanici abituali (diametro e lunghezza del tubo, passo di vite e lunghezza degli obbiettivi, ecc.), per cui questi strumenti non possono accettare sistemi ottici di altri costruttori. Ciò non toglie che ne siano stati costruiti di ottima qualità.

27.1.2 - Stativi a perno

Un tipico esempio è quello di fig. 96; si tratta ancora di strumenti economici, ma vi sono versioni di ottima qualità. La caratteristica saliente è data da un **braccio** spesso ricurvo (B in fig. 96) sul quale tutto è fissato direttamente: il corpo di tubo C , col tubo T verso l'alto (diritto e monoculare nei modelli più economici) ed il revolver R verso il basso, il tavolino Ta , il porta-condensatore ed il porta-specchio. Tale braccio è imperniato rispetto al piede in P e con esso si possono inclinare tutte le parti con esso solidali.

Col tubo verticale, si hanno questi vantaggi:

◊◊ un'eventuale microcamera od altri accessori fissati al tubo scaricano il proprio peso direttamente sulla guida porta-tubo (G), senza "fare leva";

◊◊ il tavolino è orizzontale e non si verifica quindi lo scivolamento del vetrino o lo scorrimento di eventuali liquidi presenti su di esso;

◊◊ nella micro-proiezione, il braccio snodato può portare il tubo all'orizzontale, evitando l'uso di uno specchietto sopra l'oculare.

Gli svantaggi del tubo verticale stanno essenzialmente nella scomodità: occorre guardare con l'occhio rivolto in basso e quindi piegare molto il collo. Proprio per evitare questo, il braccio è inclinabile a volontà, ma allora due dei vantaggi sopra visti diventano svantaggi: 1) gli accessori fissati al tubo si trovano "a sbalzo", col baricentro non sulla verticale della guida; 2) il tavolino non è più orizzontale.

In qualche caso, il tubo T è "a gomito": anche se l'asse ottico dell'obbiettivo è verticale, un opportuno prisma consente di inclinare il tubo T e l'oculare: l'osservazione è comoda ed il tavolino rimane orizzontale (fig. 97).

Tavolino, condensatore e porta-condensatore possono essere di qualunque tipo. Anche il revolver non trova limitazioni particolari. Viceversa, la microlampada deve essere esterna, indipendente dallo stativo, a meno che ne sia previsto qualche modello molto piccolo da sostituire allo specchio.

La limitazione più forte sarà nei tubi porta-oculari (difficilmente bioculari) e nei tubi intermedi. Anche gli illuminatori episcopici, gli accessori per radiazione polarizzata, ecc. difficilmente trovano posto su questi stativi. È invece facile applicare gli accessori per il contrasto di fase, il campo scuro, la fluorescenza (almeno in diascopia), ecc.

Otticamente, un tubo semplice e diritto come quello di fig. 96 ha comunque i vantaggi legati all'assenza di elementi ottici fra obbiettivo ed oculare, come descritto nel § 24, senza contare l'assenza di residui di aberrazioni che i sistemi intermedi possono sempre introdurre.

Questo tipo di stativo sta scomparendo poiché i tubi a gomito (come quello di fig. 97) assommano il vantaggio della visione con asse inclinato e del tavolino orizzontale. A favore di un tubo diritto verticale rimane la possibilità di applicare microcamere od altri accessori: in uno stativo come quello di fig. 97, per applicare la microcamera sarà opportuno smontare il tubo a gomito e sostituirlo con un tubo diritto.

Negli stativi a perno, la focalizzazione avviene in genere muovendo il tubo (T + C + R in fig. 96) rispetto al braccio B . I comandi di messa a fuoco (vedi il § 27.2.2) sono due: Ma ed Mi con manopole e guide separate. Il tubo T può essere "telescopico", cioè a lunghezza variabile. Ciò consente di variare leggermente l'ingrandimento, arrotondare i "valori

micrometrici" (vedi il § 12.3) e correggere un errato spessore della lamella (§ 13.2.3.3) senza ricorrere agli obbiettivi "a correzione" (§ 13.2.3.2). Ma si sono visti gli inconvenienti di una deviazione della lunghezza del tubo dal valore nominale.

27.1.3 - Stativi a colonna

Confrontiamo ora la fig. 97 e la 106, da un lato, con la 102 dall'altro. Nonostante l'apparente diversità, la struttura fondamentale è la stessa: un braccio ricurvo (2 in fig. 102) oppure una colonna verticale (Co in fig. 97 e fig. 106) prolungata in un braccio orizzontale (B in fig. 97 e fig. 106) sono fissi rispetto alla base (Pi in fig. 97, 7 in fig. 102) in modo assolutamente rigido, di solito con quattro grosse viti da sotto. Il tavolino è sempre orizzontale, il tubo porta-oculari è sempre inclinato, magari composto dal vero tubo senza gomito, fissato ad un pezzo intermedio a gomito come in fig. 106.

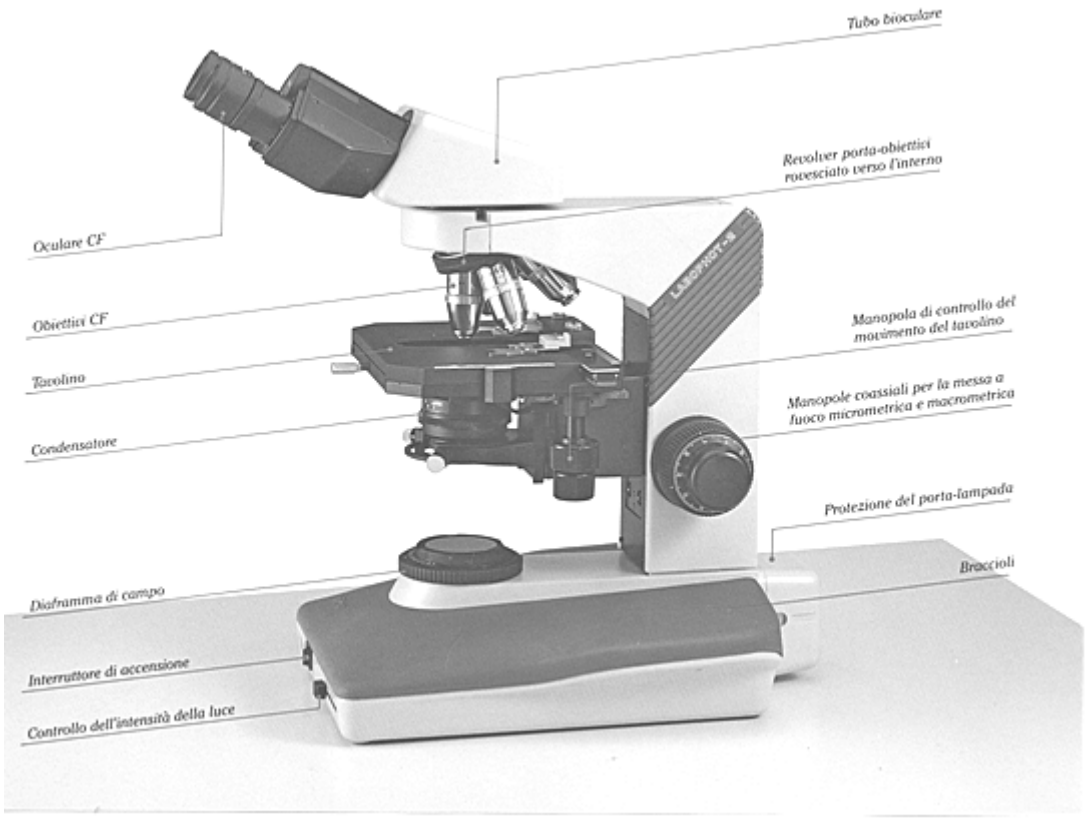


Fig. 106 - Da catalogo NIKON Inc., mod Labophot 2

Sul braccio ricurvo (2 in fig. 102) od orizzontale (B in fig. 97 e fig. 106) si fissano tutte le altre parti del sistema formatore d'immagine: revolver (R), fisso (fig. 97 e 106) o intercambiabile (fig. 102 e 107), tubo porta-oculari, tubi intermedi, microcamera, ecc. L'accoppiamento fra tubi porta-oculari (od intermedi) e braccio è dato spesso da una coda di rondine circolare (vedi il § 24).

Con molte varianti, lo stativo a colonna è oggi il più diffuso. In quello di fig. 106 si possono vedere molti particolari assenti in quello di fig. 97. Confrontiamo i due modelli.

Il tubo è monoculare in fig. 97, bioculare in fig. 106, ma di solito questi stativi accettano

vari tipi di tubo. Il revolver è voltato dalla parte dell'oculare in fig. 97, dalla parte opposta nell'altro modello. Quest'ultima soluzione facilita l'accessibilità al vetrino ed al tavolino. È ben vero che il tubo porta-oculari si può voltare dalla parte opposta, cioè del braccio (la coda di rondine circolare permette di voltarlo da qualunque parte): in tal caso il tavolino sarebbe più accessibile nel modello di fig. 97. Ma questa soluzione non è normalmente usata poiché la visibilità del tavolino sarebbe comunque obliterata dalla colonna Co.

In fig. 97 il tavolino è semplice, fisso, ma normalmente è possibile aggiungere un guida-oggetti come quello di fig. 103. In fig. 106 si vede un classico traslatore colle manopole coassiali rivolte in basso, sul lato destro. S'intravvede anche la pinza ferma-vetrino.

Il condensatore C in fig. 97 è semplice, senza cremagliera per la messa a fuoco. Si vede, sporgente, la levetta di regolazione del diaframma. In fig. 106 è poco visibile il movimento di focalizzazione del condensatore; si vedono però due viti, sporgenti a sinistra, per la centratura del medesimo.

Sul piede, si nota in fig. 106 un diaframma di campo, assente nell'altro modello. In entrambi i casi, il piede contiene la microlampada. In fig. 102 si vede l'alloggiamento della microlampada (6) e di una lente a grande campo (8), la regolazione in altezza del condensatore (3) e le due mensole per il condensatore (9) e per il tavolino (10); l'estremità del braccio (1) porta le tre punte per la coda di rondine circolare del tubo (superiormente) e la coda di rondine lineare del revolver, che è intercambiabile (inferiormente).

La messa a fuoco è ottenuta con due manopole coassiali in fig. 102 (4 e 5) ed in fig. 106, mentre in fig. 97 esiste una sola manopola M che svolge entrambe le funzioni (per i dettagli vedi il § 27.2.2).

27.1.4 - Stativi da ricerca

Questo termine non ha un significato preciso: indica solo gli strumenti più complessi e capaci di fornire prestazioni non standard, quali si richiedono nel lavoro di ricerca.

La varietà delle prestazioni è ottenuta per due vie diverse:

◊◊ lo stativo è meccanicamente ed otticamente concepito secondo uno schema "modulare" in modo da poter accettare accessori di vario tipo e per usi speciali; in particolare, possono essere applicabili ed intercambiabili con semplici operazioni i tubi porta-oculari, i tubi intermedi ed altri accessori per varie tecniche di contrasto, il revolver, vari modelli di tavolino e di condensatore, la microlampada, i porta-filtri, microcamere o telecamere, ecc.;

◊◊ lo stativo è di tipo "integrato" nel senso che porta stabilmente incorporati alcuni accessori che normalmente sono separati: una o più microcamere, illuminatore episcopico, variatori d'ingrandimento, sistemi zoom, ecc.; vi può essere anche un gioco di specchi che permette lo scambio rapido fra due o tre microlampade, stabilmente fissate allo stativo, a volte con uso simultaneo (per applicare tecniche diverse in sovrapposizione, come il contrasto di fase in diascopia e la fluorescenza in episcopia).

Va notato che questi stativi d'alto bordo offrono soprattutto una praticità d'uso maggiore di quelli normali per la loro struttura composita e modulare. Ma non possono avere (per le ragioni a suo tempo illustrate) un maggior potere risolutivo, una maggior definizione e spesso neppure un maggior campo immagine, a meno che non si faccia il confronto con strumenti economici che accettano solo certi tipi di sistemi ottici a prestazioni limitate: nella maggioranza dei microscopi anche semplici è possibile applicare sistemi ottici di vario genere, capaci di fornire immagini con la massima qualità teoricamente possibile, specie riguardo a risoluzione e definizione. Può anzi succedere che, per la maggior complessità dei

sistemi ottici e dei tubi intermedi, uno stativo da ricerca comprenda un maggior numero di elementi fra obbiettivo ed oculare, quindi qualche perdita di definizione e di contrasto (maggior contributo alla luce diffusa, residui di aberrazioni).

In complesso, uno stativo da ricerca possiede di solito, come accessori da aggiungere o già incorporati, gli elementi necessari per certe tecniche speciali, che in altri casi richiedono l'uso di uno strumento a parte, specialmente predisposto: episcopìa, fluorescenza, radiazione polarizzata, fotografia, ecc.

Fig. 107 - Da catalogo Nikon Inc., mod. Microphot, 2 CE MXVH 1, 1990

La struttura generale di uno stativo da ricerca è spesso del tipo a colonna, già illustrato. In fig. 107 si vede un tipico esempio. Vediamo qualche dettaglio.

Il tubo porta-oculari è fisso, non girevole come negli esempi precedenti; il braccio orizzontale è assai massiccio poiché non serve solo da supporto al revolver ed agli oculari, ma si tratta di un complesso tubo intermedio che contiene vari accessori, come la lente di Amici e divisori di fascio, e presenta due "uscite" o "**porte**" supplementari sulla faccia superiore: da tali uscite emergono fasci secondari, ottenuti dal fascio principale a mezzo di semiriflettenti o specchi mobili, capaci di fornire altrettante immagini finali. Sulle "uscite" si possono fissare una microcamera, una telecamera, o, in alternativa, un micro-fotometro, un analizzatore

d'immagine, ecc. Sulla colonna si possono fissare simultaneamente due diverse microlampade per scopi differenti. Fra revolver (intercambiabile) e braccio si possono inserire dei tubi intermedi per tecniche speciali: radiazione polarizzata, epi-fluorescenza, episcopia, ecc. Nel piede è alloggiata una parte del sistema illuminante, con diaframma di campo, porta-filtri a pulsanti, ecc. Pure i circuiti elettrici di alimentazione della microlampada sono contenuti nel piede. La microlampada stessa, invece, è esterna al piede poiché la sua dissipazione di calore è eccessiva. Il tavolino è girevole attorno all'asse ottico ed intercambiabile. Anche del condensatore vi sono molti modelli per le diverse applicazioni. Sono possibili varie "tecniche di contrasto", ma questo è comune negli strumenti di un certo livello.

27.1.5 - Stativi rovesciati

Accenniamo appena ad una categoria di stativi per usi particolari, in cui il percorso ottico è rovesciato rispetto al normale.

Osserviamo la fig. 108: è ben visibile il tavolino, con due mollette ferma-vetrino. Sopra, rovesciato verso il basso, è il condensatore; sopra ancora, una microlampada con slitta porta-filtri. Dunque, il preparato è illuminato da sopra.

Sotto il tavolino, semi-nascosto, il revolver. Sotto al revolver, un gioco di prismi divide il fascio formatore d'immagine in due o tre parti: l'una fornisce il canale per la visione (tubo porta-oculari inclinato); un'altra fornisce l'immagine fotografica (microcamera in basso sul piano mediano); una terza uscita, sul lato sinistro dello strumento e non visibile in figura, consente la ripresa cinematografica o televisiva. Si noti la manopola per il comando del tavolino (movimenti X- Y), con asse molto lungo (a destra) che consente di tenere il braccio poggiato sul tavolo.

La messa a fuoco si applica al solo revolver (più spesso) oppure al tavolino.

Ebbene, in tale stativo rovesciato tutto il percorso ottico procede dall'alto verso il basso, salvo per gli oculari. Dunque l'oggetto è illuminato da sopra ed osservato da sotto. L'utilità di questa disposizione sta nella possibilità di osservare preparati liquidi (micro-culture, micro-acquari, vaschette, cuvette, scatole di Petri[185], ecc.) da sotto, mettendo a fuoco gli elementi che si depositano sul fondo. Si parla in certi casi, un po' impropriamente, di "microscopi da plancton[186]". Vedi in proposito anche il § 16.1.

I principi di funzionamento sono gli stessi degli strumenti normali; cambia solo la disposizione geometrica generale. Normalmente, prevedendo l'osservazione di cellule o microrganismi viventi non colorati, sono predisposte le tecniche di contrasto come il contrasto di fase, il DIC, ecc.

Il problema più grave di questi strumenti è dato dal fatto che l'obbiettivo osserva l'oggetto attraverso il fondo del recipiente, vaschetta o altro. Vi possono essere recipienti costruiti appositamente oppure vetreria ordinaria da laboratorio.

Nel primo caso, si tratta in genere di cilindri cavi, di altezza anche notevole, il cui fondo è chiuso con appositi sigillanti (adesivi, anelli OR in gomma speciale, ecc.) a mezzo di una lamina in vetro a caratteristiche ottiche controllate: le superfici della lamina debbono essere piane e parallele, il vetro deve avere un indice prestabilito ed omogeneo, ecc. Naturalmente,

---

185 Citato nel § 21.3 .

186 Dal greco "plagkton" = errabondo; il termine indica l'insieme degli organismi generalmente piccoli che vivono sospesi nell'acqua senza avere mezzi di locomozione capaci di contrastare le correnti del liquido, e senza rapporti col fondo. Il microscopio rovesciato è invece dedicato a ciò che si deposita sul fondo.

su tutti questi parametri, specialmente sulla planeità delle superfici, vi sono delle tolleranze, che non possiamo qui specificare; ma basti dire che queste lamine debbono avere caratteristiche comparabili a quelle di una lamella. In particolare per il loro spessore vale quanto si è detto nei §§ 12.1 e 13.2.3.3; in quella sede si è specificato quali sono le tolleranze sullo spessore in funzione dell'apertura dell'obbiettivo. Se la vaschetta è chiusa da una lamina di spessore 0,17 mm, sul microscopio rovesciato è possibile utilizzare obbiettivi normali, calcolati appunto per lamelle di tale spessore, quindi di tipo normale. Spesso però si usano lamine di spessore maggiore, ed occorreranno obbiettivi speciali. Comunque, si ricordi che fino ad aperture NA minori di circa 0,4 , la tolleranza sul valore di **d** è molto elevata.

Fig. 108 - Da catalogo Nikon Inc., mod.Diaphot, 2 CE MYRH 4, 1991

Le cose cambiano quando si usano recipienti presi fra la normale vetreria per uso chimico: spesso, il fondo dei recipienti è irregolare quanto a spessore, planeità, indice, ecc. Oltre a dover lavorare con obbiettivi calcolati per uno spessore di vetro assai maggiore, occorre limitarsi a piccole aperture (e quindi piccoli ingrandimenti): la consapevolezza di

queste limitazioni da parte di utilizzatori e venditori è piuttosto scarsa.

I microscopi rovesciati come quello di fig. 108 possono servire anche per l'osservazione di normali "vetrini": bisogna naturalmente poggiare il vetrino sul tavolino con la lamella in basso ed utilizzare obbiettivi calcolati per una lamella normale (d = 0,17 mm). Impossibile usare vetrini in cui porta-oggetti e lamella sono collegati da uno strato liquido (preparati temporanei con culture acquose, preparati freschi in cui la resina non è ancora indurita, ecc.) poiché il liquido colerebbe.

Vi sono poi **microscopi rovesciati** adibiti ad **osservazioni** esclusivamente **episcopiche**, cioè per oggetti opachi, come rocce, carboni, ceramiche, e soprattutto leghe metalliche (**microscopi metallografici**). In tal caso, come si disse nel § 19.2.5 e come si dirà meglio nel § 30.1, l'illuminazione arriva attraverso lo stesso obbiettivo; il sistema illuminante visibile in alto in fig. 108 è inutile ed è sostituito da un apposito "illuminatore" che sta fra obbiettivo ed oculare. Il vantaggio di questa disposizione è che la superficie del tavolino è completamente libera e su di esso si possono poggiare oggetti di grandi dimensioni, con la superficie levigata da osservare voltata in giù.

Come si è detto, l'illuminazione episcopica sconsiglia l'uso di lamella, per cui gli obbiettivi debbono essere del tipo d = 0 (da usare senza lamella).

Si tratta di una tecnica particolare, con esigenze diverse da quelle dei microscopi normali. Il principio di funzionamento è però sempre lo stesso. Vedi in proposito il § 30.1.2.

27.2 - La STRUTTURA dello STATIVO

La struttura meccanica generale dello stativo deve obbedire a certi requisiti che in parte sono stati già accennati, ed in parte sono intuitivi.

Tutte le parti meccaniche debbono possedere una rigidità più elevata possibile, anche se mai sufficiente; in ogni caso, le deformazioni che esse subiscono nell'uso normale debbono essere di tipo elastico (reversibili), mai plastico. L'assenza di deformazioni irreversibili implica anche una buona **ripresa dei giochi** in tutti gli accoppiamenti.

A proposito di **rigidità**, si osservi uno stativo a colonna come quello di fig. 97 o 106 o 107: molte parti sono fissate e gravano col loro peso sull'estremità del braccio: revolver, tubi porta-oculari o intermedi, eventuali microcamere, ecc. E fin qui c'è da aspettarsi solo una flessione elastica, costante, del braccio. Ma il braccio è soggetto anche a varie sollecitazioni rapidamente variabili: movimenti dell'otturatore fotografico, azionamento di vari organi (cambiatori d'ingrandimento, prismi ecc.), e soprattutto urti degli oculari con il capo o le mani dell'operatore. Ne nascono delle oscillazioni che influiscono sulla distanza obbiettivo-oggetto e quindi sulla focalizzazione, e producono anche movimenti laterali dell'immagine (effetto "mosso").

Per minimizzare queste instabilità dell'immagine, qualche costruttore avveduto ha scelto una strada risolutiva: all'estremità superiore della colonna si fissano due bracci sovrapposti: l'inferiore porta il solo revolver, che è la parte più sensibile, e non va soggetto ad urti, tranne che per il cambio dell'obbiettivo. Il braccio superiore invece porta tutto il resto, e può subire con minor danno pressioni anche non lievi.

Della struttura del tavolino e dei suoi movimenti si è già parlato (§ 26).

Del porta-condensatore si è parlato nei §§ 21.4 e 21.6. Molti problemi meccanici legati alla focalizzazione del condensatore sono identici a quelli descritti parlando dei movimenti

del tavolino, e non ci ripeteremo: rigidità (26.5.1), giochi (26.5.2), isteresi (26.5.3), frizioni (26.5.4), fine corsa (26.5.5), velocità (26.5.6).

27.2.1 - La base

La base o piede è la parte che dà appoggio e stabilità al microscopio. Può essere assai semplice e non contenere alcun componente (fig. 96), ma più spesso, assieme alla colonna, può contenere varie parti: microlampada o almeno una parte del sistema illuminante (collettore, diaframma di campo, porta-filtri, lente a grande campo), alimentatore elettrico della lampada, ecc.

Dalle prime forme, come quella classica a ferro di cavallo della fig. 96[187], si è passati oggi a forme più o meno rettangolari, dotate di superfici di appoggio per le mani (ben visibili in fig. 106 e 107). La forma rettangolare, dando alloggio almeno in parte al sistema illuminante, contiene anche lo specchio che rinvia verso il condensatore il fascio illuminante. Sulla base si vede quindi solo una "finestra" per l'uscita di quel fascio, finestra sempre chiusa da una lamina in vetro per evitare l'ingresso della polvere. Sulla finestra vi può essere un porta-filtri ad una o più sedi e sotto, a volte, il diaframma di campo.

Quando invece è prevista una microlampada esterna, il piede può portare il classico specchietto rotondo; in fig. 96 lo specchietto è fissato alla parte bassa del braccio B. Sarà in genere possibile collegare al piede dello strumento la base di una microlampada esterna a mezzo di apposito telaietto, dotato di opportuni incastri.

Tranne il caso degli strumenti portatili o "da viaggio", è bene che il piede sia più pesante possibile, sia per ragioni di stabilità che di insensibilità alle vibrazioni.

La base del microscopio deve essere munita di "piedini" in gomma o feltro che evitino il contatto fra metallo della base e tavolo. Meglio i piedini in feltro, per facilitare gli spostamenti dello strumento sul piano di appoggio e per meglio smorzare le vibrazioni; la gomma è elastica e trasmette bene. Molti costruttori dimenticano questi dettagli.

27.2.2 - La messa a fuoco

È certamente questo il meccanismo più importante e più delicato del microscopio; esso varia la distanza fra oggetto ed obbiettivo, quindi la posizione dell'immagine intermedia e dell'immagine finale; da esso dipende se l'immagine finale (virtuale, per l'osservazione, o reale, per la fotografia, la proiezione ecc.) raggiunge il massimo di "nitidezza" consentito dalla definizione (cioè dalla correzione delle aberrazioni) e dalla risoluzione (cioè dall'apertura) dell'obbiettivo.

Poiché la profondità di fuoco degli obbiettivi più forti scende a frazioni di micron, questa deve essere la "risoluzione" della messa a fuoco, cioè il più piccolo movimento ottenuto da un normale[188] azionamento di una manopola. Ciò implica ovviamente una bassa velocità (vedi il § 26.5.6) e quindi una forte demoltiplica. Una bassa velocità significa però un movimento

[187] La base a ferro di cavallo, assai diffusa fra i costruttori europei, fu introdotta da Oberhauser nel 1848.

[188] Per "normale" intendiamo qui una piccola rotazione di una manopola, quale si può ottenere in 1 - 2 secondi senza particolare attenzione. Su questa "normalità" influiscono il diametro della manopola, la sua frizione, l'abilità e l'esperienza dell'operatore, ecc.

lento: se un giro di manopola deve corrispondere, per es. a 100 o 200 μ , per uno spostamento di 1 cm occorrono 50 o 100 rotazioni della manopola. A volte, per osservare oggetti molto spessi o per rendere rapidamente accessibile la zona del preparato, occorre sollevare l'obbiettivo anche di qualche cm; ed allora una velocità di focalizzazione di 100 μ per giro non basta. Si realizza così un doppio movimento: la "**vite micrometrica**" o "**movimento lento**" o "**focalizzazione fine**", con una velocità da 100 a 500 μ per giro, ed una "**vite macrometrica**" o "**movimento rapido**" o "**grossolano**" ("coarse" in inglese) con velocità di molti millimetri per giro. Raramente vi sono meccanismi a tre stadi (Leica, ecc.). Tutti comunque variano la distanza fra obbiettivo ed oggetto.

A volte, il movimento di focalizzazione si applica solo al revolver (che è separato dal tubo) o al tubo che lo porta, come in fig. 96: la macrometrica Ma muove il tubo C + T col revolver R rispetto alla guida G ; la micrometrica Mi muove la guida G rispetto al braccio B . Il tavolino è immobile . Nello stativo di fig. 102 la macrometrica muove il braccio 2 rispetto al blocco 11 , solidale colla base, e quindi muove il revolver; la micrometrica muove il porta-tavolino 10 . Negli stativi di fig. 97, 106 e 107 i due movimenti agiscono entrambi sul tavolino. Nello stativo rovesciato di fig. 108, la messa a fuoco agisce sul revolver, ma questa disposizione si trova anche in certi stativi diritti, come già detto.

Il vantaggio del tavolino immobile è duplice: facilitare l'applicazione di un micro-manipolatore o di accessori pesanti e permettere una lunga corsa verso l'alto dell'obbiettivo e del braccio, ed addirittura lo smontaggio del braccio; si possono così osservare oggetti di maggior spessore e liberare del tutto il tavolino; il vantaggio del braccio immobile è di non caricare sul movimento di focalizzazione il peso della microcamera, dei tubi intermedi, ecc. ma la corsa del movimento (del tavolino) sarà minore, perché limitata verso il basso dall'ingombro del gruppo condensatore che va a contatto col piede, e verso l'alto dall'obbiettivo (fisso).

La micrometrica è dunque molto demoltiplicata e non possiamo in questa sede illustrare tutti i meccanismi escogitati finora dai vari costruttori: viti, camme, leve, ingranaggi, sistemi a sfere in frizione, ecc. Possiamo però ricordare che la demoltiplica provoca un rallentamento del movimento, ma anche un aumento della forza applicata, come avviene in una "leva vantaggiosa". Come si è detto nel § 26.5.5, quando il movimento fine raggiunge il **fine-corsa** oppure l'obbiettivo tocca il vetrino, la forza esercitata sull'ostacolo può essere molto forte senza che l'utente avverta un sensibile aumento della resistenza offerta dalla manopola. Tale forza può provocare danni alla struttura meccanica o la rottura del vetrino, magari con distacco della lente frontale dell'obbiettivo. Si è visto inoltre, sempre nel § 26.5.5, come i fine corsa possano essere disposti in modo da evitare il contatto fra obbiettivo e vetrino oppure, se ciò è impossibile a causa della variabilità nello spessore dei vetrini, come il problema venga risolto con gli obbiettivi molleggiati (vedi i §§ 19.1, 19.1.3 e 26.5.5). In particolare, il fine-corsa inferiore (minima distanza oggetto-obbiettivo) deve essere tale da consentire la focalizzazione dei vetrini più sottili (0,8 mm) senza però andare oltre, al fine di ridurre i contatti fra obbiettivo e vetrino; d'altra parte, il fine-corsa deve lasciare un certo margine per tener conto dello spessore variabile dei vetrini, col risultato che gli obbiettivi più forti possono sempre toccare un vetrino di maggior spessore: ecco perché gli obbiettivi forti di qualità sono sempre molleggiati. Ma si è anche discusso del modo di evitare i danni possibili quando il movimento raggiunge i fine-corsa. È sempre utile comunque che il fine-corsa inferiore sia regolabile a seconda dello spessore degli oggetti utilizzati volta per volta.

I fine-corsa della focalizzazione possono essere comuni al movimento lento ed a quello rapido, almeno quando la micrometrica agisce come demoltiplica della macrometrica; può avvenire in certi stativi che, quando è raggiunto il fine corsa della micrometrica, la spinta costringa la macrometrica a ruotare in senso inverso scaricando la forza ed evitando danni.

Quando i due movimenti sono indipendenti, anche i fine-corsa dovranno esserlo.

La "corsa", cioè lo spostamento massimo effettuato dalla micrometrica, può essere solo di 1 - 2 mm, e ciò avviene soprattutto quando questo movimento è indipendente. Quando la micrometrica agisce invece come demoltiplica della macrometrica, la corsa dei due movimenti può essere la stessa.

La corsa della macrometrica in genere può bastare di pochi mm, ma in certi casi (oggetti spessi, manipolazioni sul vetrino, ecc.) è bene sia la più ampia possibile.

Il movimento macrometrico è di solito ottenuto con un meccanismo a pignone e cremagliera, con denti inclinati per le ragioni esposte nel § 21.4. Se esso è di buona fattura, deve consentire la focalizzazione di obbiettivi fino al 40:1 senza ricorso alla micrometrica.

Le manopole "macro" e "micro" possono essere indipendenti, come in fig. 96 (Ma ed Mi), oppure coassiali, come in fig. 102 (4 e 5) 106, 107, 108[189]. Invece in fig. 97 vi è un'unica manopola (M) che svolge una duplice funzione: per circa un giro, essa si comporta come una micrometrica ma, alla fine di questa limitata rotazione, si ingrana un secondo movimento che agisce da macrometrica.

La manopola macrometrica in genere non porta graduazioni, ma la micrometrica, almeno da un lato, è generalmente graduata, corrispondendo ogni tacca ad uno spostamento da 1 a 10 μ. Lo scopo di questa graduazione è spiegato nel § 12.3.

Presso una delle manopole macrometriche, vi è spesso un anello o una leva che serve a regolare la durezza di quel movimento, cioè la "frizione" (vedi il § 26.5.4). In altri casi, la frizione si regola ruotando in senso opposto le due manopole. La frizione deve essere tale che la pressione del dito sulla parte mobile (tavolino, tubo o altro) non provochi perdita PERMANENTE di fuoco.

Qualcosa va detto circa il senso dei movimenti: è spontaneo attendersi che, ruotando una manopola con la parte alta diretta verso il tavolino, si abbia un abbassamento dell'obbiettivo (o un innalzamento del tavolino); possiamo chiamare questo senso di movimento "diretto" o "fisiologico"; un movimento "inverso" può creare sconcerto, ma càpita spesso. Davanti ad uno strumento sconosciuto, è bene fare una verifica per evitare di imporre all'obbiettivo un movimento contrario al previsto e farlo schiacciare sul vetrino. Per lo meno si deve pretendere che i due movimenti abbiano lo stesso senso.

Si è detto prima che la graduazione della micrometrica può presentare delle tacche corrispondenti ad un movimento di uno o più micron. Ma la "risoluzione" del movimento deve essere inferiore alla minima profondità di campo (circa 0,6 μ, vedi il § 14), cioè circa 0,1 μ. In questo senso, per risoluzione di 0,1 μ intendiamo che deve essere possibile variare di 0,1 μ la distanza oggetto-obbiettivo con una rotazione praticabile della micrometrica, dell'ordine di 1° o poco meno.

Per quanto riguarda l'**incoerenza**, vale quanto si è detto nel § 26.5.3.

Per quanto riguarda l'**isteresi**, i movimenti di focalizzazione sono sempre verticali e pertanto sono avvantaggiati; infatti, il peso della parte mobile (tavolino o tubo o revolver) grava direttamente sul meccanismo, a volte aiutato da una molla appositamente disposta, e pertanto può assicurare una completa ripresa dei giochi.

Una certa attenzione va posta anche al parallelismo fra la direzione del movimento e l'asse ottico dell'obbiettivo: la tolleranza su questo parallelismo è di circa 5' ; è intuitivo che, se questo parallelismo è carente, un movimento assiale dell'obbiettivo rispetto all'oggetto provoca anche un movimento trasversale: durante la focalizzazione si vede l'immagine che si sposta lateralmente. Se si dovesse riscontrare questo difetto in un microscopio, occorre però ricordare che la causa può essere un'altra, e cioè un'errata centratura del fascio illuminante (condensatore, microlampada, ecc.).

---

[189] I movimenti coassiali furono introdotti da C. Zeiss nel 1950.

Può capitare, anche all'esperto, di non riuscire a mettere a fuoco con un obbiettivo forte; ciò può avvenire anche con un preparato che era stato osservato con successo con un obbiettivo debole. Queste sono le cause più comuni:

◊◊ sulla frontale di un obbiettivo a secco si è depositata una goccia d'olio da immersione che fa da lente convessa; oppure, vi può essere rimasto attaccato un frammento solido che impedisce l'avvicinamento fra obbiettivo e vetrino (frammenti di vetrini, balsamo del Canadà, ecc.);

◊◊ la lamella è troppo spessa oppure è rimasta troppa resina fra oggetto e lamella: occorre riconfezionare il vetrino;

◊◊ il vetrino è rovesciato; nei microscopi rovesciati la lamella deve stare in basso. Per accertarsi da che parte sta la lamella, se ne cerchi l'orlo con la punta di un ago (non col dito, che ungerebbe). Se si tratta di uno striscio senza lamella, il lato che porta l'oggetto è quello che appare meno lucido.

◊◊ Il tubo è stato allungato e questo abbassa la distanza di lavoro dell'obbiettivo.

Prima di chiudere questo capitoletto sui meccanismi di focalizzazione, è bene ricordare certe moderne varianti (Leica, ad es.) basate su organi elettronici ed elettro-meccanici: il tavolino è mosso da un motorino elettrico, spesso del tipo "passo-passo" e questo è pilotato da un circuito elettronico; la manopola di messa a fuoco è unica e non agisce su organi meccanici, ma su un circuito; con opportuni comandi è possibile variare entro ampi limiti i fine-corsa, la velocità del movimento (ecco perché un'unica manopola serve sia da micro- che da macro-metrica), ecc. Può essere presente un display che fornisce la posizione del tavolino con risoluzione fino ad 1 μ. Con queste varianti, si può avere una misura digitale degli spostamenti, inviare questi dati ad un calcolatore, ecc. ma, naturalmente, aumenta la complessità del dispositivo, la frequenza dei guasti, la difficoltà di reperire certi pezzi di ricambio elettronici o elettromeccanici speciali, ecc. Questa invadenza dell'elettronica in un campo tradizionalmente affidato alla meccanica porta una maggiore complessità delle manovre, minore affidabilità degli strumenti specie a lungo termine, maggiori difficoltà nella manutenzione, ecc.

27.2.3 - Il revolver

Si tratta di un organo assente solo in strumenti assai semplici o in casi particolari, come nel caso di obbiettivi episcopici a campo scuro che possono avere grandi dimensioni o di obbiettivi per radiazione polarizzata, con attacco a slitta.

Come si è detto nel § 19.1.1, il revolver è un dispositivo per il cambio rapido degli obbiettivi. Ha la forma di una calotta sferica con un numero variabile di fori filettati (da due a sette): ogni foro alloggia un obbiettivo.

La funzione del revolver potrebbe essere svolta anche da un organo piano discoidale; ma in tal caso gli obbiettivi non in uso sfiorerebbero il tavolino rendendo difficile l'accesso al vetrino e facilitando gli urti fra gli obbiettivi ed il guida-oggetti o la pinza. La forma convessa comporta un asse di rotazione centrale inclinato rispetto l'asse ottico, per cui gli obbiettivi non in uso si sollevano rispetto al tavolino. Questa disposizione è assai antica e, fra tutte le parti del microscopio, è quella che, nel corso del tempo, è meno mutata. Una delle poche varianti consiste nel comando a motore, tramite pulsanti, invece che a mano.

Il diametro del revolver è legato al numero ed al diametro degli obbiettivi che deve accogliere, e naturalmente al diametro della vite di fissaggio degli obbiettivi medesimi (vedi il § 19.1.1). Inoltre, quando la centratura degli obbiettivi singoli è importante (microscopi polarizzatori, ecc.), oltre agli obbiettivi intrinsecamente centrabili (§ 19.1.4.1), si usano dei

revolver a fori centrabili, in cui i vari fori non sono ricavati direttamente dalla calotta sferica, ma in anelli che a loro volta sono centrabili rispetto alla calotta. Per ogni anello, cioè per ogni obbiettivo, vi sono due viti di centratura, dirette verso il centro dell'anello, che affiorano sul bordo della calotta ed agiscono contro una molla interna; esse si azionano di solito con apposite chiavette a foro quadrato. Il diametro degli anelli ed il meccanismo della loro centratura influiscono a loro volta sul diametro del revolver.

Altre modificazioni alla struttura di base del revolver vengono da certe tecniche di contrasto, come il DIC (contrasto interferenziale differenziale), per il quale alcuni costruttori prevedono, sopra ogni foro per gli obbiettivi, l'alloggiamento per piccole slitte contenenti prismi birifrangenti (§ 30.5). In altri casi, specie per l'osservazione di circuiti elettronici integrati, si desidera evitare che la polvere inquini l'oggetto; pertanto occorre ridurre al massimo le manipolazioni dell'operatore sopra il tavolino, in particolare l'uso delle mani per ruotare il revolver. Si sono introdotti così i revolver motorizzati citati sopra, coperti spesso da una calotta anti-polvere.

Come si è già detto, nei normali stativi a colonna, l'operatore può stare dalla parte della colonna o dalla parte opposta; naturalmente, a condizione che il tubo porta-oculari possa venir orientato da entrambi i lati. In uno stativo come quello di fig. 97, se l'operatore si pone a destra (il tubo T andrà voltato dalla stessa parte), il revolver non ostacola la visione del tavolino. Ma normalmente l'osservatore sta dalla parte opposta alla colonna; il tubo viene disposto dalla stessa parte (oppure non può essere disposto altrimenti, come risulta in fig. 107), ed allora la miglior visibilità del tavolino si ha col revolver dalla parte della colonna (fig. 106 e 107). Questa dovrebbe essere la soluzione universale. Ma c'è un inconveniente: dentro, sotto o sopra il braccio vanno posti certi tubi intermedi, come gli illuminatori per l'episcopia, l'epi-fluorescenza, ecc. Se il revolver è voltato verso la colonna, il tubo intermedio deve stare sopra l'orlo più alto del revolver, cioè più in alto di quanto avverrebbe col revolver voltato in opposizione alla colonna. Ciò aumenta la distanza fra obbiettivo ed elementi sovrastanti, e crea vari problemi ottici. In questi casi, è dunque preferibile un revolver dell'ultimo tipo. Una alternativa è disporre sopra il revolver un gioco di prismi o specchi che conferisca al cammino ottico un percorso a gradino, capace di superare l'orlo superiore del revolver (Zeiss).

Sulla costruzione meccanica del revolver ci sarebbe molto da dire: si tratta dell'organo che maggiormente determina la posizione dell'obbiettivo, la sua centratura, il suo allineamento, la sua focalizzazione. In sostanza, il revolver è costituito da una parte discoidale o a calotta, fissata al tubo o al braccio, e da una calotta girevole imperniata sulla prima, con i fori filettati per gli obbiettivi. L'accoppiamento fra le due parti può essere affidato a superfici di scorrimento (un perno al centro, l'orlo delle due parti alla periferia), ma in tal caso saranno maggiori i giochi e gli attriti; altrimenti si usano piste di rotolamento a sfere, sia sul perno che sull'orlo, riducendo gli attriti ed i giochi.

Come tutti gli organi in movimento, il revolver presenta i problemi già discussi dei giochi, della frizione, della rigidità. Il problema "velocità" in genere non si pone poiché non vi è demoltiplica. Il problema dell'isteresi si presenta con questi caratteri: quando si porta in posizione di lavoro un dato obbiettivo provenendo da destra o da sinistra, l'obbiettivo dovrebbe assumere la stessa posizione; con gli obbiettivi forti, questa ovvia condizione non è mai perfettamente soddisfatta e si vedrà un certo punto dell'oggetto che cambia posizione a seconda del senso dell'ultima rotazione del revolver.

Molto importante è invece l'orientamento dell'asse di rotazione e dell'asse dei fori (e quindi l'orientamento degli obbiettivi) rispetto all'asse ottico generale del microscopio. Se i due assi, dell'obbiettivo in posizione di lavoro e del microscopio, non coincidono e/o non sono paralleli, si può parlare di **decentramento** o, a seconda dei casi, di **disallineamento**

dell'obbiettivo. In altre parole, l'asse ottico dell'obbiettivo non traversa il diaframma dell'oculare nel suo centro, ma fuori centro; è come se, in un microscopio ideale, l'oculare fosse stato traslato perpendicolarmente all'asse dell'obbiettivo. Ne risulta che il campo dell'oculare è spostato lateralmente rispetto al centro del campo dell'obbiettivo.

Una prima conseguenza di ciò è che, al centro del campo visuale, possono apparire i residui di aberrazioni extra-assiali dell'obbiettivo; ed un modo di rivelare i disassamenti in questione è proprio di cercare al centro del campo una traccia di cromatica laterale: si osservi un oggetto ben contrastato come un reticolo o un micrometro oggetto o una sospensione di limatura metallica. Il metodo è sensibile usando obbiettivi o combinazioni poco corretti da cromatica laterale (per es. un obbiettivo acromatico debole con un oculare compensatore).

Una seconda conseguenza di un disassamento del revolver è che, con un obbiettivo non planare, il punto più basso della superficie di miglior fuoco non è in centro al campo ma disassato: la zona a fuoco del campo non è centrata.

Un'altra conseguenza, più evidente, dell'inclinazione errata del revolver è che la punta dell'obbiettivo (nei cui pressi si trovano le lenti negli obbiettivi forti) è spostata rispetto all'asse, supponendo che la parte superiore (ed il foro filettato nel revolver) sia in asse. È come se l'obbiettivo fosse allineato e l'oggetto fosse spostato. Ne consegue che, per tutti gli obbiettivi, l'immagine intermedia viene spostata lateralmente nello stesso senso, ma con una differenza: lo spostamento dell'immagine è proporzionale all'ingrandimento dell'obbiettivo. In pratica, passando dall'obbiettivo più debole a quelli sempre più forti, si vede il centro dell'immagine che si sposta sempre più verso la periferia. Per rivelare un errore di inclinazione del revolver, il modo più semplice è proprio questo: identificare una perdita di parcentratura GRADUALE passando dagli obbiettivi deboli ai forti, sempre nello stesso senso ed in misura crescente col crescere dell'ingrandimento.

Con un auto-collimatore, poggiato sulla superficie di riferimento del tubo porta-oculari, e con uno specchio, poggiato a turno sull'orlo dei vari fori del revolver, è possibile eseguire una misura precisa. L'errore accettabile nell'inclinazione del revolver, basato sul presupposto che il punto centrale dell'immagine data dall'obbiettivo più debole non deve uscire dal campo visuale con l'obbiettivo più forte, è di 5' - 10'.

È importante anche il meccanismo di scatto che determina le posizioni di servizio del revolver, cioè le posizioni di lavoro degli obbiettivi. Un errore di queste posizioni porta subito ad una perdita di parcentratura (vedi il § 19.1.4); un gioco porta invece ad instabilità dell'immagine. Il meccanismo è dato in genere da una punta o una sferetta, molleggiata in senso radiale, che striscia presso l'orlo, interno od esterno, del revolver e penetra in apposite tacche. Dalla posizione di queste tacche dipende la precisione delle posizioni di arresto del revolver. A volte, vi è un'unica tacca su una molla fissa a forma di lamina, e tante sferette d'acciaio incastonate sull'orlo del revolver.

27.3 - PROBLEMI MECCANICI

Di problemi meccanici riferiti al tavolino si è già parlato nel § 26.5 e molti discorsi valgono anche per lo stativo in generale, per cui non ci ripeteremo. Per es., la stabilità del fuoco è legata alla rigidità non del solo tavolino, ma di tutto lo stativo.

Si è anche detto che nessuno strumento è così rigido che il fuoco e la posizione dell'immagine non vengano alterati dalla normale pressione della mano sul braccio dello stativo, sul revolver o sul tavolino, almeno ai maggiori ingrandimenti. L'importante è che

quella pressione, esercitata su qualunque parte del microscopio, tranne il caso di una rotazione delle manopole, non provochi mai alterazioni STABILI del fuoco e della posizione dell'immagine. Tutto deve essere reversibile. In caso contrario, si deve pensare a frizioni allentate, giochi (magari dovuti ad usura), viti non ben strette, ecc.

Ma occorre considerare anche il comportamento dello stativo in regime dinamico, cioè quali sono gli effetti delle **vibrazioni**, oltre agli effetti delle pressioni di lunga durata.

In particolare, interessano la componente assiale della vibrazione, quella che implica una variazione di distanza fra oggetto ed obbiettivo, quindi una variazione del fuoco, e la componente trasversale, che implica un'oscillazione laterale dell'immagine. Ideale sarebbe che, nelle normali condizioni d'uso, tutti quegli effetti delle vibrazioni rimanessero contenuti entro i limiti della penetrazione e della risoluzione teorica del sistema, in modo da risultare inefficaci. Ma nei casi più critici (misure, fotografie a lungo tempo di posa, ecc.) occorrerà servirsi di opportuni sistemi di **smorzamento** interposti fra base del microscopio e tavolo: sono le cosiddette "**basi antivibranti**" di struttura meccanica assai varia.

Le cause esterne di vibrazioni sono molte: traffico stradale, chiusura di porte, passi sul pavimento, manipolazione di oggetti sul tavolo, ecc. Lo spettro di frequenza delle oscillazioni così generate è normalmente al di sopra di 30 Hz, per cui lo stativo dovrebbe essere studiato per presentare una frequenza di risonanza propria inferiore a 30 Hz. In questa direzione, il costruttore può operare sulle masse in gioco, sulla loro forma e quindi sulla loro elasticità ("nervature" o costole interne, ecc.), sui bracci di leva, sulla scelta dei materiali, ecc.

Vi sono anche cause di vibrazioni interne (azionamento di otturatori fotografici, di tavolini o revolver motorizzati, ecc.), ma tali cause operano in genere nei tempi morti dell'osservazione. In ogni caso si deve pretendere che nessuna oscillazione provochi variazioni PERMANENTI del fuoco e della posizione dell'immagine.

Da parte dell'utente, qualche accorgimento è possibile: disporre il microscopio non al centro del tavolo ma presso le zampe, dove la flessibilità è minore; usare un tavolo più pesante possibile o almeno poggiare su di esso una lastra di materiale pesante: può bastare del "truciolare" da 30 mm; allontanare le cause di vibrazioni, in particolare tutti gli apparecchi con masse in movimento (centrifughe, agitatori, ecc.); disporre sotto al microscopio un foglio di feltro di qualche mm di spessore, non di gomma che, essendo elastica, trasmette bene le vibrazioni in un'ampia gamma di frequenze. Può andar bene un ritaglio di "moquette".

27.4 - Le CENTRATURE

Si è detto più volte che il microscopio è un sistema complesso di lenti sferiche centrate su un asse ottico comune, e ciò vale anche se l'asse ottico è spezzato più volte da superfici speculari piane.

Tutte le lenti ed i loro supporti vanno dunque centrati su quell'asse, con tolleranze che vanno da qualche decimo di mm (oculari) a qualche micron (obbiettivi forti). Si è anche detto che la **centratura** (giacitura di tutti i centri delle lenti sullo stesso asse) va accompagnata dall'**allineamento** (parallelismo degli assi ottici di tutti gli elementi).

I problemi costruttivi legati a queste condizioni sono enormi e non è questa la sede per trattarli. Le poche operazioni di centratura lasciate all'utente (della microlampada, del condensatore, ecc.) sono già state descritte. Altre operazioni sono legate a tecniche speciali (contrasto di fase, contrasto interferenziale, radiazione polarizzata, ecc.), trattate nel § 30.

Per contro, occorre da parte dell'operatore molta cautela per evitare azioni che fanno perdere la centratura. Tali operazioni possono consistere in urti involontari, vibrazioni durante il trasporto, smontaggi incauti, ecc.

A volte, vi sono parti destinate ad essere smontate e sostituite dall'operatore (tubi di ogni genere, revolver, condensatori, ecc.). Il fissaggio di tali parti è spesso concepito in modo da assicurare la centratura del pezzo dopo il fissaggio: tipico esempio la "**coda di rondine circolare**" che appoggia su due punte fisse, capaci di dare il posizionamento corretto per accoppiamento "cinematico". Ma a volte è possibile fissare la parte in posizione non corretta senza accorgersene: le superfici di riferimento delle due parti da serrare possono non combaciare nel momento in cui la terza punta mobile (quella che assicura il bloccaggio) entra in presa.

Il caso più pericoloso è però quello delle parti di cui non è previsto lo smontaggio ad opera dell'utente.

Il fissaggio di una parte su un'altra può essere affidato a vari meccanismi: per le parti anulari o cilindriche vi può essere un passo di vite sulla superficie esterna o interna; ciò può portare a piccole incertezze al momento del serraggio, ma senza troppi problemi nel caso degli oculari, dei condensatori, delle microlampade, delle lenti di tubo, ecc. In tali casi, lo smontaggio da parte dell'utente non crea difficoltà.

Il fissaggio in altri casi è affidato a viti separate, almeno due. Ma il foro delle viti deve essere sempre un po' più largo delle viti stesse, e vi è sempre del gioco. Lo smontaggio di tali parti è quindi sempre causa di perdita di centratura ed è da evitare. Nel caso più fortunato, le parti serrate da viti sono portate in posizione corretta da "**spine**" o "**coppiglie**": si tratta di barrette metalliche cilindriche o coniche che si infilano in un foro di pari diametro che attraversa entrambe le parti da fissare. Tali fori vengono praticati con utensili di precisione (alesatori) dopo che le due parti sono state centrate e serrate dalle viti. In tal modo, per lo smontaggio, si tolgono prima le spine e poi le viti di serraggio. Per il rimontaggio, si rimettono le parti in posizione, si montano le viti senza stringerle, in modo da consentire qualche piccolo movimento delle parti, si infilano le spine nella loro sede (questo risulta possibile solo quando le due parti vengono spinte a mano nella posizione esatta) e solo allora si stringono le viti. La presenza delle spine consente sempre di ritrovare la centratura delle parti dopo lo smontaggio, ma la loro installazione richiede tempo e molti costruttori la omettono.

Quindi, anche se la tentazione di smontare certe parti, specie a fini di pulizia, è travolgente, conviene essere molto prudenti o rimettere l'operazione a personale esperto.

Del resto, la centratura completa di un microscopio non può generalmente essere realizzata senza attrezzi speciali, fatti su misura di ogni particolare modello, realizzati dal costruttore per proprio uso e non posti in commercio. Essi sono indispensabili per disporre dei necessari riferimenti ottico-meccanici su cui centrare le varie parti. Il tecnico volenteroso può a volte realizzarli con un poco di abilità ed una chiara visione dello schema generale del sistema. Le pagine che precedono potrebbero essergli utili in questo senso.

27.5 - La SCELTA dello STATIVO

Anche qui, le considerazioni da fare sarebbero molte. Ma il criterio di fondo è quello di cercare lo strumento che permette non solo di risolvere i problemi contingenti, ma di applicare gli accessori per risolvere i problemi futuri eventuali.

Occorre che l'acquirente progetti e preveda le sue esigenze presenti e future, e poi cerchi lo strumento capace di soddisfarle col miglior rapporto prestazioni-prezzo, diffidando dei costruttori sui quali non ha informazioni sicure, e diffidando pure delle case più note, per le quali a volte si paga più il nome che la qualità.

Ora, in merito alla capacità di uno stativo di prestarsi alle varie applicazioni, le strade seguite dai costruttori sono essenzialmente due, già citate nel § 27.1.4:

◊◊ Progettare uno stativo modulare complicato su cui è possibile applicare gran copia di accessori adatti a realizzare le più svariate tecniche speciali. Questa soluzione non aumenta solo la complessità ed il costo dello strumento, ma lo rende più critico riguardo a centrature, possibilità di smontaggio, ecc. Un simile stativo è quello di fig. 107.

◊◊ Progettare diversi stativi più semplici, più economici e più stabili in cui sono definitivamente incorporati ("integrati") certi accessori speciali, specificamente adattati a compiti particolari. Ciò rende più economico il singolo strumento e più semplice il passaggio da una tecnica all'altra, ma obbliga a cambiare strumento per risolvere problemi particolari, come l'episcopia, la radiazione polarizzata, la fluorescenza ecc. Uno strumento per uso specifico può essere quello di fig. 108.

La prima soluzione, quella dello stativo modulare "tuttofare", è la più adatta nei casi di programmi di lavoro non ancora ben definiti. Ma va detto che anche stativi di modesto livello come quelli di fig. 97 e 106, accettano in genere gli accessori per alcune tecniche speciali: contrasto di fase, campo scuro, fluorescenza, fotografia, ecc.

La soluzione degli stativi integrati "specializzati" del secondo tipo sarà da preferire invece quando il lavoro da svolgere è definito e rimane tale per lungo tempo.

27.6 - CONTROLLI e MANUTENZIONE sullo STATIVO

Abbiamo già esaminato vari aspetti delle parti meccaniche del microscopio, i loro punti deboli, le soluzioni adottate, ed il lettore dovrebbe già sapere quali sono i punti che meritano maggior attenzione (giochi, isteresi, coerenza, repetibilità, velocità dei movimenti, frizioni, sensibilità e sicurezza dei fine corsa, rigidità dei supporti, ecc.).

Evitando le ripetizioni, possiamo qui aggiungere qualche suggerimento.

I segni dell'usura si rivelano in genere con giochi ed isteresi e con la scarsa frizione dei movimenti, ma gli stessi sintomi derivano da un allentamento di certe viti. Viceversa, uno strumento poco o punto usato per lunghi periodi mostrerà facilmente i movimenti induriti a causa dell'aumento di vischiosità dei grassi lubrificanti. Sono poche le case (Wild, ad es.) che usano (o usavano) lubrificanti altamente stabili nel tempo. L'indurimento può arrivare al

blocco totale ed allora un utente poco avvertito avrà la tendenza a forzare il movimento per sbloccarlo ed a questo punto qualcosa si deve rompere o deformare. A volte, quando la guida, la cremagliera, ecc. sono facilmente accessibili, come può avvenire in molti condensatori e tavolini, si può tentare un intervento di ripiego depositando qualche goccia di olio di vaselina o petrolio "bianco" sulle guide o i perni, ed attendendo qualche giorno che il liquido penetri nel meccanismo[190]. Ma il rimedio sovrano consiste nello smontare tutto, lavare i pezzi in benzina o petrolio e ri-lubrificare le superfici a scorrimento con un buon grasso da cuscinetti, mai con olio. Può accadere però che certe parti (code di rondine lineari, ad es.) si possano smontare solo scoprendo certe viti, le quali appaiono scoperte solo in una certa posizione della guida. Per lo smontaggio può occorrere quindi un movimento della guida bloccata, che è proprio quello che può provocare danni. Non rimane che tenere a bagno nel petrolio le parti bloccate, anche per settimane, e poi tentare il distacco con qualche colpetto molto secco.

Per la pulizia delle lenti, si sono già date istruzioni nel § 19.5.1. Per lo stativo, si usi un panno o carta morbida, eventualmente umettati con petrolio o benzina; l'alcool è pericoloso per certe vernici e mastici.

Il nemico principale del microscopio è l'aria, per le ragioni dette nel § 19.5.1: essa porta in sospensione polvere e gocce minutissime di catrame. Pertanto lo stativo e gli accessori vanno sempre coperti appena se ne interrompe l'uso: va bene un sacchetto di politene, di quelli usati per abiti o per alimenti, purché ben pulito e non forato. Un cassetto od una scatola, da soli, non bastano. Sempre per ridurre il deposito di aerosol sulle lenti, è altamente raccomandato di non fumare nello stesso locale dove si trovano strumenti ottici. Per evitare gli effetti di corrosione, ogni aggressivo chimico, specialmente acido, va tenuto lontano dal microscopio, anche se contenuto in recipiente chiuso.

Le lenti esposte all'esterno, come gli oculari, andrebbero coperte con capsule in plastica molle. Eventuali fori nei tubi o nella base, quelli usati per l'introduzione delle slitte porta-filtri od altri accessori, vanno sempre chiusi con gli appositi coperchi o con nastro adesivo. I tubi in particolare e le "uscite" per microcamera, telecamera, ecc. devono sempre essere tenuti ben chiusi. I fori del revolver non occupati da obbiettivi vanno chiusi con tappi in gomma. Se un oculare viene smontato dalla sua sede va subito sostituito con un tappo. Se si smonta un obbiettivo, riporlo subito nell'apposito astuccio, il quale va sempre tenuto chiuso, anche se vuoto. L'omissione di queste semplici precauzioni può significare, nel giro di pochi anni, l'appannamento completo delle lenti ed un lungo lavoro di revisione, che nessuno ha voglia di fare.

L'**umidità** può depositarsi sullo strumento quando lo si porta da un ambiente freddo ad uno caldo (si parla di "condensa"). In questo caso esso va tenuto coperto dal sacco di plastica per qualche ora finché non si porta in equilibrio termico con l'ambiente. Nei climi umidi, l'umidità è pericolosa, non solo per l'ossidazione delle parti metalliche, ma per la proliferazione di funghi inferiori ("muffe") alla superficie degli elementi in vetro che ne vengono stabilmente intaccati; alcuni usano per questo effetto il termine "fungus". Per evitare tali danni, occorre conservare il microscopio in un armadietto chiuso in cui si possono porre sostanze fungicide; ma può bastare introdurvi una modesta sorgente di calore (una lampadina da 40 W, ad es.) capace di innalzare la temperatura interna di qualche grado sopra quella esterna; si ha così una drastica riduzione dell'umidità relativa all'interno dell'armadietto.

Specialmente nel caso di magazzinaggio prolungato, l'uso di **fungicidi** all'interno dell'involucro è comunque utile; come fungicida solido si può consigliare la paraformaldeide in pillole o in polvere; come liquido si usa il p-cloro-m-cresolo sciolto in alcool col quale si imbevono delle striscie di cartone od altro materiale poroso. Quando le striscie perdono ogni odore vanno rinnovate. Se il fungicida è posto all'esterno del sacchetto di copertura, il

[190] Il processo viene facilitato ponendo le parti in luogo tiepido (presso un termosifone, ad es.).

microscopio va coperto con carta, tela o altro materiale permeabile ai gas; se il fungicida è posto all'interno del sacchetto, questo può essere costituito da materiale plastico impermeabile.

27.7 - GLI ACCESSORI SPECIALI

È bene ricordare quanto detto all'inizio del § 27.1 circa la varietà delle soluzioni tecniche adottate nel corso della storia della microscopia. Come per gli stativi, anche per gli accessori dedicati alla soluzione di problemi particolari, è stupefacente la fantasia dei progettisti e l'abilità dei costruttori. Molti di questi accessori sono legati alle tecniche speciali, che rientrano nel campo della **microscopia speciale**, e vengono accennati nel § 30. Ma anche limitandoci alla **microscopia generale**, la varietà degli accessori è quasi sconfinata e lo spazio ci costringe ad elencare solamente i principali, riunendoli in gruppi in base alla regione del microscopio in cui vengono inseriti: dal lato dell'oculare, del tubo, dell'obbiettivo, del tavolino, del condensatore, della base.

27.7.1 - Lato oculare

Molti accessori vanno posti sopra o in luogo dell'oculare. In questa categoria si possono includere gli oculari speciali per la fotografia descritti nei §§ 20.6 e 20.7; in 20.8 si sono elencati alcuni tipi di oculari e strumenti di misura.

Certe misure (fotometriche, spettro-fotometriche, fluorimetriche) richiedono però veri e propri strumenti da applicare sul o in luogo del tubo porta-oculari. Lo stesso si può dire dei sistemi fotografici e televisivi; anche gli **analizzatori d'immagine** partono da una ripresa televisiva per arrivare ad una conversione digitale dell'immagine ed alla sua elaborazione da parte di un calcolatore.

L'immagine finale del microscopio, oltre che per la visione e la ripresa televisiva, può servire alla **proiezione**. Anche qui, esistono accessori da porre sopra o al posto dell'oculare. Per la proiezione murale, è spesso sufficiente uno specchietto disposto sopra un oculare normale. La formula (59) nel § 18.12 permette di calcolare l'ingrandimento lineare dell'oculare (M_{ok}) in funzione del tiraggio **x'** (distanza fra oculare e schermo). Moltiplicando M_{ok} per l'indice di campo dell'oculare (s') si ottiene il diametro dell'immagine proiettata. In genere occorrono oculari speciali a lunga focale (vedi il § 20.7). Per la proiezione a breve distanza, per pochi osservatori, serve un'immagine più piccola (da 20 a 40 cm, per es.). In tal caso, oltre ad uno specchietto o un prisma a riflessione totale, si può usare un oculare normale; come schermo, può servire il piano del tavolo.

Ma si può anche proiettare l'immagine finale da dietro, sopra uno schermo traslucido (vetro smerigliato o simili). In genere, si ha uno specifico accessorio, un **visore**, che si pone in luogo del tubo porta-oculari ed è detto anche "**tubo da dimostrazione**". Si tratta di un involucro rigonfio, a forma di mezzo uovo o di tronco di piramide, che possiede inferiormente una coda di rondine od altro attacco identico a quello degli altri tubi. Sopra alla coda di rondine vi è un sistema proiettivo, simile ad un oculare fotografico, con un ingrandimento in genere di 10:1. Subito sopra, un piccolo specchio rinvia il fascio verso l'estremità appuntita del visore, e qui un secondo specchio di qualche cm di diametro rinvia il fascio verso la parte

dilatata, cioè la base del tronco di piramide o del mezzo uovo: qui si trova un vetro smerigliato che risulta così illuminato dall'interno[191].

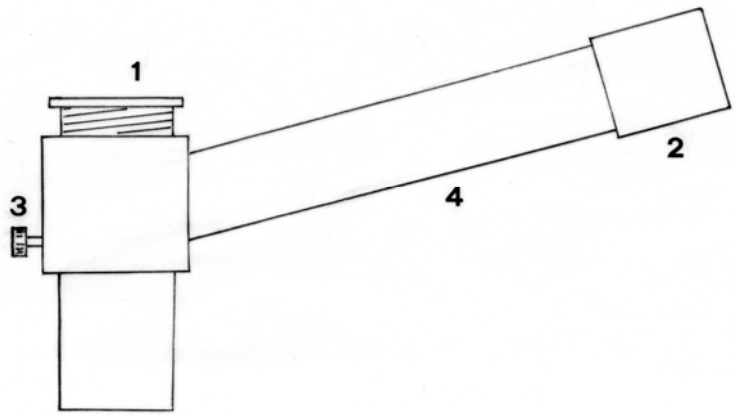


Fig. 109

Di solito, lo smerigliato è accoppiato con una lente di Fresnel[192] (lente sottile a zone concentriche prismatiche che simula una lente spessa, generalmente in materia plastica e quindi leggera ed infrangibile), la quale fa sì che la luminosità appaia uniforme sullo schermo[193]. La grana dello smerigliato però appare sovrapposta all'immagine ed è molto fastidiosa. Per ridurre questo inconveniente, i migliori visori sono muniti di un motorino, che mette in oscillazione o rotazione veloce lo smerigliato: così l'occhio non riesce più a discernere la grana.

Esistono poi "**oculari per due osservatori**" a forma di Y asimmetrica (fig. 109), che si sostituiscono all'oculare normale. La loro parte inferiore ha lo stesso diametro dell'oculare (23,2 mm di solito) e pertanto essi vanno montati in luogo dell'oculare.

Verso l'alto, vi è normalmente un tubo corto e diritto (1), che porta un sistema oculare normale, per es. 10 × ; il tubo inclinato laterale (4) porta all'estremità superiore un altro sistema oculare (2), di solito identico a quello in 1 , e con lo stesso ingrandimento. La presenza del lungo tubo 4 è dovuta alla necessità di tenere a ragionevole distanza il capo dei due osservatori che guardino simultaneamente in 1 ed in 2 , ma essa comporta la necessità di un sistema di trasporto dell'immagine intermedia che si forma poco sotto il sistema 1 . Si tratterà in genere di una lente-relé (vedi i §§ 2.6.2.3 e 25.2) che ha come effetto di rovesciare l'immagine intermedia. L'immagine visuale in 2 sarà quindi diritta rispetto all'oggetto ma rovesciata rispetto all'immagine in 1.

Va da sé che fra il sistema 1 ed il tubo 4 deve esistere un semiriflettente capace di sdoppiare il fascio in due.

Per consentire la correzione di differenze di metropìa fra due osservatori o difetti di ametropia sferica in essi, occorre che almeno uno degli oculari sia regolabile (vedi il § 12.1, anche per le modalità di regolazione).

Sul corpo dell'oculare doppio è generalmente previsto un pomello mobile in un piano orizzontale (3 in fig. 109) che corrisponde internamente ad una punta posta nel piano dell'immagine intermedia primaria. Tale punta viene quindi vista simultaneamente dai due

---

191 Il diametro utile di tale schermo è normalmente 15 - 20 cm. Può essere anche rettangolare (Jena).

192 Citato nel § 17.1.2.

193 Essa proietta un'immagine reale della pupilla d'uscita del proiettivo nell'occhio dell'osservatore, che dovrà perciò assumere una posizione molto precisa. Con questo ordigno, solo un osservatore alla volta può vedere l'immagine ben illuminata: quello che mette una delle sue pupille al posto giusto.

osservatori. Con essa, uno dei due, per es. un docente, può contrassegnare un punto qualunque dell'immagine, con la certezza di richiamare l'attenzione dell'altro (es. uno studente) sullo stesso punto. Tali dispositivi trovano applicazione appunto nella didattica.

Gli "**oculari da disegno**" si basano sul principio della "**camera lucida**" di Abbe (fig. 110). Un normale oculare (1 - 2 nella figura) riceve il fascio che forma l'immagine intermedia da un obbiettivo (non rappresentato), lungo il tragitto 5 ; il fascio emergente (6) può essere osservato come di regola. La "camera lucida" vera e propria consta di un semi-riflettente 3 che riflette una parte del fascio incidente 5 verso una parete opaca che l'assorbe (fascio 10). Però l'osservatore, oltre l'immagine microscopica (fascio 5), riceve per riflessione dal semiriflettente 3 il fascio proveniente dal piano del tavolo 9 , attraverso lo specchio 4 (fascio 8 - 7 - 6). In altre parole, oltre l'oggetto del microscopio, l'osservatore vede il piano del tavolo, ed eventualmente il foglio di carta e la matita ivi disposti. Uno o più filtri grigi od opportuni diaframmi aiutano ad equiparare la luminosità dei due piani che vengono visti sovrapposti. Si può così scontornare l'oggetto e disegnarlo con una specie di ricalco ottico, con la certezza di rispettarne le proporzioni.

Negli "**oculari da disegno**" i due specchi 3 e 4 sono incorporati nella stessa struttura, che presenta una finestrella laterale per il fascio 8 . In altre "**camere lucide**" lo specchio 4 è più grande e fissato all'oculare da un lungo braccio in modo che il cammino 8 può essere verticale.

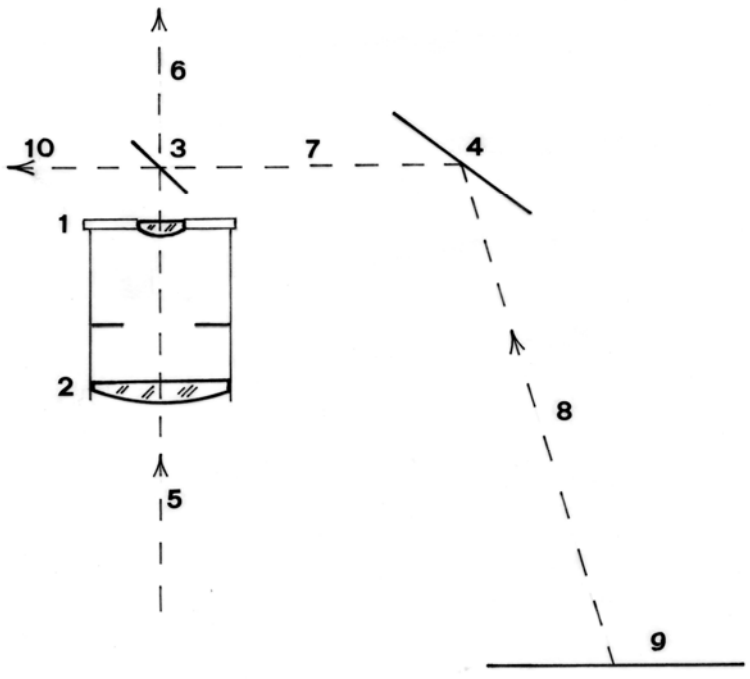


Fig. 110

Naturalmente, è utile che il piano di disegno 9 sia perpendicolare al fascio 8 per evitare un'alterazione della prospettiva. Se il tubo porta-oculari è verticale ed il cammino 7 è corto, come in fig. 110, occorre inclinare il piano 9 con un apposito supporto in legno. Se l'asse dell'oculare è inclinato rispetto alla verticale, occorre che l'angolo fra gli assi 5 ed 8 sia tale da rendere il cammino 8 perpendicolare al piano 9 , eliminando magari il supporto inclinato. Poiché l'angolo d'inclinazione dei tubi porta-oculari non è standardizzato, si deve essere molto prudenti nell'usare un oculare da disegno su uno stativo di diverso costruttore.

27.7.2 - Lato tubo

Nel § 25 sono già stati descritti vari tipi di **tubi intermedi**; qui possiamo aggiungere che alcune funzioni assolte dagli oculari speciali appena descritti (oculari per due osservatori, oculari da disegno, microfotometri, per es.) possono venire svolte da tubi intermedi.

I **tubi per due osservatori** possono avere una forma di T , con tratto orizzontale molto lungo. Il tratto verticale, molto corto, si inserisce sullo stesso attacco dove normalmente è fissato il tubo porta-oculari. Alle due estremità del tubo orizzontale si fissano due tubi porta-oculari, mono- o bi-oculari, per due osservatori. Anche qui, per compensare eventuali anisometropie fra i due osservatori, è bene che esista un meccanismo che consenta una diversa messa a fuoco nei due canali.

Altre volte, il tubo doppio è a forma di V , con i due tubi porta-oculari su assi convergenti (Jena). Esistono anche sistemi per cinque o sei osservatori, ma la suddivisione del fascio è qui ripetuta più volte ed il sistema appare "poco luminoso" (Olympus, ecc.).

Sia nei "tubi" che negli "oculari per due osservatori", vi può essere un indicatore sotto forma di punta mobile , già citato a proposito degli oculari, oppure di freccetta luminosa che appare sovrapposta all'immagine. In questo caso, un'opportuna lampadina fa da sorgente.

I **tubi da disegno** sono ancora basati sullo schema della camera lucida di fig. 110 e svolgono analoga funzione, ma il semiriflettente 3 si trova in un tubo intermedio, sopra l'obbiettivo. Lateralmente, il tubo intermedio si prolunga in un tubo orizzontale che porta lo specchio 4 . Se il tubo orizzontale è abbastanza lungo, il cammino 8 può essere verticale ed il foglio da disegno può riposare sul piano del tavolo.

Questi tubi da disegno possono essere molto raffinati, contenendo sistemi ottici per meglio focalizzare il piano del disegno e per variare la luminosità (con diaframmi o filtri grigi) ed inoltre sistemi zoom per variare l'ingrandimento dell'immagine del disegno vista negli oculari, ecc. Sopra il tubo da disegno si pone naturalmente un tubo porta-oculari.

Sul piano del disegno è anche possibile porre scale graduate, disegni, reticoli, sagome, ecc. Tali sagome si vedono sovrapposte all'oggetto e quindi si hanno le stesse applicazioni dei micrometri oculari (§§ 12.3 e 20.8), ma con un vantaggio: invece di spostare l'oggetto, per portarlo a coincidere col reticolo oculare, il che è assai critico ai forti ingrandimenti, è assai più immediato spostare a mano una graduazione sul piano del tavolo. Questo utilizzo del tubo da disegno come strumento per misure geometriche sull'oggetto è assai poco diffuso, ed è un peccato poiché, specie a fini di confronto, è possibile costruire con normali attrezzi da disegno le sagome di confronto ed i reticoli più utili caso per caso; infatti tali sagome e disegni vengono visti attraverso il tubo da disegno più o meno in scala reale e quindi anche le imperfezioni di un normale disegno a mano libera non nuocciono. Ovviamente, è bene che la sagoma sia disegnata a china bianca su cartoncino nero per non creare un fastidioso "fondo" di luce diffusa.

Una specie di tubo intermedio è il "**tubo di confronto**" (o "oculare di confronto"): si tratta di un tubo orizzontale che porta inferiormente, ad ognuna delle due estremità, un attacco; i due attacchi vanno infilati nei tubi porta-oculari di due stativi posti fianco a fianco, oppure vanno fissati sui due bracci, dopo aver tolto i due tubi porta-oculari. In posizione centrale, verso l'alto, si trova un oculare, il cui campo è diviso in due parti uguali da una linea verticale: nel semi-campo di destra si osserva la metà dell'immagine fornita dal microscopio di destra, nel semicampo di sinistra si vede metà dell'immagine dell'altro strumento. La possibilità di vedere simultaneamente, fianco a fianco, le immagini di due oggetti diversi è

preziosa per eseguire confronti, per es. in criminalistica, fra le rigature di due proiettili o fra capelli, di cui si sospetti un'origine diversa.

27.7.3 - Lato obbiettivo

Esistono accessori che si possono porre in luogo dell'obbiettivo, magari sul revolver stesso.

I **micro-durimetri** sono dispositivi simili ad un obbiettivo, con lo stesso attacco a vite o a slitta, e che, invece del sistema di lenti, portano in cima una punta di diamante a forma di piramide a base quadrata (Vickers) o rombica (Knoop) o triangolare (Berkovich). Con la messa a fuoco, o con un dispositivo interno, la punta viene fatta poggiare sulla superficie dell'oggetto (metallo, roccia, ecc.), con una forza costante o variabile. Le dimensioni dell' "**impronta**", cioè della fossetta scavata dalla punta nel campione, sono funzione della forza applicata, del tempo di applicazione, di vari parametri secondari, ma soprattutto dalla durezza del campione; ed è questa la grandezza alla cui misura è destinato ogni durimetro.

A questo punto, occorre misurare le dimensioni dell'impronta. Questo si può fare ruotando il revolver ed inserendo un opportuno obbiettivo, assieme ad un oculare micrometrico. Ma in certi casi, la piramide di diamante è fissata al centro della superficie esterna della lente frontale dell'obbiettivo: in questo modo è possibile eseguire con lo stesso congegno sia l'impronta che la misura delle sue dimensioni.

I **marcatori** sono ancora dispositivi che si montano in luogo dell'obbiettivo e servono a contrassegnare la zona osservata del vetrino.

Se, durante l'esplorazione dell'oggetto, si rileva un punto particolarmente interessante e si desidera ritrovarlo in seguito od indicarlo con certezza ad un'altra persona, vi sono vari metodi. Uno di essi è il rilevamento delle coordinate ortogonali del punto a mezzo delle scale incise sulle guide del tavolino traslatore o del guida-oggetti (vedi il § 26.2): il metodo funziona solo se si riporta il preparato sullo stesso tavolino e con lo stesso orientamento. Un altro metodo è quello dei "**cercatori inglesi**" (preparati delle dimensioni di un vetrino normale, attraversati da un reticolato di piccole celle numerate e facilmente reperibili); dopo aver identificato un punto interessante nel vetrino, lo si toglie senza toccare le manopole del traslatore, lo si sostituisce col cercatore e si rileva il numero della cella che appare nel campo visuale. Quel numero permetterà poi di ritrovare la cella e quindi il punto selezionato del vetrino anche su un altro strumento.

Più semplice è l'uso del marcatore: lo si monta sul revolver vicino all'obbiettivo in uso, si osserva il vetrino e si centra il punto interessante; senza più muovere il vetrino, si inserisce il marcatore e si contrassegna la lamella subito sopra il punto interessante; in seguito, con un obbiettivo debole, sarà facile ritrovare il contrassegno. Certi marcatori portano una punta di diamante eccentrica (ad eccentricità variabile) che può incidere un piccolo cerchio sulla lamella; altri, portano tre punte in fibra di vetro, simili a pennarelli, che disegnano tre punti a triangolo sulla lamella stessa.

Sempre come accessorio speciale da porre in luogo dell'obbiettivo, si possono considerare certi obbiettivi molto deboli, con ingrandimento di 1 o 2 $\times$, che consentono di osservare anche l'intera larghezza di un normale porta-oggetti (25 mm). Essi non si possono equiparare agli altri obbiettivi poiché, almeno in certi casi, debbono lavorare assieme a sistemi di lenti aggiuntivi che vanno inseriti sopra l'obbiettivo.

27.7.4 - Lato tavolino

Oltre ai vari tipi di tavolino descritti al § 26, vi sono anche modelli speciali, per scopi particolari.

Le "**cassette**" sono dei supporti particolari per vetrini, che non hanno la solita "pinza" a due bracci (vedi il § 26.2), ma un sistema ad incastro rapido che si muove a slitta sul traslatore vero e proprio. La particolarità della "cassetta" è di appoggiare il vetrino verso l'alto: è la superficie superiore del vetrino che trova un riferimento in apposite guide. In questo modo, le variazioni di spessore del porta-oggetti non influiscono sulla messa a fuoco e, se l'oggetto è aderente al porta-oggetti stesso, va a fuoco automaticamente. Infatti, certi stativi con guida-oggetti a cassetta sono privi di vite macrometrica (Jena, Zeiss).

I **tavolini riscaldanti** sono tavolini che si devono sostituire a quello normale, oppure che si applicano su di esso, ed hanno lo scopo di riscaldare l'oggetto al di sopra della temperatura ambiente. La temperatura massima raggiungibile può essere di 70 - 80 °C se questi accessori sono da usare con materiale biologico, oppure può arrivare a 1˙500 - 2˙000 °C per campioni metallici, ecc. Quando la temperatura è elevata, l'oggetto deve essere contenuto in una "**camera**" chiusa superiormente da una "**finestra**" in materiale termo-resistente (per es. silice) di spessore non troppo piccolo, per lo più 2 mm. Naturalmente, l'obbiettivo deve essere molto debole, oppure corretto per un "copri-oggetto" di quello spessore e di quell'indice; inoltre la sua distanza di lavoro (§ 19.1.3) deve consentire di introdurre la "finestra" citata. Lo scopo della finestra è di evitare la dissipazione di calore, pur permettendo l'osservazione.

Vi sono anche **tavolini raffreddanti** oppure con doppia funzione. Il riscaldamento si ottiene spesso con resistenze elettriche incorporate; il raffreddamento sfrutta spesso l'effetto Peltier[194]. In altri casi si utilizza la circolazione di fluidi caldi o freddi.

Il concetto di "camera" chiusa in cui confinare l'oggetto porta a speciali **camere a gas** in cui l'oggetto viene immerso in un'atmosfera di composizione voluta e col grado voluto di umidità.

Per l'osservazione di preparati petrografici in radiazione polarizzata, si usa a volte un **tavolino** "**universale"** in cui il preparato può venir ruotato attorno a tre o quattro assi diversamente inclinati; per poter essere osservato nonostante la sua inclinazione variabile, il vetrino viene racchiuso fra due semi-sfere di vetro ("**segmenti**") che vengono prodotte in piccole serie con diverso indice, da scegliere in relazione all'indice dell'oggetto; l'obbiettivo (generalmente debole − "obbiettivi per segmenti") dovrà possedere una distanza di lavoro superiore al raggio delle semi-sfere (vedi i §§ 19.3.4 e 30.7).

Per l'osservazione sistematica per campi contigui di grandi superfici del preparato esistono dei **tavolini motorizzati**, in cui i due movimenti X ed Y sono comandati da motori elettrici e **tavolini digitizzati** in cui i movimenti vengono tradotti in segnali elettrici da opportuni **codificatori**; un adeguato circuito può essere programmato in modo da imporre all'oggetto qualunque percorso (all'interno di certi limiti) con qualunque velocità o con salti progressivi con qualsiasi valore del passo. Questo accessorio è molto usato nell'esame sistematico di preparati citologici, come in citogenetica per la ricerca delle "piastre metafasiche", oppure nell'esame delle grandi piastre nella fabbricazione dei circuiti integrati. Vi sono tavolini con movimenti fino a 25 × 25 cm, di dimensioni assai maggiori di quelli normali, che richiedono uno stativo speciale, sia per le loro dimensioni che per il loro peso, con comando manuale o motorizzato.

---

[194] Jean Charles Athanase PELTIER (pron. peltié), fisico francese (1785-1815); ha scoperto l'effetto termoelettrico che porta il suo nome e che consiste nell'insorgenza di una differenza di temperatura tra le giunzioni di un circuito costituito da due metalli di natura diversa, quando tale circuito è attraversato da corrente elettrica.

27.7.5 - Lato condensatore

Oltre al condensatore normale o a grande campo, si può trovare sotto al tavolino un cambiatore di condensatori (vedi il § 21.1.5) oppure un condensatore con revolver discoidale che porta i vari prismi per il contrasto interferenziale differenziale (DIC, § 30.5), oppure i vari diaframmi anulari per il campo scuro (§ 30.2) o il contrasto di fase (vedi i §§ 21.8 e 30.4). In qualche caso, il condensatore può essere inglobato in un unico accessorio assieme al diaframma di campo ed anche alla microlampada (vedi il condensatore a due diaframmi citato nel § 21.1.6).

Per l'uso in radiazione polarizzata, il condensatore porta spesso degli organi accessori come il polarizzatore (a filtro sottile o a prismi di calcite) ed un "compensatore". Tali parti possono però essere fissate anche alla base.

A volte, indipendenti o solidali col condensatore, vi sono sistemi di porta-filtri a parecchie posizioni. Esistono anche supporti inclinabili per filtri interferenziali (§ 23.2) e supporti per filtri "graduati" di forma rettangolare allungata, la cui trasparenza (o colore) varia lungo la loro dimensione maggiore.

Vi sono anche illuminatori, da porsi sotto al condensatore, contenenti lampade-lampo ("**flash**") per la ripresa fotografica di oggetti in movimento con tempi brevi di esposizione. Questi illuminatori possono essere complessi e contenere, oltre al flash (di solito di tipo elettronico), una microlampada con ampolla ad incandescenza per eseguire con illuminazione costante le operazioni preliminari (inquadratura, messa a fuoco, misura esposimetrica, ecc.).

27.7.6 - Lato base

Gli accessori particolari collegati od incorporati nella base del microscopio saranno in genere parti del sistema illuminante: alimentatori elettrici per la microlampada o per il sistema fotografico, porta-filtri multipli, lenti a grande campo, diaframma di campo, una o più microlampade, esposimetri, ecc.

Una microcamera può essere incorporata, a volte nei tubi intermedi, a volte nella colonna. Raramente nella base (microscopi rovesciati e metallografici).

Incorporata o collegata alla base vi può essere una "base anti-vibrante", cioè un dispositivo contenente elementi di smorzamento che riducono la trasmissione delle vibrazioni (vedi il § 27.3). Come si è detto, questo accessorio può essere importante per la fotografia con lunghi tempi di esposizione, poiché una foto può risultare "mossa" anche quando non si trovano sorgenti palesi di vibrazioni nelle vicinanze: basta lo sbattere di una porta, la chiusura di un cassetto, o il passaggio di una persona nella stanza.

Di "**basi per due lampade**" o "**basi illuminanti**" esistono molti tipi. Naturalmente si tratta di accessori indipendenti dalla vera e propria "base" del microscopio (§ 27.2.1), delle specie di grandi scatole piatte su cui si poggia lo strumento. In queste basi illuminanti si trovano una, due o tre microlampade con molti accessori (collettore, diaframma di campo, porta-filtri, lenti a grande campo, magari intercambiabili, ecc.). La "base" può portare una colonna per il fissaggio di una microlampada a forte dissipazione, con il suo corteo di specchi, filtri, ecc. Lo scopo è di tener lontano dal microscopio le sorgenti di calore. Un gioco di

specchi ribaltabili o di semiriflettenti consente di impiegare una o l'altra o simultaneamente le due o tre lampade; ciò può essere utile per osservazioni "miste", per es. sovrapponendo l'immagine in contrasto di fase con quella in fluorescenza.

Nella "base illuminante" vi sarà una finestra, da cui emerge il fascio illuminante che arriva al condensatore del microscopio attraverso un apposito foro nel piede di quest'ultimo. Naturalmente, il microscopio e la base illuminante debbono risultare rigidamente fissati fra loro. A ciò provvedono apposite staffe o pinze.

Due o tre microlampade possono anche essere fissate ad una specie di scatola verticale, che si fissa a sua volta alla colonna del microscopio. In tale scatola vi sarà il solito gioco di specchi necessari alla commutazione da una microlampada all'altra, ed alla deviazione del fascio illuminante da sotto, per la diascopia, o da sopra, con apposito tubo, per l'episcopia o l'epifluorescenza. Di solito vi saranno anche i comandi per la centratura e la focalizzazione del corpo luminoso (figura qui sotto).

28 - LA VISIONE MICROSCOPICA

La visione normale degli oggetti che ci circondano viene effettuata sfruttando la radiazione riflessa o diffusa da essi. Gli oggetti sono immersi in aria, sono illuminati da una sorgente più o meno lontana con fasci di raggi paralleli o diffusi nell'ambiente. L'immagine degli oggetti che si costruisce nei nostri occhi si basa su fenomeni di riflessione e diffusione; si potrebbe dire che normalmente si osserva in episcopia.

A parte casi particolari, come la stereo-microscopia e l'episcopia, l'oggetto microscopico è per contro sottile e trasparente, per cui viene osservato per trasparenza, come una diapositiva, cioè in diascopia. Al microscopio inoltre l'oggetto non può essere immerso in aria poiché ne nascerebbero fenomeni così forti di riflessione e rifrazione da nascondere la struttura fine dell'oggetto stesso. Quest'ultimo va quindi immerso in un liquido (liquido di cultura, ad es.) o in una resina che può anche solidificare in seguito.

E ancora, la visione normale avviene coi due occhi, che osservano l'oggetto da un punto di vista diverso e ne costruiscono un'immagine diversa. Si ha cioè una visione stereoscopica binoculare ed i due "assi visuali" dei nostri occhi convergono verso l'oggetto che noi fissiamo; ciò ci dà la sensazione del rilievo degli oggetti (vedi il capitolo seguente).

L'accomodazione ci permette poi di focalizzare l'immagine di oggetti a diversa distanza e ci aiuta nella percezione del rilievo.

La visione microscopica invece non è mai stereoscopica (tranne appunto il caso del microscopio stereoscopico), poiché le eventuali due immagini fornite dai tubi bioculari sono identiche e non possono dare la sensazione del rilievo. Neppure lo sfruttamento del potere di accomodazione ci aiuta; l'occhio infatti nell'osservazione microscopica corretta deve fissare un'immagine all'infinito e non c'è alcun vantaggio ad accomodare: data la corta focale complessiva del microscopio, la massima variazione di accomodazione dell'occhio porta a spostamenti trascurabili del piano di miglior fuoco. Nei tubi bioculari inoltre gli assi ottici dei due oculari sono normalmente paralleli e non vi è posto per la convergenza degli occhi.

Allora, per "leggere" l'oggetto al microscopio nella terza dimensione non vi è altro mezzo che manovrare la vite micrometrica; si otterrà così la visione successiva di piani paralleli contigui nell'oggetto. Se si vede a fuoco un solo piano alla volta nell'oggetto, si ricostruisce mentalmente lo sviluppo di esso in profondità, fondendo le immagini dei piani successivamente messi a fuoco[195].

Negli oggetti trasparenti fortemente colorati e contrastati l'assorbimento varia da un punto all'altro, e queste differenze di assorbimento provocano differenze nell'ampiezza della radiazione che traversa l'oggetto. Gli oggetti colorati si chiamano perciò "**oggetti di ampiezza**" e l'immagine di essi è determinata dalla loro trasmissione selettiva, come nel caso di una diapositiva. Un oggetto di ampiezza ideale possiede lo stesso cammino ottico in tutti i punti, cioè lo stesso spessore e lo stesso indice di rifrazione. Il cammino ottico in un oggetto infatti è dato dal prodotto dello spessore attraversato dalla radiazione, moltiplicato per l'indice in quella regione dell'oggetto. Quello che varia è solo la trasmissione T. L'osservazione di un oggetto di ampiezza non dà luogo in genere a false interpretazioni.

---

[195] Oggi, la fotografia digitale l'elaborazione elettronica consentono di fondere in una sola diverse foto scattate a diversa profondità, in modo da far apparire completamente a fuoco un oggetto con qualunque rilievo. Esistono a questo scopo svariati programmi.

Vi sono per contro oggetti in cui il potere di trasmissione è costante da un punto all'altro e generalmente piuttosto alto. Ciò che varia è solo il cammino ottico, cioè lo spessore o l'indice o entrambi. Si può trattare di oggetti trasparenti di spessore variabile oppure di oggetti trasparenti immersi in un liquido di diverso indice. Questi oggetti non danno differenze da un punto all'altro nell'ampiezza della radiazione che li attraversa avendo una trasmissione uniforme; essi modificano solo la fase, appunto per le loro variazioni di cammino ottico, che si traducono in un differente ritardo della radiazione che li traversa. Si parla allora di "**oggetti di fase**".

Gli oggetti di fase non hanno facilmente riscontro nella vita quotidiana e la loro interpretazione è meno spontanea e più soggetta ad errori. In microscopia, gli oggetti di fase sono generalmente costituiti da microrganismi o cellule non colorati, prodotti industriali trasparenti, prodotti chimici e microcristalli, fibre tessili non colorate, ecc. immersi in liquidi trasparenti di diverso indice.

L'immagine di un oggetto di fase è creata dalle radiazioni rifratte, riflesse o diffratte dall'oggetto, ed in essa si producono dei contrasti difficilmente interpretabili, perché non legati all'assorbimento od allo spessore dell'oggetto. Specialmente la diffrazione crea sui bordi degli oggetti certe frange o bordature chiare e scure che non hanno riscontro nell'oggetto e si chiamano quindi, con un termine generico, "**artefatti**" (vedi il § 18.1 e l'art. n° 14).

A queste frange si sovrappone la "**linea di Becke**", una bordatura chiaro-scura che circonda i margini dell'oggetto trasparente, e nasce da fenomeni di rifrazione e riflessione totale sui margini stessi; questa linea cambia leggermente di dimensioni (e pertanto porta ad errori nella misura del diametro) ed inverte il contrasto (passa da chiara a scura o viceversa) quando si ritocca la messa a fuoco; anch'essa comunque è opera di fenomeni ottici all'interno dello strumento e non rispecchia una reale struttura dell'oggetto. Un altro artefatto.

Per riconoscere la natura ottica di questi artefatti si può cercare di variarne l'aspetto variando le condizioni ottiche del sistema: l'apertura del condensatore, la lunghezza d'onda della radiazione impiegata, ecc. In particolare, la distanza fra le frange di diffrazione aumenta quando diminuisce l'apertura ed aumenta la lunghezza d'onda. Se le frange e le bordature corrispondessero a reali strutture dell'oggetto, il loro aspetto sarebbe invariabile.

Che si tratti di frange di diffrazione o della linea di Becke, il rimedio sovrano, comunque, rimane l'allargamento del diaframma d'apertura, che le riduce tutte; naturalmente, a spese del contrasto!

In particolare, negli oggetti di fase l'aspetto dell'immagine varia di molto a seconda che l'oggetto abbia un indice di rifrazione maggiore o minore del mezzo circostante. In sostanza, l'oggetto si comporta come una lente convergente se ha una forma rigonfia ed è più rifrangente del mezzo, ed è questo il caso dei globuli di grasso sferoidali sospesi in acqua, oppure se è più sottile al centro e meno rifrangente del mezzo. Invece l'oggetto si comporta da lente divergente se è rigonfio e meno rifrangente del mezzo, ed è questo il caso delle bolle d'aria, oppure se è incavato e più rifrangente come avviene per le emazie umane a fresco. Poiché gli oggetti piccoli hanno in genere forma rigonfia, si può dire che essi si comportano come lenti convergenti o divergenti se sono rispettivamente più rifrangenti (es. grassi) o meno rifrangenti (es. aria) del mezzo circostante (es. acqua).

Per distinguere fra queste due categorie di oggetti, si osservi una regola elementare di base, applicabile con qualche discernimento a tutti i casi particolari: un oggetto assimilabile ad una lente convergente (rigonfio e più rifrangente) mostra una zona chiara centrale che diventa più stretta ALZANDO l'obbiettivo od abbassando l'oggetto; un oggetto assimilabile ad una lente divergente (rigonfio e meno rifrangente) mostra una zona chiara centrale che diventa più stretta ABBASSANDO l'obbiettivo.

Queste apparenze sono facilmente spiegate in base ai fenomeni di rifrazione e riflessione

totale provocati dalla superficie dell'oggetto, che sarà riconducibile ad una lente sferica.

Anche per la **linea di Becke** esiste una regola pratica: variando la messa a fuoco, in modo da alzare l'obbiettivo (o abbassare l'oggetto), la linea chiara si sposta verso la parte a maggior indice di rifrazione. Nel caso di granuli o corpuscoli immersi in un liquido, il senso dello spostamento della linea indica se il granulo è più o meno rifrangente del liquido; quando la linea scompare, granulo e liquido hanno lo stesso indice. Sostituendo il liquido che immerge il granulo fino ad ottenere la scomparsa della linea, è così possibile misurare l'indice di rifrazione del granulo, anche se di minime dimensioni: l'indice del liquido infatti si misura facilmente con un rifrattometro o si conosce a priori. Questo metodo "della scomparsa della linea di Becke" rappresenta dunque una tecnica per la micro-refrattometrìa.[196]

Un'altra differenza fra osservazione normale e microscopica sta nel fatto che l'illuminazione per trasparenza di un oggetto si fa comunemente guardando in direzione di una sorgente lontana, cioè con raggi più o meno paralleli o diffusi. Invece in microscopia l'oggetto si trova al vertice di un fascio illuminante conico a forte apertura, e questo modifica l'aspetto dell'immagine.

Inoltre, anche l'osservazione non avviene a piccola apertura, come in condizioni normali: l'osservazione "ad occhio nudo" è fatta con una pupilla piccola e lontana (non si può guardare da meno di 250 mm di distanza come valore convenzionale, con una pupilla di circa 2 mm di diametro, cioè con apertura relativa di circa $f_{\#} = 125$); la pupilla d'ingresso del microscopio, cioè dell'obbiettivo, accetta invece un cono di raggi a forte o fortissima apertura; è come guardare simultaneamente l'oggetto da diversi punti di vista. Facciamo un esempio: quando si guarda una pallina ad occhio nudo si osserva in realtà con ogni occhio la proiezione di un cerchio massimo della sfera, che dà abbastanza bene l'idea del diametro della sfera stessa, ed i due cerchi massimi (osservati dai due occhi) sono di poco inclinati fra loro. Invece, una sferetta sotto l'obbiettivo del microscopio viene vista con raggi di inclinazione assai varia, e si vede in realtà la sovrapposizione di infiniti cerchi massimi diversamente inclinati. Questa proiezione integrale ha quindi un diametro maggiore del cerchio massimo ed in ultima analisi la sfera appare più grande. Tanto per quantificare, una sferetta appare più grande, con un errore in eccesso intorno a 50 % con una apertura di obbiettivo dell'ordine di 0,7.

Il microscopio fornisce quindi una falsa prospettiva degli oggetti, e tanto più quanto maggiore è l'apertura dell'obbiettivo.

Un'altra considerazione va fatta sulle leggi meccaniche che si applicano a livello di oggetti microscopici. Tali leggi sono certamente le stesse che conosciamo nella nostra esperienza quotidiana a livello macroscopico, ma la diversa scala di dimensioni produce certamente manifestazioni sorprendenti. Facciamo un paio di esempi.

Quando si osservano oggetti molto piccoli ad occhio nudo, per es. un pizzico di sabbia o di farina, nessuno ha mai visto i singoli granuli muoversi spontaneamente. Se invece osserviamo dei granuli finissimi al microscopio per es. un goccio di inchiostro di china molto diluito in acqua oppure le granulazioni citoplasmatiche o anche gli eventuali granuli nel succo cellulare dei vacuoli vegetali, non sarà difficile, con un ingrandimento medio-forte, osservare il movimento continuo, irregolare e tremolante, dei singoli granuli. Si tratta dei ben noti "movimenti Browniani"[197] dovuti al fatto che un corpo molto piccolo risente degli urti delle molecole del liquido in cui è sospeso, non nel senso che ogni movimento del granulo è dovuto

[196] La sensibilità del metodo aumenta se si aumenta il contrasto nell'immagine con una delle "tecniche di contrasto", come il contrasto di fase (§ 30.4): la precisione può superare la terza cifra decimale.

[197] Dal nome del botanico scozzese Robert BROWN (pron. bràun) (1773 - 1858), che li descrisse in dettaglio durante lo studio dei tessuti vegetali e del contenuto delle loro cellule.

all'urto di una singola molecola, bensì alla risultante occasionalmente non nulla degli urti di numerosissime molecole che simultaneamente collidono col granulo stesso.

Un'altra serie di fenomeni meccanici appare in maniera inusuale al microscopio in virtù dei rapporti di scala. Ecco di cosa si tratta in poche parole: un oggetto molto piccolo, in scala microscopica, ha dimensioni e quindi volume e peso parallelamente più piccoli; se si tratta di un piccolo animale ad es., anche le sue masse muscolari sono più piccole nella stessa misura. Poiché peso e massa muscolare (e quindi forza) sono entrambi proporzionali al volume, anche la lunghezza di nuoto, di salto, ecc. è la stessa per un animale grande ed uno piccolo; ma con questa differenza: se due animali, ad es. un gatto ed una pulce, sono entrambi capaci di saltare a mezzo metro di altezza, per il gatto significa saltare per tre volte la sua altezza, per la pulce trecento volte almeno. Il fatto stesso di essere più piccolo, conferisce all'animale piccolo una "forza" proporzionalmente maggiore. E così certi insetti molto piccoli hanno lo stesso peso specifico di un gatto, all'incirca; ma un gatto non può camminare sul pelo dell'acqua senza affondare, mentre molti insetti riescono a correre e saltare sul pelo dell'acqua, poiché il loro peso diviene insufficiente ad interrompere la pellicola elastica che si crea alla superficie del liquido per effetto della "tensione superficiale", cioè della coesione fra le molecole.

DUNQUE, IL FATTO STESSO CHE IL MICROSCOPIO CI INTRODUCA IN UN MONDO GEOMETRICAMENTE IN SCALA RIDOTTA, CI MOSTRA UN COMPORTAMENTO DELLA MATERIA ASSAI DIVERSO DAL NORMALE E CI OBBLIGA A VIVERE UN'ESPERIENZA NUOVA, A FORMARCI UN NUOVO MODO DI OSSERVARE E DI CAPIRE IL MONDO.

29 - STEREO - MICROSCOPIA

Nel microscopio "normale" (a volte chiamato genericamente "biologico") descritto finora vi è un solo obbiettivo ed un'unica immagine dell'oggetto. Quando esistono due tubi porta-oculari, ovvero due oculari portati da un unico tubo bioculare (§ 24.1 e fig. 98), si tratta di un unico fascio, suddiviso in due fasci identici da una superficie semiriflettente piana (diagonale nel prisma D di fig. 98). I due oculari, e così i due occhi dell'osservatore, ricevono (o dovrebbero ricevere) due immagini identiche.

Si è anche detto che i due oculari, in quel caso, hanno gli assi ottici paralleli. Tutto si svolge come se un osservatore emmetrope fissasse senza "accomodare" un oggetto molto lontano (in pratica, almeno qualche decina di metri): i due occhi formano la stessa immagine, secondo due assi visuali paralleli[198]. In queste condizioni, non è possibile la percezione del rilievo. Nell'esperienza quotidiana, il nostro sistema visuale e nervoso ci può dare la sensazione del rilievo, della profondità, della "terza dimensione", solo se ai due occhi pervengono due immagini diverse dello stesso oggetto, due immagini riprese da due punti di vista diversi[199]. Normalmente, ciò avviene quando osserviamo oggetti lontani non più di qualche metro: la distanza fra i nostri occhi (da 55 a 75 mm salvo eccezioni) è sufficiente perché le due immagini in essi formate siano leggermente diverse; salvo il caso di oggetti piani e perpendicolari all'asse visuale medio, naturalmente, e per ragioni ovvie.

Se poi osserviamo un oggetto "vicino" (alla distanza convenzionale di 250 mm), oltre a contrarre il muscolo ciliare del cristallino e quindi a "mettere a fuoco" l'occhio sulla diminuita distanza (fenomeno della "**accomodazione**"), noi "**convergiamo**", cioè usiamo i muscoli oculo-motori per far sì che i due "**assi visuali**" dei nostri occhi si incontrino sul punto "vicino" che stiamo osservando. I nostri assi visuali non sono più paralleli e, per un punto a 250 mm di distanza, si incontrano con un "**angolo di stereo**" di circa 15° [200]. Proprio questa diversità di punto di osservazione crea quella lieve differenza fra le due immagini retiniche, da cui il nostro cervello ricostruisce la profondità dell'oggetto. È questa la "**visione stereoscopica**" (dal greco "stereon" = solido, con riferimento all'osservazione di oggetti solidi, a tre dimensioni). È il nostro modo normale di osservare gli oggetti relativamente vicini, e possiamo ora capire cosa lo differenzia dall'osservazione degli oggetti lontani: diversità fra le due immagini retiniche, convergenza, accomodazione.

Ora, la possibilità di "accomodare" ci consente di osservare un oggetto vicino e ci fa apparire l'oggetto stesso sotto un angolo maggiore, cioè ce lo fa "vedere più grande". La lente d'ingrandimento aiuta in questo senso poiché ci consente di osservare l'oggetto ancora più da vicino e ce lo mostra sotto un angolo maggiore che non ad occhio nudo. Ma abbiamo visti i limiti della lente d'ingrandimento (§ 1.2.1), la quale comunque ci dà una visione monoculare. Pertanto, l'ideale per l'osservazione di un oggetto piccolo sarebbe di tenerlo a 250 mm dagli occhi, guardarlo con entrambi gli occhi per avere la percezione del rilievo e, da quella distanza, osservarlo con un "angolo di stereo" fra gli assi visuali di circa 15°, il tutto però con l'aggiunta, fra ogni occhio e l'oggetto, di un sistema d'ingrandimento. In sostanza, osservare l'oggetto come si fa ad occhio nudo, ma con un microscopio per ogni occhio, interposto fra

---

198 In ottica, il concetto di "parallelo" è relativo, come quello di "infinito" o di "punto"; se ne è già parlato.

199 Prescindiamo dai casi in cui il rilievo degli oggetti ci è indicato dall'esperienza e dalla conoscenza preventiva della forma e delle dimensioni dell'oggetto.

200 In ottica si chiama "asse visuale" dell'occhio la direzione di fissazione: normalmente, noi fissiamo un punto oggetto muovendo l'occhio in modo che l'immagine di quel punto si formi sulla regione più sensibile, o a maggior risoluzione, della retina ("fovea"). Fra l'asse visuale e l'asse ottico dell'occhio (asse di simmetria geometrica, come s'intende nel caso delle lenti) vi è un angolo di circa 5°.

occhio ed oggetto. Dunque, due microscopi con gli assi inclinati di circa 15° fra loro, e che convergono sull'oggetto come è indicato in fig. 111.

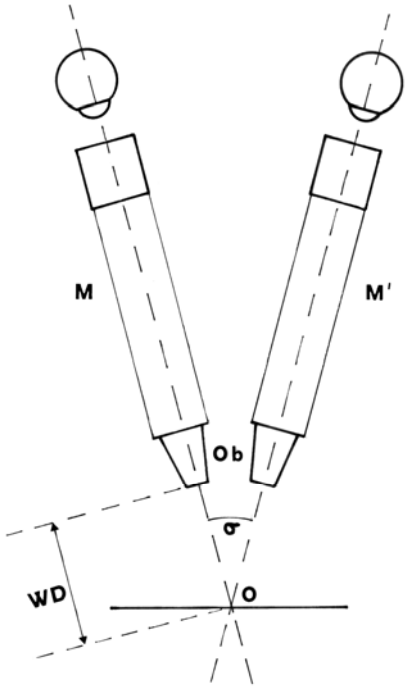


Fig. 111

In figura, O è l'oggetto, σ (lettera **s** minuscola greca o "sigma") è l'angolo di stereo, M ed M' sono i due microscopi.

Uno strumento secondo lo schema di fig. 111 è detto "microscopio stereoscopico" o "**stereo-microscopio**"; spesso si usa il termine "binoculare", ma ciò è da evitare potendo generare confusione col termine, di significato ben diverso, "bioculare" (vedi il § 24.1)[201].

Abbiamo così uno strumento che, in linea di principio, dovrebbe dare una visione molto naturale, fisiologica, proprio per la diversa direzione dei due assi visuali. E così è. Ma c'è una forte limitazione: salvo soluzioni particolari, l'ingrandimento è limitato. La ragione è semplice: se i due obbiettivi (Ob in fig. 111) debbono distare dall'oggetto O di una distanza WD, con semplice calcolo trigonometrico si ricava che la distanza fra i centri delle lenti frontali è pari a circa WD/4 (con un angolo $\sigma = 15°$, $\tan \sigma = 0{,}268 = 1 / 4$ circa). Un obbiettivo forte può avere una WD = 0,2 mm, ad es., e le lenti frontali di una coppia di obbiettivi simili dovrebbero avere un diametro non superiore alla distanza fra i centri (0,2/4 = 0,05 mm circa) ed un raggio ovviamente inferiore a 0,025 mm, poiché occorre lasciare un certo spazio per la montatura delle lenti. In queste condizioni, l'apertura numerica sarebbe, per un obbiettivo a secco, inferiore a $\text{tg}\,\alpha = 0{,}025 / 0{,}2 \approx \text{sen}\,\alpha$ (vedi la nota [202]) = sen 7,2° = 0,125. L'ingrandimento utile sarà allora (formula (55) nel § 18.12) inferiore a 125. Se si considerano altri valori di WD, nulla cambia poiché il rapporto fra diametro massimo della lente frontale e WD rimane 1/4 (essendo legato all'angolo di stereo) e quello è il limite superiore per apertura, risoluzione ed ingrandimento utile. In pratica, le esigenze meccaniche ed ottiche portano ad un ingrandimento massimo di circa 100 e, rispettivamente, 50 per i due tipi fondamentali di stereo-microscopi sotto descritti. Ne riparleremo.

---

[201] Gli stereomicroscopi, per riguardo ad una delle loro applicazioni più comuni, sono chiamati anche "da mineralogia" oppure, pensando allo studio anatomico di organi o di piccoli organismi, "da dissezione".

[202] Si è detto nel § 2.2 che, per angoli piccoli, è possibile in molti casi assimilare seno e tangente.

29.1 - Le CARATTERISTICHE SALIENTI

Possiamo allora definire un microscopio stereoscopico come un microscopio composto, doppio, a basso ingrandimento, formato da due sistemi ottici identici, collegati rigidamente fra loro in modo che i due assi ottici formino un angolo di circa 15°. Il punto assiale del campo oggetto (in parole povere, il centro dell'oggetto) deve essere lo stesso per i due sistemi. Ma andiamo avanti.

Si è appena detto che l'ingrandimento massimo è vincolato dall'ingombro delle lenti, ovvero dall'angolo di stereo e non cambia col variare della **distanza di lavoro** WD. Pertanto, il costruttore ne approfitterà e cercherà di realizzare il massimo valore per WD e facilitare la manipolazione dell'oggetto: poiché l'ingrandimento è piccolo, lo strumento si presta ad osservare oggetti di grandi dimensioni, di forma svariata (insetti, fiori, cristalli, ecc.) e pertanto una forte distanza di lavoro è essenziale. Una seconda caratteristica dello stereo-microscopio è appunto la grande distanza di lavoro, spesso intorno a 8 - 10 cm.

Adesso parliamo della profondità di fuoco o **penetrazione**. Si disse (vedi il § 14, formula (36)) che tale penetrazione aumenta coll'inverso del quadrato dell'apertura. Poiché il diametro della lente frontale, e quindi l'apertura, dell'obbiettivo di un microscopio stereoscopico sono limitati dall'impossibilità di far compenetrare i due obbiettivi, la profondità di fuoco sarà più elevata che non in un obbiettivo normale. Anzi, il costruttore cercherà di accrescere il più possibile questo pregio, come anche la distanza di lavoro, a scapito dell'apertura e quindi della risoluzione; UNO STEREOMICROSCOPIO AVRÀ GENERALMENTE UNA RISOLUZIONE MINORE ED UNA MAGGIOR PENETRAZIONE DI UN MICROSCOPIO NORMALE, A PARITÀ D'INGRANDIMENTO.

Del resto, la tendenza ad aumentare la penetrazione a scapito anche della risoluzione ha un altro fondamento, oltre la comodità d'uso: la percezione del rilievo (stereoscopìa) avviene solo finché l'oggetto appare ragionevolmente nitido, cioè all'interno della penetrazione.

La grande distanza di lavoro e la grande profondità di fuoco facilitano quindi l'osservazione e la manipolazione di oggetti irregolari, anche di grandi dimensioni, a forte rilievo. In queste condizioni, assai frequenti nel lavoro naturalistico e nella tecnologia, è possibile e molto comodo tenere l'oggetto fra le dita, ruotarlo in tutte le direzioni ed esplorarne la profondità, cioè metterlo a fuoco più su o più giù, semplicemente alzandolo od abbassandolo colle mani. Si rientra cioè nel concetto di osservazione "naturale", in condizioni assai simili a quelle della visione ordinaria a piccola distanza.

Ma qui occorre rispettare un'altra condizione: la manipolazione dell'oggetto, special-mente se eseguita con le mani, impone che l'immagine visuale (quella che si osserva con gli occhi, non quella fotografata) sia diritta rispetto l'oggetto. Nel microscopio composto, si è detto a suo tempo, l'immagine intermedia è rovesciata rispetto l'oggetto; l'oculare fornisce un'immagine virtuale, diritta rispetto quella intermedia, quindi rovesciata rispetto l'oggetto. Dunque un microscopio stereoscopico deve prevedere un dispositivo capace di ruotare l'immagine di 180° (l'alto diventa il basso, la destra diventa sinistra, ecc.). Le soluzioni pratiche per ottenere questa rotazione sono svariatissime. Raramente si usa una lente-relé, come descritta nel § 2.6.2.3 (fig. 12), ed è un peccato, poiché lo strumento diventa in questo modo più leggero e compatto[203]. Si tratta quasi sempre di una "scatola" di specchi o prismi a

[203] C'è da dire però che la lente-relé aumenta molto la lunghezza dei tubi, per circa quattro volte la sua focale (§ 2.6.2.3).

riflessione totale che, con un gioco di riflessioni multiple, ottengono la rotazione dell'immagine prima verticalmente e poi orizzontalmente (o viceversa). La "scatola" si trova sempre fra obbiettivo ed oculare. Ne parleremo fra breve.

Un'ulteriore caratteristica della microscopia stereoscopica è quindi di offrire un'immagine visuale diritta.

Ma torniamo al concetto di "visione naturale" o "fisiologica". Nell'esperienza normale, il nostro campo visuale è limitato solo dalla struttura del nostro occhio (mediamente, il nostro campo visuale "binoculare", comune ad entrambi gli occhi, è di 120° in orizzontale, di 140° in verticale). Nessun oculare può dare un campo angolare simile: si è visto (§§ 7.1 e 20.1) qual'è il campo reale degli oculari e quali sono gli inconvenienti di un campo eccessivo. La tendenza dei costruttori è comunque di offrire il campo angolare più ampio possibile, ricorrendo ai due accorgimenti citati a suo tempo: ◊◊ aumentare l'indice di campo **s'** e quindi anche il diametro esterno dell'oculare (spesso 30 mm); ◊◊ aumentare l'ingrandimento V_{ok} dell'oculare diminuendone la focale.

Quest'ultimo espediente, spesso usato dagli incompetenti per forzare il basso ingrandimento dello stereomicroscopio, porta però facilmente a superare i limiti dell'ingrandimento utile, che è basso in questo caso, come già detto. Un buon compromesso fra campo angolare e definizione dell'immagine è un oculare $10\times$ con **s'** = 20 - 25 mm (diametro esterno pari a 30 mm); oltre $10\times$, l'immagine stereoscopica diventa rapidamente "poco nitida", specie per ingrandimenti totali superiori a $20\times$.

Comunque sia, l'ampiezza del campo visuale del microscopio stereoscopico è da considerare un carattere positivo, con qualche riserva sulla definizione e sulle aberrazioni ai margini del campo (controllare sempre con un reticolo !).

Possiamo allora riassumere i caratteri differenziali della microscopia stereoscopica in questo modo:

◊◊ visione binoculare, con due obbiettivi e due assi ottici inclinati fra loro di un "angolo di stereo" di circa 15°; dunque "visione stereoscopica";

◊◊ piccolo diametro delle lenti dell'obbiettivo e piccola apertura (in rapporto ad obbiettivi normali di pari potenza), quindi bassa luminosità dell'immagine e bassa risoluzione (spesso dell'ordine di 10 μ); da ciò: basso ingrandimento utile e basso ingrandimento totale (generalmente inferiore ad $80\times$);

◊◊ in compenso, elevata profondità di fuoco ed elevata distanza di lavoro;

◊◊ immagine visuale diritta;

◊◊ grande campo angolare degli oculari (i quali sono spesso di diametro superiore allo standard di 23,2 mm).

Ecco dunque che il microscopio stereoscopico è complementare rispetto a quello normale (che ha la massima risoluzione ma la minima distanza di lavoro e la minima penetrazione); il lavoro che può essere fatto col primo non è adatto al secondo e viceversa.

Va infine notato che, negli obbiettivi normali, quelli più deboli hanno in genere una maggior risoluzione di quelli forti, considerando naturalmente la risoluzione in linee/mm nell'immagine finale, e ciò perché, a conti fatti, per essi il rapporto apertura/ingrandimento (cioè risoluzione/ingrandimento) è più favorevole (vedi il § 18.12). Invece, nello stereomicroscopio, per le ragioni dette sopra, il rapporto massimo fra diametro della lente frontale e distanza di lavoro è all'incirca indipendente dalla focale o dall'ingrandimento dell'obbiettivo (limite dato dall'angolo di stereo); questo è come dire che l'apertura massima è circa sempre la stessa (la NA non supera in genere 0,1 , come detto sopra) e quindi la risoluzione nel piano oggetto è anch'essa costante: sufficiente ai bassi ingrandimenti, insufficiente a quelli elevati.

Anche la penetrazione (formula (36)) è all'incirca indipendente dall'ingrandimento,

almeno nella componente "fotografica", proprio perché è costante l'apertura. La si può valutare mediamente in mezzo millimetro. Molto di più nell'osservazione, ed in questo caso sarà maggiore a piccolo ingrandimento.

29.2 - La "SCATOLA" dei PRISMI

I prismi utilizzati per il raddrizzamento dell'immagine, a volte rimpiazzati da specchi (otticamente cambia poco[204]), sono costituiti da blocchetti di "vetro ottico" (con caratteristiche ottiche controllate), limitati da superfici "otticamente piane", cioè con deviazioni dal piano ideale contenute entro una frazione di micron.

Alcune delle loro superfici operano come specchi ideali in quanto su di esse il fascio incide dall'interno, sfruttando il fenomeno della **riflessione totale** (§§ 2.3.2 e 11). A volte, tali superfici sono rese riflettenti con uno strato metallico (argento, alluminio, ecc.) e protette poi esternamente con una vernice nera, allo scopo di renderle insensibili alla polvere od altra sporcizia; ma in questo modo la riflessione non è più totale e la reflettività diminuisce.

Il sistema dei prismi è contenuto in un'unica scatola o in due scatole distinte, interposte fra obbiettivo ed oculare. Le soluzioni tecniche scelte dai vari costruttori per la forma dei prismi, la loro montatura meccanica ed i dispositivi di allineamento, sono assai vari. Diamo solo qualche esempio sul principio utilizzato per il rovesciamento dell'immagine: vedere la fig. 112.

In A è indicata la classica coppia di prismi a sezione di triangolo rettangolo isoscele, ideata dal Porro[205] ed oggi indicata come "1° sistema". Un prisma provoca il rovesciamento alto-basso, un secondo il rovesciamento destra-sinistra. Questo sistema a due prismi è largamente utilizzato nei binocoli "prismatici", negli oculari "raddrizzatori" per astronomia, ecc. I due prismi possono essere incollati su metà delle "facce ipotenusa", diventando un blocco unico.

Con qualche modifica di questo schema, si ottiene il "prisma di Porro, 2° sistema" costituito da due prismi generalmente incollati (fig. 112, B).

Meno ingombrante è il **prisma** "**a tetto**"; ("roof") o "di Amici"[206], sempre a sezione triangolare isoscele, in cui la faccia ipotenusa è sostituita da una coppia di facce a 90° fra loro, disposte come le falde di un tetto (fig. 112, C). Un solo prisma esegue il rovesciamento completo. Il prisma di Amici produce una flessione dell'asse di 90°. Per avere angoli minori, è frequente la variante "di Schmidt"[207] in cui la faccia d'ingresso e quella d'uscita (verticale ed orizzontale in fig. 112 C) non sono inclinate fra loro di 90°, ma di un angolo minore ed all'interno del prisma si hanno quattro riflessioni invece di due (fig. 112 D ed E).

In fig. 112 F, il prisma di Abbe presenta un minimo ingombro trasversale e sfrutta il "tetto" più due riflessioni interne; è usato nei binocoli ultraleggeri.

---

[204] Con l'introduzione dei prismi, ci saranno le solite influenze sulle aberrazioni, sull'avanzamento dell'immagine, ecc., come si disse a proposito dei tubi bioculari.

[205] Ignazio PORRO (1801 - 1875), piemontese, topografo e costruttore di strumenti ottici.

[206] Già citato nel § 16.1 .

[207] Bernhardt Voldemar SCHMIDT (pron. Scmitt), ottico tedesco (1879 - 1935).

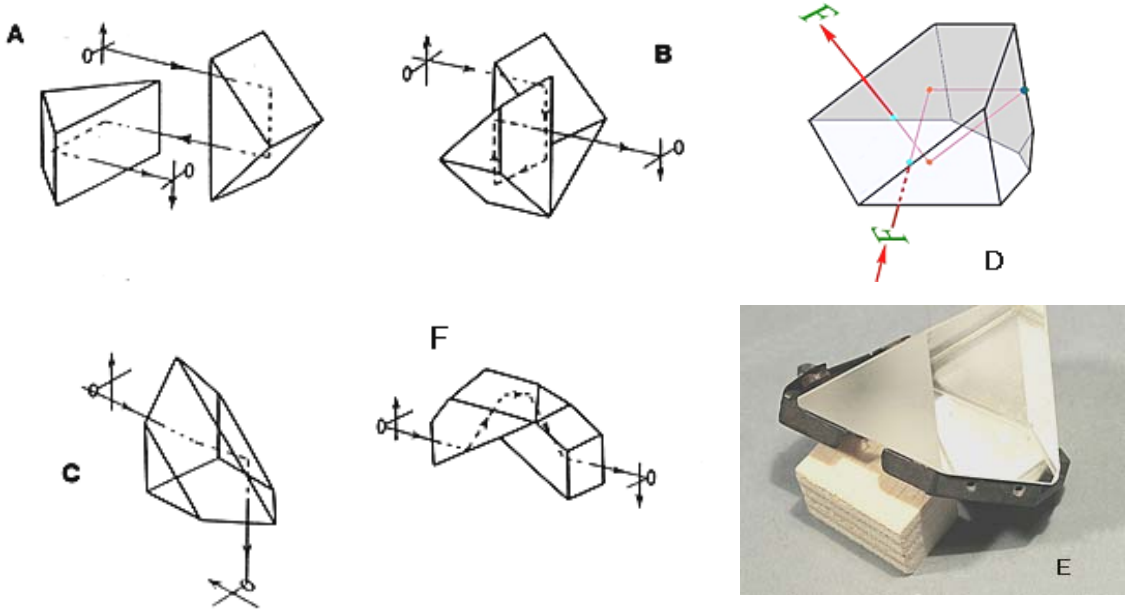


Fig. 112 Da: W. G. Driscoll – "Handbook of optics", O.S.A.

Ora, come si è detto nel § 24 (fig. 97), è comodo avere il tavolino porta-oggetti orizzontale ed i tubi porta-oculari inclinati (ad es. di 45°). Ciò vale anche per il microscopio stereoscopico. A questo fine, sotto ai prismi raddrizzanti, vi può essere una ulteriore coppia di prismi od un prisma unico che opera come quello di fig. 34 B (nel § 11), oppure gli stessi prismi raddrizzanti operano anche l'inclinazione dell'asse, come quello di Schmidt appena citato. La stragrande maggioranza dei microscopi stereoscopici offre il tavolino orizzontale e gli oculari inclinati.

29.3 - FINI ed APPLICAZIONI

Si è già detto come la maggior distanza di lavoro e la maggior profondità di fuoco diano allo "stereoscopico" la possibilità di osservare e manipolare oggetti di grandi dimensioni, comunque di forma accidentata ed irregolare, con forte profondità, in evidente vantaggio sul microscopio normale.

Parlare di oggetti grandi ed irregolari significa generalmente parlare di oggetti opachi, e pertanto lo stereoscopico è assai spesso usato per l'illuminazione episcopica (§ 8.1).

A parte i casi particolari accennati nei §§ 29.11.2 e 29.11.3, si usa generalmente un'illuminazione episcopica a "fondo scuro" o "**obliqua**" (fig. 113) in cui l'oggetto O viene illuminato lateralmente con un fascio più o meno collimato. Si dà al fascio illuminante prodotto dalla lampada L un'inclinazione abbastanza forte perché la radiazione riflessa da un oggetto eventualmente riflettente e piano (perpendicolare alla bisettrice **n** dell'angolo di stereo) prosegua dalla parte opposta, senza penetrare negli obbiettivi. Tale oggetto appare quindi scuro (donde il "fondo nero") e solo le irregolarità della sua superficie appaiono chiare poiché diffondono radiazione in tutte le direzioni e quindi anche nell'obbiettivo.

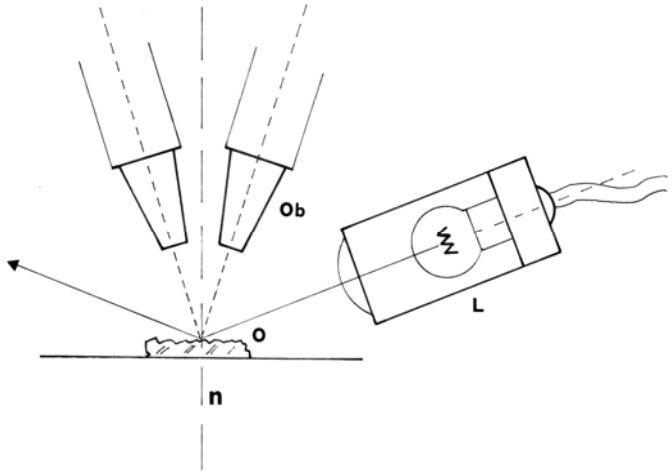


Fig. 113

Ma normalmente l'oggetto è irregolare e diffondente, per cui non si può parlare di strutture chiare su un fondo scuro riflettente. È questo il caso più comune anche nell'osservazione ad occhio nudo. Benché per questo tipo di illuminazione si adoperino spesso lampade apposite munite di collettore (vedi oltre), ad ingrandimento medio-basso può bastare una comune lampada da tavolo o la luce del giorno, anche la luce diffusa del cielo attraverso una finestra.

Si realizza così un'illuminazione episcopica diffusa, assai simile a quanto avviene nell'osservazione normale senza microscopio.

A questo punto, è chiaro quali sono gli oggetti più adatti all'osservazione col microscopio stereoscopico: insetti, piccoli invertebrati e loro parti, piccole conchiglie, sabbie, parassiti, piante inferiori, fiori, semi, minerali e rocce, gemme, microfossili, minuterie meccaniche, componenti elettronici, prodotti industriali vari, ecc. Ebbene, questi oggetti possono venir osservati così come sono.

Come è noto, nel microscopio normale, sia per la bassa penetrazione che per la minima distanza di lavoro, occorre che l'oggetto sia piano e sottile. Piano, se è opaco e va osservato in superficie (in episcopia); piano e sottile se è trasparente e va osservato in diascopia. Questo significa che l'oggetto va spianato e levigato se è molto compatto (rocce, carboni, metalli, ceramiche, ecc.), oppure indurito e sezionato in "fette" sottili se è molle (tessuti animali o vegetali, piccoli organismi, ecc.). I procedimenti di spianatura, levigatura o sezione sottile sono assai lunghi e complessi.

Invece, date le prestazioni dello stereomicroscopio, non è generalmente necessario eseguire alcuna preparazione sull'oggetto: anche se forma e superficie sono molto irregolari, nulla vieta di osservarlo nello stato naturale, anche allo stato vivente.

Questo semplice discorso fa capire la praticità e la semplicità d'uso dello stereomicroscopio, che può essere messo in mano a chiunque, senza preparazione specifica. Sono pochi gli oggetti che non si possano meglio osservare e conoscere tramite quello strumento, e sono pochi i rami della scienza e della tecnica in cui esso non trovi applicazione.

Inoltre, con uno stereomicroscopio si possono applicare quasi tutte le "tecniche speciali" della microscopia, come la fluorescenza, la radiazione polarizzata, il disegno, la fotografia, la ripresa televisiva.

Per contro, se l'oggetto da osservare è piano (sezioni istologiche, provini metallografici e petrografici levigati, prove di stampa su carta, francobolli, campioni ceramici, ecc.), è ovvio che la visione stereoscopica con assi inclinati è inutile: l'oggetto non ha rilievo. L'uso del

microscopio stereoscopico è giustificato solo con oggetti in rilievo e quando si cerchino ingrandimenti inferiori a $20\times$, difficilmente ottenibili da un microscopio normale; ma generalmente risoluzione e definizione saranno inferiori, appunto in confronto a quelle di un microscopio normale, a parità di ingrandimento.

29.4 - PROBLEMI PARTICOLARI

29.4.1 - Parcentralità

Nel § 19.1.4 si è usato questo termine per indicare la reciproca centratura dei campi immagine forniti dai vari obbiettivi montati su un revolver e questo vale anche per gli eventuali revolver dello stereomicroscopio (vedi oltre). Ma qui intendiamo usare lo stesso termine per indicare la centratura reciproca delle due immagini stereoscopiche, come si è fatto nel § 24.1.4 per i tubi bioculari: rispetto al diaframma di campo visivo dei due oculari, l'immagine dell'oggetto deve avere la stessa posizione trasversale, con tolleranza inferiore ad 1/50 del diametro del diaframma stesso.

Anche qui, gli elementi che influiscono su questa parcentratura sono molti: posizione dei tubi porta-oculari, posizione ed orientamento dei prismi, centratura degli obbiettivi, ecc. Inoltre, i due assi ottici dei due oculari dovrebbero incontrarsi nel centro del campo-oggetto O (fig. 111 nel § 29) o almeno in un punto giacente sulla bisettrice dell'angolo di stereo.

Ma, rispetto ad un normale tubo bioculare, lo stereomicroscopio presenta una complicazione: la messa a fuoco influisce sulla centratura in direzione trasversale. Ecco perché: in fig. 114 è schematizzato uno stereoscopico con i due obbiettivi Ob puntati e centrati sul punto di miglior fuoco O. Tutto bene. Ora supponiamo di alterare la messa a fuoco: il piano oggetto (PM) si sposta in PS, e sarebbe lo stesso se si spostasse in senso opposto. Il centro del campo oggetto (O), che prima era a fuoco, e la cui immagine si trovava al centro dei due campi visuali, si sposta in O'. Rispetto ai due assi ottici, cioè al centro dei campi, O' si trova spostato a sinistra per il canale sinistro ed a destra per il canale destro. In altre parole, l'immagine è decentrata in direzione opposta nei due oculari. Azionando la messa a fuoco di uno stereomicroscopio e fissando un punto dell'oggetto (meglio si osserva il fenomeno se il punto è vicino all'orlo destro o sinistro del campo), si vedrà che quel punto si sposta lateralmente.

Per evitare queste perdite di centratura, non basta però curare la messa a fuoco. Vi sono infatti varie cause che possono indurre ad errori.

1) L'effetto del tubo (§ 4.2) spinge l'osservatore a portare l'immagine finale virtuale molto vicina all'occhio; in questo modo si sposta assialmente anche l'immagine intermedia ed il punto a fuoco nel piano oggetto (O in fig. 114). Il fuoco corretto viene alterato.

2) Ametropie sferiche dell'osservatore (miopia ed ipermetropia): anche con occhio non accomodato, un occhio ametrope richiede un'immagine finale non all'infinito, e si ricade nel caso precedente.

3) Oculari aventi un primo fuoco (e quindi un diaframma di campo visivo DV ed un'immagine intermedia) in posizione non corretta. Supponendo che il venditore abbia corredato lo strumento con gli oculari corretti (da verificare!), la sostituzione degli oculari va affrontata con molto senso critico. Ciò vale anche quando si sostituiscono gli oculari al fine di variare l'ingrandimento totale.

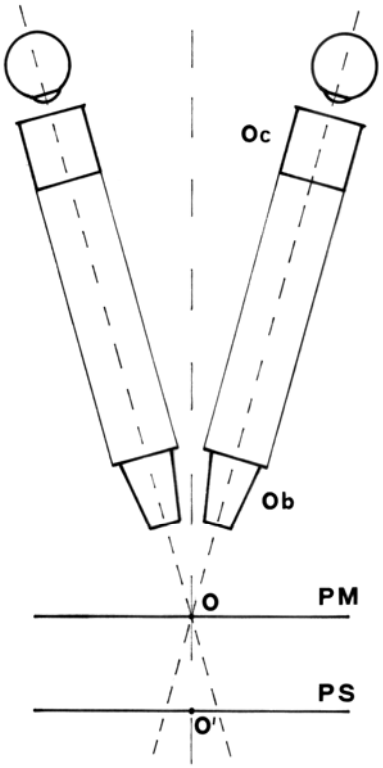


Fig. 114

4) Tubi porta oculari regolabili: come nei tubi bioculari (§ 24.1.1), si prevede che almeno uno dei tubi porta-oculari dello stereomicroscopio sia regolabile in lunghezza in modo da variare l'altezza dell'oculare e quindi la posizione dell'immagine finale. Ciò ha lo scopo di evitare che un occhio ametrope debba alterare la messa a fuoco per vedere nitido (vedi il caso 2, appena descritto) e che un osservatore con anisometropia non possa vedere simultaneamente a fuoco con entrambi gli occhi. In pratica però la regolazione dei tubi in relazione all'anisometropia ed all'ametropia è delicata; occorrerebbe cercare il miglior fuoco osservando un oggetto ben piano e contrastato (un reticolo od un micrometro) e indossando gli occhiali "per lontano"; poi verificare il tutto sovrapponendo all'oculare un piccolo cannocchiale (con V = 3 - 6 ×) per ridurre l'effetto dell'accomodazione e rendere più sensibile la regolazione. L'effetto della regolazione sul tubo porta-oculari porta però agli stessi effetti di una regolazione del fuoco per cui, con un errore in una delle due regolazioni, si può compensare un errore opposto nell'altra: si vede nitido, ma il fuoco è scorretto. Se poi entrambi i tubi sono regolabili, non si sa quale dei due prendere come riferimento, e si è già detto che l'eventuale scala incisa sui tubi porta-oculari ha un valore relativo poiché l'effetto della regolazione dipende dalla focale dell'oculare (vedi il § 20.10).

Gli strumenti con entrambi i tubi (o gli oculari) regolabili sono quindi sorgente di errori poiché possono portare ad una posizione scorretta dell'immagine intermedia; sperando che il costruttore sia accurato, non rimane che mettere a fuoco guardando con un occhio solo attraverso un tubo od un oculare eventualmente regolabili, TENUTI NELLA POSIZIONE DI "0" (tenere gli occhiali per lontano in caso di ametropie sferiche superiori ad 1 D); poi si guarda nell'altro oculare evitando di rimettere a fuoco e si cerca la maggior nitidezza REGOLANDO SOLO IL TUBO RELATIVO. Per evitare errori di accomodazione, è sempre opportuno l'uso del piccolo cannocchiale, sopra citato, focalizzato all'infinito.

Concludendo, tutte le cause capaci di spostare dalla posizione corretta l'immagine intermedia o di variare la lunghezza meccanica Lm del tubo (§ 10) possono produrre un difetto di parcentralità fra le due immagini, in direzione destra-sinistra.

Della parcentralità fra i vari obbiettivi si parlerà più avanti.

29.4.2 - Parfocalità

Tutto quanto si è detto finora sulla parfocalità nel microscopio rimane valido in stereoscopia.

◊◊ Parfocalità fra gli obbiettivi (vedi il § 19.1.2).

In un microscopio normale si richiede che, al ruotare del revolver, l'immagine rimanga abbastanza a fuoco da poter riconoscere la struttura dell'oggetto e capire da che parte si deve ritoccare il fuoco. Se l'immagine non è riconoscibile, si rischia di agire sul fuoco nel senso sbagliato, peggiorare le cose e perdere tempo.

Ebbene, in uno stereomicroscopio vi può essere un revolver con due o più coppie di obbiettivi (vedi il § 29.5) oppure, spesso, si sostituisce semplicemente la coppia con un'altra. In altri casi, l'ingrandimento si cambia con altri mezzi (§§ 29.6 e 29.7); rimane comunque l'esigenza di non perdere apprezzabilmente il fuoco al variare dell'ingrandimento. A questo fine sono molte le esigenze cui deve rispondere il costruttore ed il tecnico della manutenzione (opportuna posizione assiale dei sistemi di lenti e delle singole lenti nelle varie coppie, ecc.), ma l'utente può provocare o correggere una perdita della parfocalità variando la lunghezza Lm dei due tubi, per es. con una regolazione errata degli eventuali tubi porta-oculari regolabili[208]. Anche qui, si può sperare che la posizione di "0" indicata dal costruttore corrisponda alla lunghezza corretta del tubo; comunque, tale lunghezza è in ogni caso quella che produce la migliore parfocalità.

Quando l'obbiettivo è del tipo a focale variabile o **pancratico** ("zoom"), esso, da solo, può dare una variazione anche forte dell'ingrandimento; in questo caso, la parfocalità implica che il fuoco non vari apprezzabilmente durante l'intera corsa dello zoom. È sottinteso che anche la parcentralità deve conservarsi.

Anche qui, una carente "parfocalità di zoom" può venir corretta variando la lunghezza del tubo, per es. regolando le boccole porta-oculare.

◊◊ Parfocalità fra gli oculari (vedi il § 24.1.1).

Questa significa che entrambi gli oculari debbono fornire un'immagine virtuale a distanza infinita e quindi si può osservare con entrambi gli occhi (emmetropi) rilassati. Ciò può avvenire ad alcune condizioni : 1) il fuoco deve essere corretto, almeno al centro del campo; 2) gli oculari debbono avere il primo fuoco all'altezza corretta e debbono essere identici; 3) la regolazione dei tubi porta-oculari (ed eventualmente degli oculari regolabili) deve essere fatta sul punto "0"; e qui ritorna il discorso sull'anisometropia fatto sopra ed al § 24.1.1; 4) la posizione dei sistemi di lenti e dei prismi deve essere identica nei due canali. Ciò pone esigenze severissime in sede di smontaggio e di riassemblaggio, così come la parcentratura.

[208] Si ricordi quanto appena detto circa l'effetto di questa manovra sulla centratura in direzione orizzontale!

29.4.3 - L'angolo fra gli assi

Intendiamo qui gli assi ottici dei due oculari.

Per i discorsi fatti nel § 29 ed a proposito della fig. 111, sembrerebbe che l'angolo fra gli assi degli oculari debba coincidere con l'angolo di stereo σ. In effetti a volte avviene questo, ed in particolare, quando i tubi sono diritti, non a gomito, gli assi degli oculari son di solito paralleli a quelli degli obbiettivi.

Ma, fra obbiettivo ed oculare, vi è sempre una scatola dei prismi raddrizzanti (§ 29.2) e magari il prisma del "gomito" che inclina l'asse ottico. A questo punto le cose si complicano. Gli assi dell'oculare e dell'obbiettivo di ogni lato possono essere inclinati fra loro, in linea di principio, in qualunque misura, ma bisogna anche consentire la regolazione della distanza interpupillare (§ 24.1.3). Impossibile descrivere tutte le soluzioni tecniche, meccaniche ed ottiche, escogitate dai progettisti. Generalmente non si ha però un movimento degli oculari su una slitta trasversale, perpendicolare alla bisettrice dell'angolo formato dai loro assi, come avviene in molti tubi bioculari (§ 24.1.3). Si ha invece un movimento degli oculari attorno ad un perno, come nei tubi secondo Siedentopf (fig. 100 nel § 24.1.3) o nei binocoli, ma non si può avere un perno unico (gli assi dei due oculari debbono rimanere collegati agli assi degli obbiettivi, che non sono paralleli); ogni oculare avrà un proprio asse di rotazione.

Allora, se l'asse di rotazione è parallelo all'asse ottico dell'oculare, si può spostare lateralmente l'oculare (e quindi variare la distanza pupillare) pur rimanendo l'asse ottico parallelo a se stesso (ed all'asse di rotazione), come avviene in un binocolo. In questo caso, l'angolo fra gli assi degli oculari non varia e può essere uguale all'angolo di stereo.

In altri casi, l'asse di rotazione degli oculari è inclinato rispetto al loro asse ottico (spesso di 45° nei tubi a gomito: di solito è verticale l'asse di rotazione ed inclinato di 45° l'asse degli oculari). In questi casi, quando gli oculari ruotano, varia la loro posizione azimutale e l'angolo fra di essi può variare entro ampi limiti, in relazione alla distanza pupillare impostata. L'angolo fra gli assi degli oculari sarà massimo quando la distanza pupillare è massima e può annullarsi o anche invertirsi con distanza minima; si può arrivare al caso di assi degli oculari che diventano divergenti invece che convergere. L'angolo di stereo rimane costante per gli obbiettivi ma non per gli oculari. È ovviamente una situazione poco fisiologica.

Ma c'è di più: durante la rotazione dei tubi porta-oculari, l'orientamento azimutale delle due immagini attorno al loro asse può rimanere costante, in certi casi, ma può anche variare: durante la regolazione della distanza fra gli oculari le due immagini possono ruotare attorno al loro centro. Ciò corrisponde ad un difetto della vista chiamato **cicloforìa**. Entro certi limiti, il nostro apparato visivo neutralizza queste situazioni anomale, ma possono insorgere vari sintomi di stanchezza.

Comunque, si può dire che la visione stereoscopica è più critica di quella al microscopio normale; spesso l'osservatore non converge correttamente gli occhi, accomoda e quindi non mette a fuoco al posto giusto (perdita di centratura orizzontale), non regola bene la distanza pupillare, non riesce a "fondere" psichicamente le due immagini e finisce per guardare con un occhio solo, perdendo la prestazione essenziale della visione stereoscopica.

Oltretutto, anche la distanza fra occhi ed oculari è più critica allo stereomicroscopio: in un microscopio normale, come detto nel § 8.8 ed in fig. 33, il fatto di alzare od abbassare l'occhio rispetto alla posizione ideale (pur rimanendo la pupilla sull'asse) significa solo restringere il campo visuale; invece nel microscopio stereoscopico, variando l'altezza degli

occhi, la distanza fra gli assi ottici dei due oculari (che non sono paralleli) varia e non corrisponde più alla distanza delle pupille degli occhi: in altre parole, tutte le volte che l'osservatore alza od abbassa la testa dovrebbe ritoccare la distanza fra gli oculari. Se non lo fa, rischia di perdere una delle due immagini e l'osservazione diviene di nuovo monoculare.

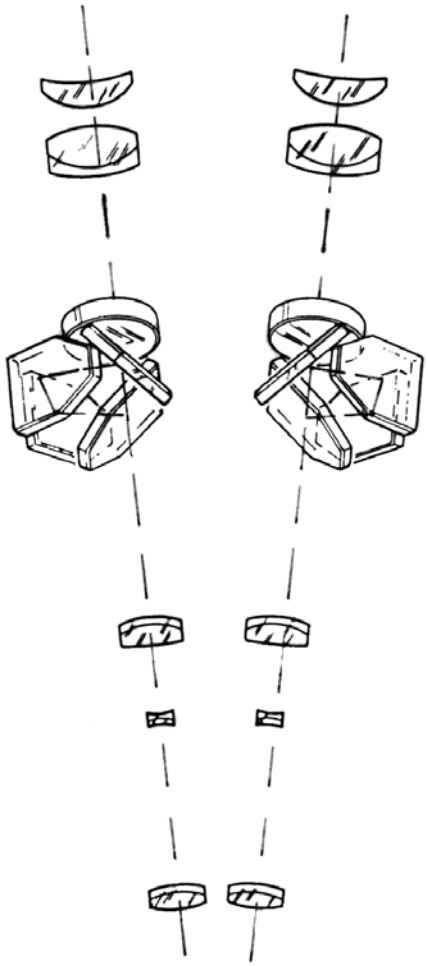


Fig. 115 - Da catalogo American Optical Corp., Buffalo, N.Y., SB 560 3/75

29.5 - Lo SCHEMA di GREENOUGH

La fig. 111 illustra lo schema più intuitivo e più logico di stereomicroscopio; esso fu introdotto, come concetto, dall'inglese F.H. Wenham (1861), fu definito dallo zoologo americano Horatio S. Greenough (pron. Grìinou) nel 1892, e costruito da C. Zeiss a Jena nel 1896-97.

Lo schema di fig. 111 è più definito in fig. 115.

In questa si vede, dall'alto in basso, l'oculare costituito da due membri, una lente intermedia o "di tubo" (vedi oltre), un gruppo di quattro specchi per il raddrizzamento, ed infine l'obbiettivo, di tre membri.

Fig. 116 Da catalogo Koristka, Milano, 1960

In fig. 116 si vede uno strumento che ha ormai valore storico non essendo più prodotto da decenni ed essendo scomparsa la casa Koristka; esistono però dei modelli leggeri di produzione attuale che gli somigliano molto. In alto, nella figura, si vedono i due oculari; la scatola dei prismi è doppia, identica a quella di un normale binocolo prismatico, a parte la convergenza degli assi; sotto la scatola, a destra, una piccola lampada con collettore e, a sinistra, la coppia di obbiettivi. Sul piano del tavolo, due coppie di obbiettivi intercambiabili. Del supporto, un po' particolare, diremo oltre.

29.5.1 - Svantaggi

Lo svantaggio della ridotta apertura e risoluzione è già stato descritto come dovuto all'impossibilità di compenetrare gli obbiettivi; su questo dunque non c'è nulla da aggiungere, anche se gli schemi descritti nei prossimi capitoli consentono un piccolo vantaggio in questo senso.

Un secondo svantaggio si presenta nell'osservazione di oggetti piani (superfici piane di oggetti opachi, sezioni sottili o strisci su vetrino per es.). Si consideri un tale oggetto piano perpendicolare o quasi alla bisettrice dell'angolo di stereo, quindi inclinato in misura uguale o quasi uguale rispetto agli assi dei due obbiettivi: per es. il piano PM di fig. 114 (§ 29.4.1). È intuitivo che, se il centro O del piano oggetto è a fuoco, un punto a destra di O si trova più lontano (che non O medesimo) dall'obbiettivo sinistro e più vicino all'obbiettivo destro. Il contrario per un punto a sinistra di O. Ciò significa che si vede bene a fuoco solo un diametro del campo visuale (diametro perpendicolare all'asse dell'obbiettivo ed al piano della figura 114). Una metà del campo sarà sfocata perché troppo lontana da un obbiettivo e troppo vicina all'altro; l'altra metà, l'inverso.

Gli apparecchi concepiti secondo lo schema di Greenough non sono quindi adatti per oggetti piani: si vede a fuoco solo una striscia verticale del campo visuale (la striscia si sdoppia se il miglior fuoco non è al centro del campo).

29.5.2 - Vantaggi

In uno schema come quello di fig. 111, 114 o 115, i due obbiettivi Ob sono centrati rispetto all'asse ottico di ognuno dei due microscopi, come avviene nel microscopio normale. Ciò consente la miglior correzione delle aberrazioni, in particolare (§ 13.3) al centro del campo saranno assenti le aberrazioni extra-assiali (cromatica laterale, coma, astigmatismo). Così è possibile aumentare l'ingrandimento utile (§ 29), in pratica anche oltre 100 × circa.

Questa condizione, a prima vista ovvia, non si verifica negli altri schemi di microscopio stereoscopico sotto descritti.

Chi desidera una buona definizione dell'immagine sarà dunque meglio accontentato da uno stereomicroscopio sec. Greenough, ed apprezzerà di più questo vantaggio con oggetti non piani.

Tutto ciò naturalmente può diventare importantissimo in fotografia.

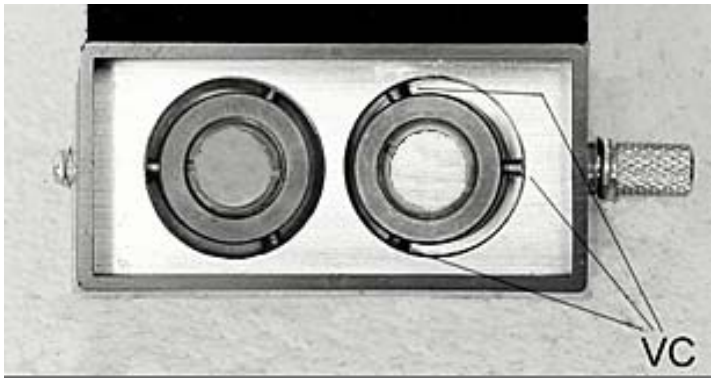
29.5.3 - Variazione d'ingrandimento

Con lo schema di fig. 111, 114 o 115, la variazione dell'ingrandimento viene effettuata con due mezzi principali:

◊◊ obbiettivi pancratici, a focale variabile ("**zoom**"); di questo parleremo oltre (§ 29.9);

◊◊ obbiettivi intercambiabili. La sostituzione degli obbiettivi può essere effettuata con quattro meccanismi principali:

1) Le coppie di obbiettivi (opportunamente centrati fra di loro ed appaiati su una base comune) sono sostituibili singolarmente con un incastro (generalmente) a coda di rondine lineare. Sono ben visibili due di tali coppie in basso nella fig. 116. Le varie coppie, nei buoni strumenti, sono parfocali e parcentrate fra loro: da una coppia all'altra si conserva il fuoco e la centratura dell'immagine.



Da una coppia all'altra varierà invece e di molto la distanza di lavoro WD. Generalmente, ogni obbiettivo di ogni coppia è fissato e centrato a mezzo di tre "grani" (viti senza testa; VC nella figura di sopra) presso la sua base. Uno spostamento dei grani porta immediatamente ad una perdita di parcentratura.

2) Revolver ad asse verticale, simile ai revolver normali (§ 27.2.3), tranne il fatto che gli obbiettivi singoli sono sostituiti da coppie. Ne schematizziamo i due tipi principali nella fig. 117, in cui A - A, B - B, C - C indicano le coppie di obbiettivi che funzionano appaiati.

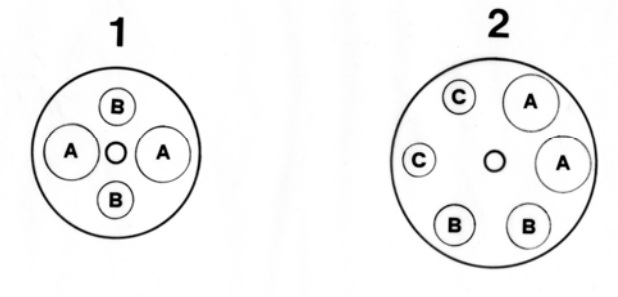
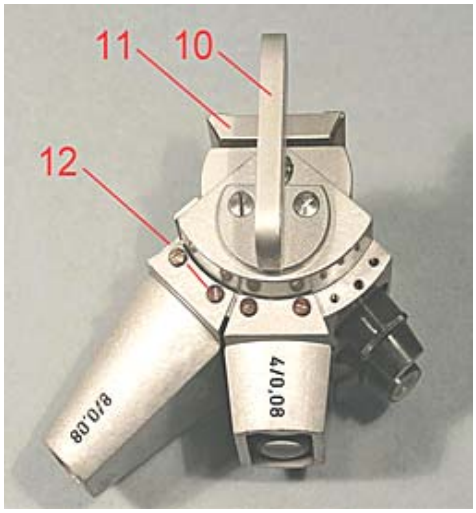


Fig. 117

Nel tipo 1 di fig. 117 (due coppie) l'asse di rotazione del revolver è al centro dei due obbiettivi di ogni coppia; nel tipo 2, l'asse di rotazione è eccentrico, come nei revolver normali; possono essere ospitate tre o più coppie.



3) Revolver ad asse orizzontale, perpendicolare alla bisettrice dell'angolo di stereo, perpendicolare al piano mediano dello strumento; si tratta di un tamburo più o meno cilindrico, che porta le coppie di obbiettivi, che divergono verso l'apice. Nella figura a fianco, una guida a coda di rondine (11) porta il revolver, comandato dalla leva 10. Le viti 12 fissano i coperchi delle single coppie. La coppia a destra è visibile poiché è smontato il coperchio. (prodotto Reichert).

4) Slitta orizzontale con movimento nel piano sagittale (mediano) dello strumento; le coppie si sostituiscono l'una all'altra scivolando l'una dopo l'altra sotto l'asse ottico (Leitz, Askania).

In ogni caso, deve essere garantita la parfocalità e la parcentratura delle varie coppie.

Gli obbiettivi degli strumenti sec. Greenough possono essere del tipo "a coniugata finita" o "a coniugata infinita" (vedi il § 3). Nel secondo caso, sopra l'obbiettivo, sopra o sotto la scatola dei prismi, deve esistere la "lente di tubo" di cui si è già descritta la funzione. La focale di tale lente, negli stereomicroscopi, è generalmente inferiore al valore di 250 mm, una volta diffuso nei microscopi normali. In fig. 115 si vede la lente di tubo subito sopra il gruppo degli specchi.

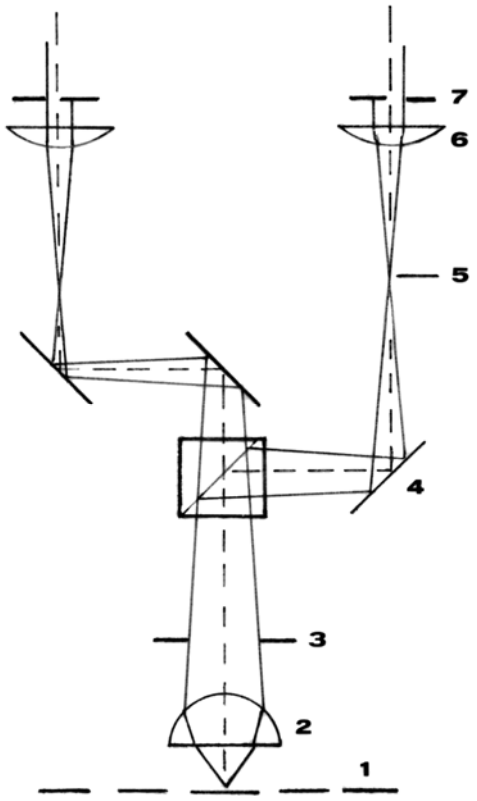
29.6 - Lo SCHEMA di ABBE a PUPILLA DIVISA

Accenniamo solo ad un principio che in pratica ha ben poche applicazioni, ma che è alla base dell'altro schema, il CMO, descritto al capitolo seguente.

Si ricordi quanto si disse nei §§ 8.8 e 9 (fig. 32) a proposito della pupilla dell'obbiettivo (PU) e della sua immagine impiccolita creata dall'oculare (P) (disco di Ramsden). Si confronti la fig. 32 con la 118: in 1 è schematizzato l'oggetto piano, perpendicolare all'asse dell'obbiettivo 2; in 3 è indicata la pupilla dell'obbiettivo (PU); 4 è il gruppo prismi di un tubo bioculare normale; 5 è l'immagine intermedia e 6 l'oculare; quello che ci interessa è il piano 7 in cui si forma il disco di Ramsden (P).

Questo è lo schema di un normale microscopio con tubo bioculare. Ma si badi: in 7 vi è un diaframma costituito da un setto opaco con orlo diritto, che oblitera metà della pupilla P ; la metà destra per l'oculare sinistro e viceversa. Il risultato è che le due immagini parziali ricevute dai due occhi sono costituite dal fascio che attraversa metà della pupilla P e quindi metà della pupilla d'obbiettivo PU (3); è come dire che l'obbiettivo (2) è diviso in due parti, che forniscono, ognuna per proprio conto, due immagini diverse. È detto "diverse" poiché le due metà dell'obbiettivo (2) accettano ognuna un fascio semi-conico il cui raggio "centrale" è all'interno del cono globale di apertura dell'obbiettivo, ma i due raggi centrali ("principali") formano fra loro un certo angolo (maggiore quanto maggiore è l'apertura dell'obbiettivo, circa la metà dell'angolo doppio di apertura = 2 α). Si ha così la visione stereoscopica.

Il vantaggio di questo schema (E. Abbe, 1881) consiste nella possibilità di usare obbiettivi normali, anche di forte potenza, pure ad immersione. Lo svantaggio è che in 7 deve trovarsi un diaframma esattamente centrato e lì dovrebbe trovarsi anche la pupilla dell'occhio; non essendo ciò possibile, l'effetto stereoscopico si ha solo su una parte del campo. Per ovviare a questo inconveniente, si può suddividere la pupilla d'obbiettivo (3) in due metà occupate da due filtri polarizzanti incrociati; se, presso i due oculari, si pongono altri due filtri ruotati in modo da avere estinzione con l'una o l'altra metà della pupilla PU (3), si ha ancora la divisione della pupilla e l'effetto stereo, col vantaggio che la pupilla dell'occhio può stare nella posizione corretta.



Ma anche questa soluzione è raramente seguita (Nachet); fra l'altro, c'è l'inconveniente che fra i due filtri polarizzatori citati (quello sopra l'obbiettivo e quello a livello degli oculari) si trovano due o più superfici riflettenti che alterano lo stato di polarizzazione della radiazione. Se poi l'oggetto è in grado di polarizzare almeno parzialmente la luce da esso riflessa, le cose si complicano.

Fig. 118 Da - H. Beyer e H. Riesenberg, "Handbuch der Mikroskopie", p. 351, Veb Verlag Technik, Berlin, 1988

Lo schema si può applicare anche in diascopìa, ed in questo caso i due semi-filtri polarizzanti si possono mettere sotto il condensatore invece che in PU.

29.7 - L'OBBIETTIVO UNICO (C. Zeiss 1944)

Parlare di un obbiettivo unico in un microscopio stereoscopico può sembrare un controsenso ma, ripensando allo schema di Abbe di fig. 118, si capirà che la cosa è possibile: basta utilizzare due porzioni distinte dello stesso obbiettivo, che funzionano da obbiettivi separati.

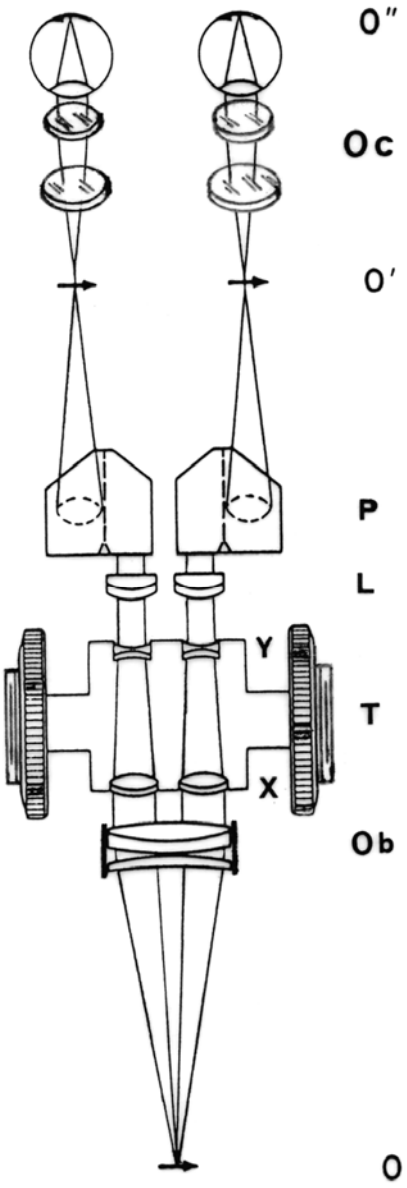


Fig.119 - Da catalogo Zeiss, Oberkochen, RFT, G 40 - 705

Questo schema, spesso indicato coll'acronimo **CMO** (Common Main Objective = obbiettivo principale comune) è presentato in fig. 119. In questa, O è l'oggetto; O' è l'immagine intermedia (diritta rispetto l'oggetto per via dei prismi raddrizzanti), O" è

l'immagine retinica; Ob è l'obbiettivo unico, o "comune", o "principale"; L è la lente di tubo (vedremo che l'obbiettivo principale è generalmente a coniugata infinita; sulla funzione della lente di tubo, vedi il § 3.2.3); P sono i prismi (si tratta in questo caso di un prisma di Schmidt che raddrizza l'immagine ed inclina l'asse); Oc è l'oculare (positivo).

Ebbene, un diaframma a due fori posto subito sopra l'obbiettivo Ob (diaframma non indicato in figura) delimita due fasci parziali, con i raggi principali inclinati fra loro (nello spazio fra obbiettivo ed oggetto), come se si trattasse di due obbiettivi separati. Poiché il centro del piano oggetto (O) si trova nel primo fuoco di Ob, i raggi da esso emergenti escono paralleli da Ob. Così, il fascio globale che, da ogni punto dell'oggetto, attraversa Ob ed uno dei due diaframmi parziali, prima di giungere alla lente di tubo, è un fascio parallelo. In altre parole, Ob funziona con la seconda coniugata infinita, il piano oggetto coincide col suo primo piano focale e dopo l'obbiettivo deve esistere una normale **lente di tubo** (L), anzi una coppia di tali lenti, al fine di avere un'immagine intermedia al posto giusto. Fra Ob ed L il fascio (corrispondente ad ogni punto dell'oggetto o dell'immagine) è "telecentrico". Ecco così come il CMO può fornire con un unico obbiettivo due "canali" convergenti verso l'oggetto e quindi la visione stereoscopica.

29.7.1 - Svantaggi

Essi risiedono essenzialmente nel fatto che i due obbiettivi parziali sono solo porzioni non centrate di un obbiettivo unico; i fasci che formano le due immagini nei due canali attraversano l'obbiettivo principale fuori centro; ciò crea, anche al centro dei due campi visuali, forti aberrazioni extra-assiali (cromatica laterale, coma, astigmatismo), che possono essere ridotte solo complicando la ricetta dell'obbiettivo principale: certi costruttori offrono a questo fine degli obbiettivi "apocromatici" (vedi il § 13.2.1), sensibilmente migliori di quelli normali, ma assai più costosi.

Questa perdita di definizione costringe questi strumenti a ridurre l'ingrandimento massimo: raramente è possibile superare $50\times$.

29.7.2 - Vantaggi

Il fatto di possedere un obbiettivo unico elimina il problema della centratura reciproca dei due obbiettivi di una coppia Greenough. Inoltre, non essendovi una montatura separata per ognuno dei due obbiettivi, come avviene nel sistema Greenough, vi è più spazio per le due porzioni utili dell'obbiettivo le quali, a parità di angolo di stereo e di distanza di lavoro, possono avere un'apertura ed una risoluzione maggiore.

Tranne casi particolari, il cambiamento dell'ingrandimento si ottiene senza sostituire l'obbiettivo principale, per cui la distanza di lavoro WD risulta costante.

Il vantaggio principale sta nel fatto che un oggetto piano perpendicolare all'asse dell'obbiettivo principale produce due immagini intermedie ugualmente perpendicolari ai due assi secondari, cioè agli assi dei due oculari, e quindi tutte simultaneamente a fuoco (salvo l'effetto della curvatura di campo). Infatti, le due immagini intermedie sono semplicemente immagini di un oggetto piano perpendicolare all'asse (dell'obbiettivo comune) e quindi debbono anch'esse formarsi in un piano perpendicolare all'asse medesimo. È sottinteso che

gli assi dei due canali, creati dal doppio diaframma, sono paralleli all'asse dell'obbiettivo (nel tratto dopo l'obbiettivo stesso), e quindi paralleli fra loro, poiché l'oggetto è nel fuoco dell'obbiettivo.

29.7.3 - Variazione d'ingrandimento

Certi modelli adibiti a scopi specifici oppure di tipo economico presentano un unico ingrandimento. Ma generalmente è richiesta la possibilità di variarlo. Ecco le soluzioni più comuni nello stereomicroscopio tipo CMO :

1) Sistemi zoom; si tratterà in genere di una coppia di sistemi ad assi paralleli, interposti fra obbiettivo e scatola prismi. Ne riparleremo.

2) Obbiettivo principale intercambiabile. Si può dimostrare, come per gli obbiettivi normali a coniugata infinita, che l'ingrandimento di un obbiettivo CMO è dato dal rapporto fra focale della lente di tubo e focale dell'obbiettivo (vedi la formula (17) nel § 3.2.3, tenendo conto che la focale della lente di tubo nei microscopi tipo CMO è spesso molto inferiore a 250 mm). Sostituendo l'obbiettivo con un altro di diversa focale, si varia così l'ingrandimento; in misura inversa dell'ingrandimento varia anche la distanza di lavoro WD (che è circa pari alla focale dell'obbiettivo) ma, se aumenta la WD , diminuisce l'angolo di stereo, l'apertura e la risoluzione. Esistono modelli con obbiettivi principali di focale fra 30 e 1˙000 mm, con ingrandimento proprio da 0,2 a 6 ×.

3) Sistema intermedio. Si è già detto che, nello schema CMO , come per ogni obbiettivo a coniugata infinita, lo spazio fra obbiettivo e lente di tubo è attraversato (per ogni punto oggetto) da un fascio parallelo o telecentrico. In questo spazio è dunque possibile introdurre un **sistema afocale**, cioè un sistema ottico che prevede sia il piano oggetto che il piano immagine a distanza infinita; tale sistema quindi prevede un fascio parallelo all'ingresso come all'uscita (si parla di "sistemi galileiani", vedi sotto). Questo è il caso di un cannocchiale o di un telescopio che punta verso un oggetto molto lontano e fornisce un'immagine virtuale a grande distanza (il concetto di infinito, come si è detto, è relativo in ottica e va inteso come "molto più grande dei parametri del sistema", come ad es. della focale; vedi anche il § 25.1).

Dunque, si può mettere fra obbiettivo e lente di tubo un piccolo cannocchiale, messo a fuoco "all'infinito", che non altera la posizione dell'immagine intermedia, e quindi la messa a fuoco. Per ragioni di ingombro, si sceglie quasi sempre lo schema del cannocchiale di Galileo con oculare divergente, che dà un'immagine diritta (§ 25.1). Così, in fig. 119, fra l'obbiettivo Ob e la lente di tubo L , è raffigurato un piccolo sistema "galileiano" (ovviamente doppio) con un obbiettivo convergente X ed un oculare divergente Y . Poiché un sistema galileiano è afocale, la sua posizione laterale, cioè la sua centratura, non è critica; conta invece la centratura del suo oculare rispetto al suo obbiettivo. Anche la posizione assiale del sistema non è critica, mentre lo è la distanza fra il suo obbiettivo ed il suo oculare, cioè la sua messa a fuoco intrinseca, che deve essere sempre "per l'infinito".

Per cambiare ingrandimento, non ci si limita però ad inserire od estrarre il sistema galileiano afocale; infatti, un cannocchiale funziona anche alla rovescia (entrambe le sue coniugate, si è detto, sono infinite); guardando dalla parte dell'obbiettivo si vede ugualmente a fuoco, ma rimpiccolito. Dunque, un sistema CMO come in fig. 119 senza il sistema intermedio X - Y, darà un ingrandimento "di base", generalmente compreso fra 1,0 × e 2,0 × (oculare a parte); per es. 1,6 ×. Con il galileiano inserito, di ingrandimento proprio 2 ×, ad es. (o 0,5 × se rovesciato), esso darà un ingrandimento, ad es., di 3,2 × (diritto) o 0,8 × (rovesciato). Quindi con un sistema galileiano solo (coppia, s'intende) si hanno tre diversi

ingrandimenti; basta montare il galileiano su un tamburo ad asse orizzontale (T in fig. 119) che consente di voltarlo in due posizioni opposte, con l'obbiettivo X in basso o in alto; nelle posizioni intermedie, col sistema X - Y disposto trasversalmente, le lenti X ed Y sono fuori dal cammino e si torna all'ingrandimento "di base".

Con un solo sistema si hanno così $2 + 1 = 3$ diversi ingrandimenti. Di solito si usano due galileiani ottenendo $2 \times 2 + 1 = 5$ diversi ingrandimenti.

Raramente i galileiani sono montati su un tamburo ad asse verticale: essi così non possono essere rovesciati ed occorre un diverso sistema X - Y per ogni valore d'ingrandimento (Galileo).

Si noti che il cambiamento d'ingrandimento avviene tenendo fisso l'obbiettivo comune e la distanza di lavoro; cambierà invece l'apertura (per il diverso diametro delle lenti X ed Y) e quindi la luminosità (col quadrato dell'apertura), la profondità di campo (coll'inverso del quadrato) e la risoluzione (con funzione lineare dell'apertura).

Concludendo, il sistema CMO è più adatto ad oggetti piani, per piccoli ingrandimenti, e generalmente il cambiamento dell'ingrandimento è più facile, e non comporta variazione di WD.

29.7.4 - Sistemi misti

Si è visto che, secondo lo schema di Greenough, i due assi ottici fra obbiettivo ed oculare sono divergenti; nello schema CMO, invece, essi sono paralleli e ciò rende assai facile variare l'ingrandimento totale a mezzo di piccoli sistemi afocali galileiani. Per avere nello stesso strumento i vantaggi del primo schema (migliori correzioni) e del secondo (cammini paralleli telecentrici fra obbiettivo ed oculare), è possibile utilizzare due obbiettivi ad assi inclinati secondo Greenough e poi rendere i due assi paralleli dopo gli obbiettivi ponendo sopra di questi una coppia di prismi cuneiformi con spigoli opposti. Tali prismi potranno ovviamente essere corretti da aberrazione cromatica, ma resterà un residuo di astigmatismo. Questo schema è stato realizzato da Zeiss.

29.8 - OBBIETTIVI ADDIZIONALI

Si intendono con questo termine certe lenti convergenti o divergenti, di diametro simile a quello dell'obbiettivo principale (nei sistemi CMO) o tale da coprire la coppia di obbiettivi (nel sistema Greenough).

Queste lenti, applicate subito sotto l'obbiettivo principale o la coppia, servono essenzialmente ad aumentare o diminuire la focale del (o degli) obbiettivi principali e quindi a diminuire od aumentare l'ingrandimento secondo un "fattore proprio" che va moltiplicato per l'ingrandimento di base dell'obbiettivo. Si trovano lenti addizionali per fattori da $0{,}2 \times$ a $2 \times$; quelle che aumentano l'ingrandimento (fattore maggiore di $1 \times$) diminuiscono proporzionalmente la distanza di lavoro WD , ma aumentano (linearmente) l'apertura, la risoluzione e l'angolo di stereo, mentre abbassano la profondità di fuoco in ragione del quadrato dell'apertura. Il contrario avviene per quelle che riducono l'ingrandimento. Il rapporto apertura/ingrandimento rimane quindi più o meno costante; queste lenti addizionali non danno

allora né aumento né perdita di risoluzione nell'immagine finale.

Le lenti addizionali o supplementari sono disponibili in genere per qualunque modello di stereo-microscopio, ma è spesso necessario usare su un dato microscopio la lente addizionale dello stesso costruttore: è questione di correzioni e di parametri meccanici.

Tali lenti sono comode da usare; si fissano sotto l'obbiettivo principale con un passo di vite, una baionetta, una vite laterale o simili. Il loro inconveniente principale, a parte la variazione di WD, sta nel fatto che i due "canali" si trovano in posizione eccentrica rispetto alla lente e così insorgono le aberrazioni extra-assiali già citate a proposito del sistema CMO (§ 29.7.1).

29.9 - SISTEMI ZOOM

Si intende col termine inglese "**zoom**" un sistema ottico **pancratico**, in cui la focale può variare in modo continuo fra due valori estremi.

In uno stereomicroscopio, il sistema zoom può essere utilizzato per variare l'ingrandimento in modo continuo. Il suo vantaggio principale è che, durante la variazione, l'immagine non scompare, come avviene con gli altri sistemi e così è più facile seguire oggetti in movimento.

Lo zoom raramente è unico (in luogo dell'obbiettivo principale in un sistema CMO); generalmente è doppio, e sostituisce la coppia dei sistemi afocali (sistema CMO) o la coppia degli obbiettivi (Greenough).

Come per tutti i sistemi per il cambiamento dell'ingrandimento, da uno stereo-microscopio si deve pretendere che, durante l'intera corsa dello zoom, rimangano buone e costanti : ◊◊ la parcentratura fra i due oculari; ◊◊ la parcentratura intrinseca dello zoom (un punto al centro del campo deve rimanervi per tutta la corsa); ◊◊ la parfocalità fra i due oculari; ◊◊ la parfocalità intrinseca (l'immagine deve restare a fuoco in ogni posizione dello zoom).

Un sistema zoom è costituito da almeno tre membri[209]. Nei sistemi economici vi sono due membri solidali fra loro che si muovono simultaneamente in direzione assiale, mentre un terzo membro (a volte anche un quarto) è fisso. In questo caso, la parfocalità intrinseca sarà modesta e la variazione d'ingrandimento ridotta. Nei sistemi più costosi, vi sono due membri che si muovono in maniera indipendente, e la variazione d'ingrandimento ("rapporto di zoom") può arrivare a 10:1.

I mezzi meccanici per ottenere lo spostamento singolo o duplice dei membri mobili sono assai vari e non si possono illustrare in questa sede. Essi comunque debbono creare movimenti identici nei due sistemi della coppia, altrimenti si avrebbe un diverso ingrandimento nei due canali, cosa che i nostri occhi tollerano poco. Questo difetto può intervenire semplicemente per indurimento dei grassi, che impedisce il libero movimento dei membri mobili.

Anche uno stereo-zoom può prevedere le lenti addizionali citate sopra.

[209] In ottica, un "membro" è una lente semplice o un sistema composto da lenti semplici incollate fra loro.

29.10 - Le ABERRAZIONI

Rimanendo valido quanto già detto nel § 13, aggiungiamo qualche dato particolare sugli stereomicroscopi.

Del fatto dei "canali" che operano eccentricamente rispetto all'obbiettivo principale, e delle aberrazioni extra-assiali che ne derivano, si è già detto nel § 29.7.1. Aggiungiamo solo questo: la visione stereoscopica nasce da piccole differenze geometriche fra le due immagini; una deformazione delle immagini stesse (distorsione, vedi il § 13.1.2) può deformare anche la percezione del rilievo e della forma di un oggetto a tre dimensioni; ma la distorsione è più dannosa quando si osserva un oggetto piano poiché esso può apparire ricurvo ("**effetto duomo**" o "globe effect"). Anche la curvatura di campo fornisce un'immagine ricurva di un oggetto piano e può generare l'effetto duomo.

Oltre agli obbiettivi "apocromatici" già citati, che riducono le aberrazioni extra-assiali, o almeno la cromatica laterale, vengono così offerti anche obbiettivi "planari" con ridotta curvatura. La planeità del campo è meno utile nei sistemi Greenough, per le ragioni dette nel § 29.5.1.

Per contro, la curvatura ha un altro effetto dannoso: per vedere a fuoco l'intero campo visuale (oggetto piano), essa costringe a spostare la messa a fuoco e ciò altera la centratura fra i due oculari in direzione trasversale (§ 29.4.1).

Riguardo la cromatica laterale, essa è in genere ben corretta (almeno negli obbiettivi del sistema Greenough) poichè gli obbiettivi stereoscopici hanno una focale relativamente forte e non esiste la lente frontale emisferica semplice della ricetta di Amici (§ 19.3.1). Pertanto negli stereo-microscopi si usano in genere oculari strettamente acromatici.

29.11 - ILLUMINAZIONE EPISCOPICA

29.11.1 - Laterale

Molta parte del lavoro allo stereomicroscopio, come si é detto, è svolto su oggetti opachi di forma irregolare, non piani, sia nelle scienze che nella tecnologia.

In questi casi, ci si avvicina molto all'osservazione abituale ad occhio nudo, in cui l'oggetto viene illuminato in modo più o meno diffuso da una finestra o dall'illuminazione artificiale dell'ambiente. A piccolo ingrandimento, questa illuminazione può bastare, è molto "naturale", e certamente è sufficiente nel lavoro all'aperto in pieno giorno, anche senza sole diretto.

Per ingrandimenti medio-forti, almeno in ambiente chiuso, è necessaria una lampada ad hoc. Fino ad un certo punto, può bastare una normale lampada da tavolo o un "abat-jour"; altrimenti occorre una vera e propria microlampada (vedi il § 22) costituita essenzialmente da

un'ampolla ad incandescenza a bassa tensione (quindi a filamento compatto, vedi il § 22.6.1.2), meglio se del tipo "al quarzo-iodio" o "ad alogeni" (QI , § 22.6.1.3), più un collettore (§ 22.2), con porta-lampada, alette di raffreddamento, ecc. Non servono in genere, date le ridotte esigenze, né i meccanismi di centratura dell'ampolla, né il diaframma di campo. È utile invece, in genere, un meccanismo di messa a fuoco del collettore: non tanto per mettere a fuoco il filamento (manca un condensatore su cui proiettarne l'immagine), ma per avere sull'oggetto un fascio illuminante più o meno ampio, meno intenso quanto più ampio, ovviamente: in questo caso, il filamento dista dalla lente meno della focale di questa. Spesso, queste lampade portano anche un porta-filtri.

La lampada sarà in genere portata da un braccio snodato o flessibile che consente di illuminare l'oggetto, a seconda del suo rilievo, con raggi ad inclinazione variabile. Lo schema generico è quello di fig. 113 nel § 29.3. Se il braccio snodato è fissato al piede, la lampada non si sposta rispetto all'oggetto durante la messa a fuoco (supposto l'oggetto poggiato sul piede) e quindi, esplorando l'oggetto su vari piani, è necessario spostare ogni volta la lampada. Più comoda è una lampada fissata al "corpo" dello strumento, che segue la messa a fuoco ed illumina sempre, se ben orientata, il piano di miglior fuoco del microscopio.

Sono invece da escludere le lampade fissate rigidamente allo stativo o alla colonna, senza braccio snodato, che non consentono di variare l'inclinazione del fascio illuminante e quindi di governare le ombre. Purtroppo, queste lampade a posizione fissa diventano sempre più diffuse.

Se il braccio porta-lampada è fissato al "corpo", più o meno all'altezza dell'obbiettivo, è bene che sia girevole intorno all'asse ottico, in modo da consentire di variare non solo l'inclinazione (zenit), ma anche l'orientamento (azimut) dell'illuminazione.

In caso di oggetti a forte rilievo (conchiglie, insetti, ecc.), specie in fotografia, una sola lampada può produrre ombre molto scure su un lato dell'oggetto. Per rischiarare il lato in ombra si può usare:

◊◊ una seconda lampada, meno intensa, capace di dare un fascio radente rispetto al piano d'appoggio dell'oggetto (radente, affinché sul piano medesimo non si formi una seconda ombra dell'oggetto);

◊◊ uno specchio che rimandi verso l'oggetto una parte del fascio della lampada (unica); lo specchio può essere costituito da un foglio di stagnola ricurvo che abbia un effetto convergente, a forma di semicilindro con asse verticale, poggiato sul tavolo;

◊◊ un cilindro di "carta lucida" (carta traslucida per disegni "in lucido") che circonda l'oggetto e magari l'intero microscopio. Il cilindro andrà illuminato da più parti con due o tre lampade, oppure con una lampada ed uno o due specchi.

Vi sono poi illuminatori "a fibre ottiche" in cui il fascio illuminante è convogliato sull'oggetto a mezzo di uno o due conduttori di luce in fibra di vetro, generalmente flessibili. Questi dispositivi sono assai più costosi di una o due lampade normali e non presentano vantaggi apprezzabili. Oltretutto, la terminazione del conduttore di luce deve stare molto vicina all'oggetto poiché il fascio emergente è molto aperto (a forte divergenza). Si può ovviare a questo inconveniente con un'opportuna lente convergente posta a qualche centimetro davanti alla terminazione del conduttore, una specie di collettore; ma a questo punto tanto vale usare una microlampada normale.

Anche questi illuminatori a fibra ottica si vanno diffondendo senza motivo; questione di moda.

29.11.2 - Diffusa

A parte i semplici accorgimenti appena descritti, si può avere illuminazione più o meno diffusa o "omnilaterale" da dispositivi particolari, che presentano una sorgente anulare da montare attorno all'obbiettivo. Ne segnaliamo i tipi più frequenti:

◊◊ a fibre ottiche; quando l'uscita del conduttore non è puntiforme, o di piccole dimensioni, ma disposta ad anello, si può avere un'illuminazione ben uniforme, "senza ombra"; è questa l'unica applicazione utile delle fibre ottiche;

◊◊ con "tubo al neon": la sorgente è costituita da una lampada fluorescente anulare, di diametro intorno a 10 cm (attenzione alla temperatura di colore !).

◊◊ con LED "bianchi" disposti a corona, relativamente economici. Anche qui, sarà difficile controllare la temperatura di colore poiché questi moderni diodi emissivi possiedono uno spettro a bande. Hanno il vantaggio di emettere poco nell'infrarosso e nell'UV.

Spesso queste sorgenti anulari sono montate, col loro supporto e relativo paraluce, su una colonnina che permette di variarne l'altezza rispetto l'oggetto. Anche questo consente di governare meglio le ombre.

S'intende che queste sorgenti anulari sono concentriche rispetto all'obbiettivo.

29.11.3 - Verticale o coassiale

Si indica così un'illuminazione che giunge all'oggetto da sopra, più o meno parallelamente all'asse ottico, in modo da eliminare o ridurre molto le ombre anche se l'oggetto è incavato; si illumina dallo stesso lato da cui si osserva.

Numerose sono le realizzazioni pratiche. Ecco le principali.

◊◊ Vi può essere un piccolo specchio (o prisma a riflessione totale (fig. 34 A) disposto fra i due obbiettivi o fra i due canali di un obbiettivo CMO . Esso rinvia verso il basso, lungo un asse che è la bisettrice dell'angolo di stereo, il fascio orizzontale che proviene da una normale micro-lampada, magari la stessa prevista per l'illuminazione episcopica obliqua, descritta nelle pagine che precedono (la quale naturalmente dovrà possedere un supporto che le consenta di assumere la posizione corretta).

◊◊ Vi può essere una lamina semi-riflettente S , disposta a 45° sull'asse, sotto l'obbiettivo (fig. 120).

Anche qui, la lampada L è disposta con l'asse orizzontale ed una parte del fascio da essa prodotto è rimandata dall'alto sull'oggetto O . Il semi-riflettente S produce evidentemente una perdita fotometrica, ma gli è consentito di avere grandi dimensioni; lo specchietto del caso precedente è invece piccolo e limita il fascio illuminante poiché deve stare nel piccolo spazio fra i due "canali". Il semi-riflettente, interponendosi fra obbiettivo ed oggetto, riduce la WD; anche per questo motivo, esso non è quasi mai usato nei microscopi non stereoscopici.

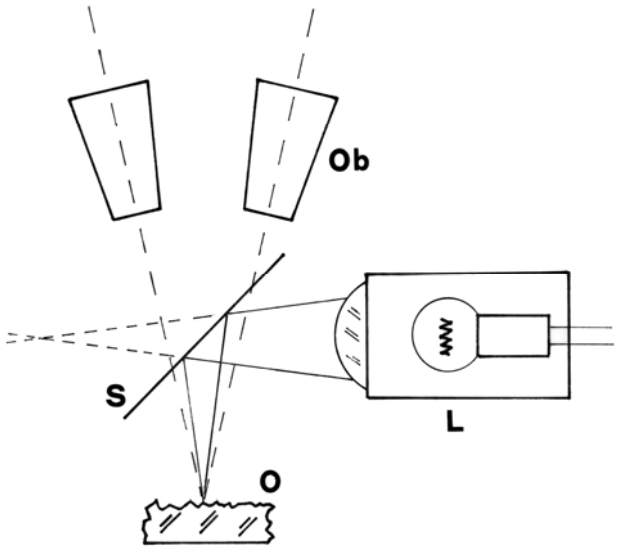


Fig. 120

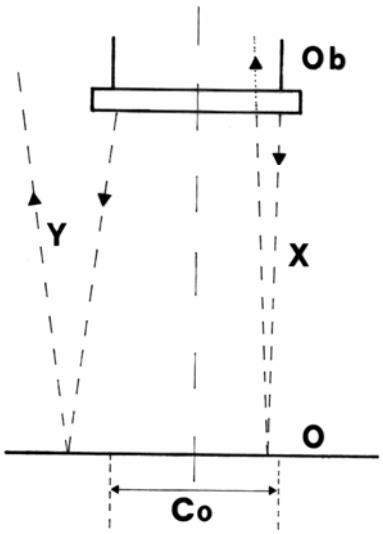


Fig.121

◊◊ Vi possono essere due semiriflettenti, uno per canale, disposti sopra l'obbiettivo. È lo schema di un normale microscopio episcopico per metallografia, con l'unica differenza che tutto il sistema è doppio. I due semiriflettenti, magari con le due lampade relative, sono alloggiati in un apposito contenitore che si interpone fra obbiettivo e scatola prismi. Questa soluzione è costosa ed in più presenta un altro problema: se l'oggetto è riflettente (come un oggetto metallico lucido) ed inoltre se è piano e perpendicolare alla bisettrice dell'angolo di stereo (come in fig. 113 nel § 29.3), la radiazione proveniente da un obbiettivo (per es. Ob in fig. 113) viene riflessa dall'oggetto O verso l'altro obbiettivo; sull'immagine delle strutture dell'oggetto si sovrappone allora un noioso riflesso. Per evitare ciò, alcuni costruttori pongono da ognuno dei due lati, fra lampada e semiriflettente, un filtro polarizzatore; un altro filtro si pone fra semiriflettente ed oculare. Le cose sono disposte in modo che la radiazione che proviene da un obbiettivo ed è riflessa dall'oggetto venga estinta trovando il secondo

polarizzatore incrociato col primo: il riflesso viene così eliminato.

Gli illuminatori coassiali non servono ad ingrandimento molto basso: se il campo oggetto (Co in fig. 121) si confronta col diametro dell'obbiettivo (Ob), un raggio del fascio illuminante (X) può rientrare nell'obbiettivo (e quindi illuminare utilmente l'oggetto) solo per un campo oggetto Co più piccolo od eguale alla superficie utile di Ob ; un raggio più inclinato (Y), che potrebbe illuminare un campo Co più grande, viene riflesso fuori da Ob e va perduto. Il campo massimo illuminabile non supera quindi le dimensioni dell'obbiettivo. Se l'oggetto è diffondente o irregolare, questo discorso perde molto di validità.

29.12 - ILLUMINAZIONE DIASCOPICA

Si potrebbe ripetere qui tutto quanto è stato detto per i microscopi normali, ma il minore ingrandimento e la minore apertura dello stereomicroscopio pongono esigenze assai meno stringenti. Basti pensare che normalmente non è necessario il condensatore e quindi neppure il diaframma di campo o la lente a grande campo, ecc.

29.12.1 - Fondo chiaro

In molti stereomicroscopi è presente come parte della base, o come accessorio da applicare, un semplice dispositivo diascopico costituito da una microlampada e da uno specchio.

La microlampada, ad asse orizzontale, può essere la medesima usata per l'episcopia, e spesso sono appunto previsti due diversi innesti per la stessa lampada. Si tratta di una lampada molto semplice, con un porta-lampada generalmente non centrabile (se sono previste ampolle pre-centrate, esse sono superflue, e molto più costose di quelle normali), ed un collettore semplice, spesso con una superficie smerigliata. Può esservi un mezzo per variare la distanza fra ampolla e collettore, ma questo ancora una volta non serve per avere un'immagine nitida del filamento ma per variare il diametro del fascio illuminante. Vi possono essere uno o più porta-filtri. Non serve il diaframma di campo.

Sotto al piano del tavolino, in asse con l'obbiettivo, e di fronte alla lampada, vi è uno specchio, spesso orientabile attorno ad un asse trasversale; lo specchio ha spesso due facce: una speculare ed una diffondente, al fine di allargare il fascio illuminante. Infatti, per illuminare entrambi i canali dello stereo, occorre un fascio ampio, che una semplice lampada stenta a fornire; certi costruttori (Zeiss) offrivano degli illuminatori doppi per microscopi stereoscopici: due lampade che convergono verso il piano oggetto formando fra di loro un angolo pari all'angolo di stereo e che illuminano in maniera centrata entrambi gli obbiettivi. Ma si tratta di raffinatezze poco frequentate.

Sopra lo specchio, al centro del tavolino o della base, è appoggiata una piastra di vetro, spesso smerigliata su un lato (faccia lucida in alto, visto che è più facile pulirla), su cui si pone l'oggetto trasparente. L'apertura del fascio dato da un vetro smerigliato è generalmente sufficiente a "riempire" l'apertura di un obbiettivo di stereomicroscopio.

29.12.2 - Fondo scuro

Un semplice illuminatore diascopico come quello appena descritto fornisce un fondo chiaro quando il fascio illuminante penetra almeno in parte in entrambi gli obbiettivi. Ma può fornire anche il fondo scuro se lo specchio è opportunamente disassato rispetto al campo oggetto ed inclinato; il fascio illuminante può allora giungere sull'oggetto obliquamente, quel tanto che basta da sfuggire al cono di apertura dell'obbiettivo. La piccola apertura di codesto cono negli stereomicroscopi rende semplice questo problema.

Spesso, gli stessi dispositivi diascopici che danno il fondo chiaro, possono convertirsi al campo scuro con un movimento od una sostituzione di specchi. Occorrerà in genere togliere il o i vetri smerigliati, per evitare che il fascio diffuso penetri nell'obbiettivo e tolga lo "scuro" al fondo dell'immagine. Si ottiene così un fondo scuro unilaterale.

Per un fondo scuro omnilaterale o anulare occorre un vero e proprio condensatore, generalmente a specchi (catottrico) come i condensatori "cardioidi" dei microscopi normali. Un tale condensatore si sistema nella o sulla base dello strumento.

29.13 - Lo STATIVO

Si può ripetere anche qui tutto ciò che è stato detto sulle parti meccaniche dei microscopi normali. Ma le esigenze di rigidità e di centratura dello stereomicroscopio sono assai minori, essenzialmente per il minore ingrandimento e la maggiore penetrazione. Tanto per dirne una, la messa a fuoco può essere fatta col movimento macrometrico e normalmente manca una micrometrica. Così manca tutta la meccanica relativa al condensatore; quella relativa alla microlampada è assai semplice.

I tubi a gomito sono già stati descritti, e differiscono dai normali tubi bioculari perché sono costituiti da due sistemi ottici appaiati con assi ottici non paralleli.

Dei vari tipi di revolver si è già parlato.

La maggior focale in genere dei sistemi ottici dello stereomicroscopio rende meno critiche le operazioni di centratura, specie quella intrinseca dell'obbiettivo; per contro, esistendo due sistemi ottici centrati su uno stesso campo oggetto, si aggiungono problemi di centratura che non esistono nei microscopi normali: alludiamo in particolare alla centratura reciproca dei due obbiettivi o dei sistemi intermedi; quando vi è un sistema zoom, è molto critico ottenere la parcentratura e la parfocalità dei due canali per tutta la corsa dello zoom; quando vi sono due o più sistemi galileiani (§ 29.7.3) anch'essi debbono essere tutti parcentrati e parfocali. L'allineamento di uno stereomicroscopio è dunque assai laborioso.

29.13.1 - Accessori speciali

Nel § 27.7.1 (fig. 109) è stato descritto un "**oculare per due osservatori**", ma questo accessorio serve poco in stereomicroscopia essendo monoculare. L'osservazione stereoscopica da parte di due persone si può fare nel nostro caso con un tubo intermedio speciale capace di trasportare entrambi i canali verso due coppie di tubi porta-oculari.

Esistono anche qui i "**tubi di confronto**" (vedi il § 27.7.2) che si appoggiano su uno solo dei due oculari di due distinti microscopi, e pertanto fanno perdere la visione stereoscopica.

Esistono dei **tubi intermedi** (da porre fra corpo e scatola prismi) contenenti due diaframmi ad iride a movimento sincrono; essi servono a ridurre l'apertura degli obbiettivi ed aumentare la profondità di fuoco, e sono preziosi in fotografia; però essi provocano tutti i fenomeni conseguenti ad una perdita di apertura e che già conosciamo (perdita di luminosità e risoluzione, essenzialmente).

Per l'osservazione su oggetti di grandi dimensioni, è possibile a volte "prolungare" il tubo binoculare con un tubo intermedio orizzontale lungo fino a 50 cm. Vi sono anche tubi intermedi per variare l'inclinazione del tubo binoculare o tubi ad inclinazione variabile con continuità, che vanno sotto il nome pomposo di "tubi ergonomici".

Esistono anche in stereomicroscopia gli "**oculari da disegno**" (§ 27.7.1, fig. 110) come anche i "**tubi da disegno**" (§ 27.7.2), i quali ovviamente operano su uno solo dei due canali stereo.

Vi sono poi tutti i dispositivi di misura già menzionati a suo tempo: **oculari micrometrici** e simili. Nella misura degli "**equivalenti micrometrici** (§ 12.3), un sistema zoom consente di ottenere dei valori interi, eliminando i decimali. Basta poi non variarne la regolazione …

Naturalmente, esistono tutti i possibili raccordi ed adattatori per riprese televisive e fotografiche, i quali ovviamente operano su uno solo dei due canali[210]. Durante la ripresa, alcuni modelli deflettono completamente il canale ripreso ed impediscono la visione binoculare. In altri casi, un gioco di semiriflettenti evita questa obliterazione. Vi sono anche raccordi che permettono di scegliere con una semplice manovra quale dei due canali utilizzare per la ripresa.

Si trovano poi molti accessori per alcune tecniche speciali:

◊◊ Radiazione polarizzata. Si tratta di accessori semplificati rispetto a quelli di un microscopio polarizzatore, se non altro perché la piccola apertura rende impossibile la conoscopia e quindi inutile la lente di Amici (§ 19.5.5) ed il condensatore. Come filtro polarizzatore per la diascopia, si adopera di solito un filtro Polaroid incollato fra dischi di vetro, da inserire nell'apposita finestra della base diascopica. Per l'episcopia, si può porre un polarizzatore sulla microlampada ma si ricordi che i polarizzatori del tipo "Polaroid" sono molto sensibili al calore ed inoltre la radiazione polarizzata in episcopia crea dei fenomeni assai complessi e difficili da interpretare.

L'analizzatore è contenuto in un anello che va fissato sotto l'obbiettivo. Raramente sono previsti dei compensatori. Quando la variazione della distanza interpupillare provoca una rotazione azimutale dell'immagine (§ 29.4.3), anche l'uso di un reticolo a croce diviene inutile.

---

[210] Sono stati realizzati (WILD, ad es.) dei sistemi fotografici per stereomicroscopi capaci di riprendere simultaneamente entrambe le immagini; tali coppie di fotografie, esaminate poi con un normale stereoscopio, possono ridare una visione con sensazione del rilievo dell'oggetto.

◊◊ Fluorescenza. Per la diascopia, si possono usare gli stessi filtri previsti per i microscopi normali, ma raramente la normale microlampada sarà sufficiente. Si può usare più facilmente la microlampada prevista per l'illuminazione episcopica obliqua. I filtri di eccitazione andranno posti davanti alla lampada; quelli di arresto sotto l'obbiettivo o sopra l'oculare. Esistono però dei tubi intermedi contenenti uno specchio semiriflettente dicromatico, come si usa nei microscopi normali per la fluorescenza in episcopia. L'unica differenza è che tutto il sistema deve essere doppio. In questi casi può essere prevista una lampada speciale, ad arco, a vapori di mercurio. In realtà, c'è un'altra differenza: l'apertura dell'obbiettivo è piccola e così avverrà della resa fotometrica del sistema.

L'osservazione della fluorescenza al microscopio stereoscopico è utilizzata, per es., nello studio dei pigmenti durante il restauro di quadri antichi, nello studio delle falsificazioni o alterazioni della scrittura di manoscritti, nello studio di minerali e gemme.

◊◊ Illuminazione in infrarosso: con opportuni filtri ed una normale microlampada non è difficile illuminare un oggetto nella banda IR; per avere un'immagine visibile occorrerà sistemare in luogo di ognuno dei due oculari un "convertitore d'immagine" (PZO, Wild, ecc.). Queste osservazioni servono ancora per rivelare alterazioni di manoscritti, documenti, ecc.

29.13.2 - Tavolini

Sul microscopio stereoscopico è possibile applicare, almeno con i migliori costruttori, tutti i tavolini previsti per i microscopi normali (§ 26): fissi, con e senza guida-oggetti (§ 26.2), girevoli (§ 26.3) anche centrabili (specie per l'uso in radiazione polarizzata), traslatori (§ 26.4), a sfregamento grasso o a scivolamento (§ 26.6), ecc.

Vi sono però un paio di tipi che sono più o meno esclusivi dei microscopi stereoscopici:

◊◊ Traslatori di grandi dimensioni: si tratta in sostanza di traslatori in cui la corsa X ed Y è molto grande (fino a 500 mm). Il centro del tavolino deve portare una piastra di appoggio (in vetro per la diascopia) con i lati almeno uguali alla due corse X ed Y . Il movimento può avvenire a mano (a scivolamento o con cremagliera), o motorizzato; a volte il movimento è "digitizzato", cioè trasformato da appositi "codificatori" in impulsi elettrici digitali che un opportuno circuito può elaborare in modo da programmare i movimenti del tavolino stesso. Tali tavolini sono usati per lo studio di grandi circuiti stampati, piastre di silicio per semiconduttori, ecc. Per quest'ultima applicazione, i grandi traslatori sono ora presenti anche in molti microscopi episcopici mono-obbiettivo.

Per consentire i movimenti del traslatore, la distanza fra asse ottico e colonna verticale di supporto del sistema ottico deve essere almeno pari allo spostamento Y (sagittale) del traslatore stesso. Lo stativo andrà dimensionato di conseguenza.

◊◊ A rotula: si tratta di congegni su cui è possibile poggiare o fissare l'oggetto, e che possono venir inclinati in tutte le direzioni. Nel tipo più semplice, si tratta di una semi-sfera (in metallo o plastica) di qualche centimetro di diametro, poggiata sull'orlo di un foro circolare, presente nella base o in apposito raccordo. Se il foro è centrato, il centro di rotazione della semi-sfera si trova sull'asse del sistema e, se l'oggetto è piccolo e poggiato sul centro della semisfera, non si sposta ruotando la medesima e "non va fuori fuoco": semplicemente ruota attorno a se stesso. È un metodo semplice e comodo per osservare da tutti i lati un oggetto piccolo.

Bisogna comunque ammettere che, normalmente, in uno stereomicroscopio, non si sente il bisogno di un tavolino traslatore: basta una piastra di appoggio su cui spostare a mano l'oggetto.

29.13.3 - Modelli speciali

La semplicità d'uso dello stereomicroscopio e la vastità delle sue applicazioni hanno stimolato la creazione di molteplici modelli destinati a risolvere problemi particolari.

Possiamo solo accennare ad alcuni tipi, legati a due gruppi principali di applicazioni.

◊◊ Lavorazioni meccaniche, elettroniche, ecc. Esistono "modelli d'officina", dotati di supporti particolari, che consentono di portare lo strumento molto lontano dal punto di appoggio e di spostarlo rapidamente. Vi sono supporti da tavolo con una pesante base ed un braccio orizzontale a sbalzo lungo anche più di 500 mm (vedi la fig. 116 nel § 29.5); la distanza fra l'asse di osservazione e la colonna di supporto indica la dimensione massima dell'oggetto osservabile. Vi sono supporti "a pinza", in cui la colonna di supporto verticale è fissata all'orlo del piano del tavolo con una robusta pinza. Vi sono supporti a colonna in cui la colonna verticale poggia sul pavimento tramite tre piedi dotati di ruote; vi sono perfino modelli fissati ad un carrello per spostamenti rapidi su grandi distanze.

Tutti questi supporti devono anche consentire un orientamento del microscopio in tutte le direzioni, in modo da permettere l'osservazione di superfici variamente inclinate. Per superfici vicine alla verticale, possono essere previsti tubi binoculari diritti, che mettono gli oculari in linea con gli obbiettivi. Vi sono anche tubi "ergonomici", cioè ad inclinazione variabile, già citati, che consentono la più comoda posizione del capo indipendentemente dall'inclinazione dell'obbiettivo; essi contengono un complesso gioco di prismi, il che ne aumenta il prezzo ed il peso.

Quando l'oggetto non è facilmente accessibile, sono previsti modelli a grande distanza di lavoro WD , anche più di un metro; si parla allora di "tele-microscopi", che sconfinano, a parte l'effetto stereoscopico, con il catetometro[211]. L'aumento di WD va ovviamente a scapito dell'angolo di stereo (riduzione dell'effetto stereoscopico) ma anche della risoluzione (riduzione dell'apertura). In certi casi, la messa a fuoco non si fa spostando lo strumento nel suo complesso rispetto all'oggetto (il supporto è assai pesante), ma con mezzi ottici interni allo strumento, come un sistema pancratico. La distanza oggetto-obbiettivo (oggetto-microscopio) rimane così costante.

Per gli spostamenti del microscopio rispetto al braccio di supporto, per es. al fine di variarne l'orientamento, e del braccio rispetto alla colonna, vi sono vari snodi, che debbono presentare il minor attrito possibile; quando lo strumento è arrivato in posizione di lavoro, gli snodi vanno però bloccati per evitare spostamenti involontari. Il blocco può essere meccanico (viti, leve, ecc.), elettromeccanico (frizioni elettromagnetiche), ecc. Il sistema elettromagnetico è assai comodo perché permette, con un solo pulsante, di bloccare simultaneamente tutti gli snodi.

Nei migliori strumenti, il microscopio contiene o porta molti accessori: lampade di vario tipo, spesso coassiali, macchina fotografica, illuminatore flash, tubo per un secondo osservatore (monoculare o binoculare), telecamera per la visione a distanza da parte di allievi o apprendisti, ecc.

◊◊ Applicazioni mediche, cliniche, chirurgiche. Ciò vale per la neurochirurgia, l'otoiatria, l'oculistica (in abbinamento con la "lampada a fessura"), la microchirurgia in

[211] Il catetometro è un piccolo cannocchiale, che può essere focalizzato su distanze anche modeste, ed è portato da un supporto speciale che gli consente di muoversi in orizzontale ed in verticale, sempre perpendicolarmente al suo asse ottico. Focalizzandolo e spostandolo in modo da portare al centro del suo campo visivo (indicato da apposito crocefilo oculare) vari punti di un oggetto anche lontano, e misurando su apposite scale l'ampiezza dei suoi movimenti, il catetometro permette di misurare in un sistema cartesiano le distanze fra punti qualunque dell'oggetto, naturalmente supponendo l'oggetto proiettato sul piano in cui si svolgono i movimenti dello strumento.

genere, la ginecologia ("**colposcopi**"), la dermatologia. Si può parlare globalmente di "**microscopi operatòri**".

Le prestazioni particolari assomigliano a quelle già citate, con particolare accento sul tubo per secondo osservatore (l'assistente chirurgo), sulla lampada coassiale, sulla scorrevolezza dei movimenti del supporto, sulla stabilità della messa a fuoco, ecc. La colonna contiene spesso gli alimentatori per la lampada ed il flash e deve essere molto pesante per garantire la stabilità: infatti gli strumenti, già appesantiti dal gran numero di accessori, debbono spesso essere portati su un letto clinico o un tavolo operatorio, quindi con notevole sbalzo.

30 - LE TECNICHE SPECIALI

Finora si è parlato di "microscopia generale", cioè dei princìpi fisici e delle soluzioni tecniche comuni a tutti i microscopi.

Ora trattiamo di "microscopia speciale", cioè di soluzioni tecniche che sfruttano fenomeni ottici particolari e si adattano a categorie speciali di oggetti pur potendosi utilizzare sulla maggior parte dei microscopi. Ci limiteremo a pochi cenni (vedi vari articoli in questo sito).

La prima tecnica speciale di cui parliamo si rivolge ad oggetti opachi; le successive si possono chiamare globalmente "tecniche di contrasto" poiché tendono a dare immagini più contrastate di un oggetto quando questo appaia con poco contrasto; in massima parte, queste altre tecniche speciali si applicano sia ad oggetti trasparenti che opachi.

Dunque le tecniche speciali sono mirate ad oggetti anche trasparentissimi o lucidati (se opachi), e forniscono immagini dotate di contrasti e colori che non esistono nell'oggetto; tali contrasti mostrano dettagli e strutture che altrimenti sarebbero poco o punto visibili. Si può dire che, con queste tecniche, le caratteristiche dell'immagine finale dipendono più dallo strumento che dall'oggetto, e tali caratteristiche rivelano caratteristiche fisiche e strutture particolari dell'oggetto, invisibili con uno strumento normale.

Alcune tecniche speciali, inoltre, offrono la possibilità di eseguire sugli oggetti delle misure di taluni parametri fisici (micro-refrattometria, comportamento in radiazione polarizzata, micro-durimetria, ecc.) ed analisi chimiche selettive (fluorescenza, spettrofotometria, ad es.). Il microscopio passa dunque da strumento d'osservazione a strumento di misura (art. n° 24).

Esamineremo anche alcuni problemi legati alla registrazione delle immagini con mezzi fotografici e televisivi ed alla loro proiezione.

La letteratura tecnica sull'argomento è vastissima; rimandiamo al testo di Beyer e Riesenberg, citato in bibliografia, e ad alcuni articoli presenti in questa sezione. Qui possiamo esporre solo alcuni concetti sommari, utili come orientamento per la scelta e l'uso di queste tecniche.

30.1 - EPISCOPIA
(artt. n° A4, 2, 8, 35)

È detta anche *illuminazione verticale* o *illuminazione incidente* o *luce riflessa*.

Si rivolge in particolare ad oggetti opachi (senza escludere quelli trasparenti di cui si desideri osservare la sola superficie), come leghe metalliche, carbone, materiali ceramici, microcircuiti, oppure ad oggetti che non si intende o non si possono tagliare in fette sufficientemente sottili da poter essere osservate per trasparenza, come rocce, organi animali e vegetali, ecc.

Le osservazioni normali (in "luce trasmessa") vengono effettuate in diascopia, illuminando l'oggetto per trasparenza; questo presuppone che l'oggetto sia trasparente, anche diffondente, possibilmente sottile. Se l'oggetto è invece opaco o non abbastanza sottile, occorre illuminarlo "da sopra", dalla stessa parte da cui lo si osserva. Si è già visto (§ 29.11.1)

come, nel microscopio stereoscopico, data la forte distanza di lavoro, è facile illuminare l'oggetto da sopra o di lato con una qualunque lampada; l'immagine è formata dalla radiazione diffusa dall'oggetto, come avviene nell'esperienza quotidiana per la maggioranza degli oggetti.

Ma ora dobbiamo fare una distinzione. L'obbiettivo posto davanti all'oggetto accetta, per ogni punto di quest'ultimo, un fascio conico di radiazione con una certa apertura massima, che è appunto l'apertura utile dell'obbiettivo. Si guardi, ad es., la fig. 29 (§ 8.5) in cui sono indicati i limiti del fascio, prima convergente e poi divergente, che proviene dal condensatore K ed è accettato dall'obbiettivo Ob. La fig. 29 schematizza una normale osservazione in diascopia in fondo chiaro: l'apertura del fascio illuminante è la stessa, o di poco inferiore, all'apertura del fascio che può entrare nell'obbiettivo per poi formare l'immagine intermedia.

Ebbene, in episcopìa si può avere la stessa situazione, con la differenza che il fascio illuminante può giungere "da sopra", cioè attraverso l'obbiettivo medesimo. Confrontando la fig. 29 con la 122, si vede che la metà inferiore della fig. 29 (condensatore K e fascio convergente I) va riflessa specularmente verso l'alto rispetto al piano oggetto O. Dunque, l'obbiettivo di fig. 122 svolge anche le funzioni di condensatore e fornisce esso stesso il fascio illuminante.

Naturalmente, se l'oggetto presenta all'obbiettivo una superficie piana, più o meno levigata e perpendicolare all'asse ottico, il fascio illuminante viene riflesso verso l'alto dalla superficie stessa e rientra nell'obbiettivo fornendo un "fondo chiaro" all'immagine. Se la superficie dell'oggetto non è semplicemente speculare, ma presenta delle irregolarità, delle "strutture", tali irregolarità devieranno o diffonderanno una parte almeno del fascio illuminante ed esse appariranno più scure rispetto al "fondo chiaro" dell'immagine .

È questo il caso dell'osservazione di campioni di materiali duri da cui si sia ricavata una superficie piana e levigata (rocce, leghe metalliche, carboni, ceramiche, semiconduttori, ecc.).

Questa episcopia in fondo chiaro si può effettuare, in linea di principio, con obbiettivi normali. Poiché l'obbiettivo funziona anche da condensatore, ogni volta che si cambia obbiettivo si è certi di avere un condensatore colla stessa focale e la stessa apertura, e per giunta con ottime correzioni.

Naturalmente, si presenta il problema di sistemare, davanti a questo condensatore = obbiettivo, una microlampada con caratteristiche adatte; una tale microlampada dovrebbe stare sopra l'obbiettivo, proprio dove si deve formare l'immagine intermedia. Occorre allora separare i due cammini, quello illuminante e quello formatore d'immagine. Ciò si ottiene con una superficie semiriflettente ("splitter") disposta a 45° rispetto all'asse ottico: è la superficie E di fig. 122. A sinistra di essa, con asse orizzontale, la microlampada, con un'ampolla ad incandescenza o ad arco ("sorg."), un collettore, eventuali filtri (B). Si può dimostrare che la resa fotometrica del dispositivo non può superare il 25 % e tale valore si ottiene solo se il semiriflettente E ha un potere riflettente uguale al potere trasmittente, entrambi pari a 50 %: la metà del flusso va perduta per trasmissione nel tragitto dalla sorgente all'obbiettivo; l'altra metà viene di nuovo dimezzata quando il fascio riflesso dall'oggetto traversa di nuovo E per formare l'immagine intermedia.

Generalmente, si fa in modo che il collettore proietti un'immagine del corpo luminoso sulla pupilla d'uscita dell'obbiettivo (che ora funziona da pupilla d'ingresso del condensatore). È quanto avviene nell'illuminatore di Köhler in diascopia. Nel nostro caso però non si può regolare l'apertura del condensatore poiché esso coincide coll'obbiettivo e si diaframmerebbe quest'ultimo. E questo, si sa, non sta bene.

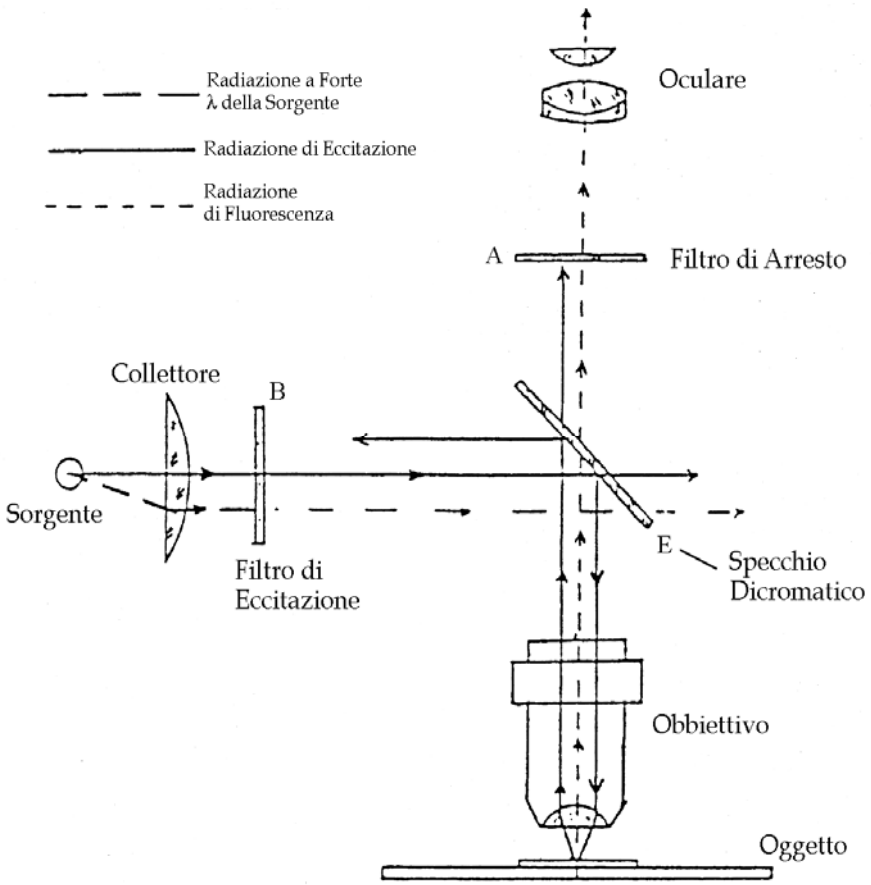


Fig. 122 - Schema di episcopia. Alcune parti (A e B) sono essenziali solo per le applicazioni in fluorescenza (vedi oltre); anche il semiriflettente E è "dicromatico" solo in fluorescenza, mentre è neutro in episcopia semplice.

Nei sistemi di buona qualità si fa allora in modo che il collettore proietti un'immagine del filamento in un piano posto molto prima dell'obbiettivo (e dello splitter E); qui si pone il diaframma d'apertura; una successiva lente di trasporto, o lente relé, trasferisce nella pupilla d'obbiettivo una seconda immagine del filamento ed una prima immagine del diaframma. Così si regola l'apertura del fascio illuminante senza ridurre e senza interferire con l'apertura dell'obbiettivo.

Poiché l'obbiettivo funge anche da condensatore, l'apertura del condensatore è sempre adatta a quella dell'obbiettivo (come si ricorderà, in diascopia c'è sempre il problema di sostituire tutto il condensatore o almeno di modificare l'apertura massima di esso per adattarla a quella dell'obbiettivo). Ma rimane il fatto che i vari obbiettivi di un corredo hanno una diversa focale ed un diverso diametro della pupilla d'uscita (che in questo caso coincide con la pupilla d'ingresso del condensatore). Pertanto, visto che l'illuminatore è fisso e produce un'immagine del filamento di dimensioni costanti, ne verrà che tale immagine sarà troppo grande per gli obbiettivi più forti (a pupilla più piccola)(quindi, perdita fotometrica) e forse troppo piccola per gli obbiettivi più deboli. È bene quindi regolare il diaframma d'apertura ogni volta che si cambia obbiettivo, ma il criterio valido in diascopia (chiudendo quel diaframma aumenta il contrasto e si riduce la risoluzione) diviene più complesso in relazione al potere riflettente ed alla planeità della superficie dell'oggetto ed in relazione alla quantità di radiazione riflessa dalle lenti dell'obbiettivo, a sua volta dipendente dalla struttura dell'obbiettivo stesso, dai trattamenti antiriflettenti, ecc. Occorre procedere per tentativi.

Del resto, visto che gli obbiettivi più deboli hanno la pupilla più grande, per essi conviene aprire di più il diaframma d'apertura: il contrario di quanto si fa in diascopia.

Caso per caso, andrà controllato che l'immagine del diaframma d'apertura sia a fuoco

nella pupilla d'obbiettivo (in genere è il costruttore a predisporre questo) e sia centrata rispetto ad essa; a questo deve provvedere l'utente, in genere a mezzo di apposite chiavette. Il controllo è facile: si inserisce un obbiettivo di ingrandimento medio; si poggia un pezzo di carta sul tavolino e lo si abbassa di almeno 2 cm; sulla carta si vedrà un'immagine ingrandita del filamento, che sarà possibile centrare rispetto all'orlo della pupilla d'obbiettivo (che viene proiettato anch'esso sulla carta); si vedrà anche l'orlo del diaframma d'apertura (manovrarlo per vedere le modificazioni della sua immagine) e se ne controllerà la centratura. A volte il filamento è "precentrato", a condizione che si usino le apposite lampadine; altrimenti vi saranno appositi comandi; invece per il diaframma d'apertura esistono sempre piccole viti di regolazione con o senza chiavetta, per la centratura.

Il controllo appena descritto consente anche di verificare che l'immagine del filamento non sia più piccola della massima apertura del diaframma d'apertura.

Il diaframma di campo si può porre, come di norma, presso il collettore ed allora il condensatore (cioè l'obbiettivo) ne forma un'immagine reale impiccolita nel piano dell'oggetto. È così possibile regolare anche il campo illuminato. Ma c'è un vantaggio rispetto alla diascopia: infatti, in quest'ultima condizione, il condensatore è fisso e forma un'immagine del diaframma di campo con ingrandimento fisso; per variare il campo illuminato occorre regolare il diaframma stesso o modificare il condensatore. Quando si cambia l'obbiettivo (e quindi il diametro del campo oggetto) occorre effettuare una di quelle regolazioni.

Invece, in episcopia, quando si cambia obbiettivo si cambia anche condensatore ed i due hanno per forza la stessa focale: il campo illuminato ed il campo oggetto variano nella stessa misura. In sostanza, quando si cambia obbiettivo, non si deve regolare né diaframma di campo né condensatore. L'obbiettivo rappresenta in un microscopio episcopico un condensatore sempre perfettamente adattato all'obbiettivo stesso, sempre centrato, con ottime correzioni.

Anche per il diaframma di campo illuminato vi sarà un problema di messa a fuoco, in genere predisposta dal costruttore e stabilmente valida, ed un problema di centratura (vedi oltre). Il controllo si esegue semplicemente osservando attraverso il microscopio un oggetto piano e chiudendo tale diaframma il cui orlo apparirà nel campo visuale. Si centri con gli appositi comandi e poi si riapra il diaframma quel tanto che basta e nulla più; nei casi di scarso contrasto, una ulteriore chiusura di quel diaframma porta ad una riduzione della luce diffusa. In genere, sempre per l'identità fra condensatore ed obbiettivo, la centratura eseguita per un obbiettivo resterà valida per tutti gli altri.

Lo schema di fig. 122 si applica anche agli obbiettivi forti, anche ad immersione, cioè quando la distanza libera fra obbiettivo ed oggetto si riduce a pochi decimi di millimetro. Ma questo schema ha un'inconveniente: il fascio illuminante che lo specchio E rimanda verso l'obbiettivo subisce una parziale riflessione sia ad ogni superficie delle lenti, sia alla superficie eventualmente lucida dell'oggetto. Tutti questi riflessi diretti verso l'oculare producono molta luce diffusa che si sovrappone all'immagine utile e ne abbassa gravemente il contrasto.

I rimedi a questo stato di cose sono:

— eliminare il vetrino coprioggetto (lamella): è una superficie in meno. Gli obbiettivi episcopici sono infatti calcolati per lavorare senza lamella e portano l'indicazione "0" oppure "d = 0" (in cui d è lo spessore previsto della lamella). Tali obbiettivi non possono essere usati con preparati coperti da lamella, pena l'insorgenza di aberrazione sferica (perdita di definizione), che cresce col cubo dell'apertura dell'obbiettivo; questo limite è tassativo per aperture maggiori di 0,4 ;

— usare l'immersione: il riflesso sulla superficie dell'oggetto e sulla superficie esterna della lente frontale è tanto più debole quanto più l'indice di rifrazione dell'olio è simile a

quello dell'oggetto e della lente. Per molti minerali ad indice elevato (1,6 - 1,8) sono previsti obbiettivi ad immersione con olio ad alto indice (ioduro di metile, monobromonaftalene, ecc.);

— curare i trattamenti antiriflettenti (§ 17.1.2); questo naturalmente spetta al costruttore;

— illuminare l'oggetto non con uno splitter (E in fig. 122) che occupa tutta la pupilla d'obbiettivo, ma con un prisma che ne occupa solo una parte (P in fig. 123). Il riflesso dato da questa porzione marginale può concorrere nell'immagine intermedia ma è assai più modesto. A volte, è possibile scegliere con rapida manovra fra prisma e semiriflettente;

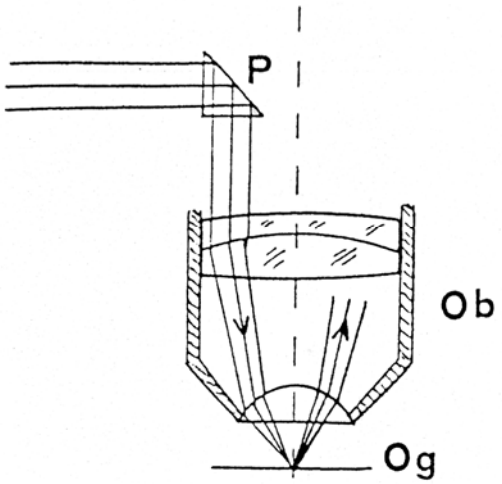


Fig. 123 - Illuminazione episcopica a prisma

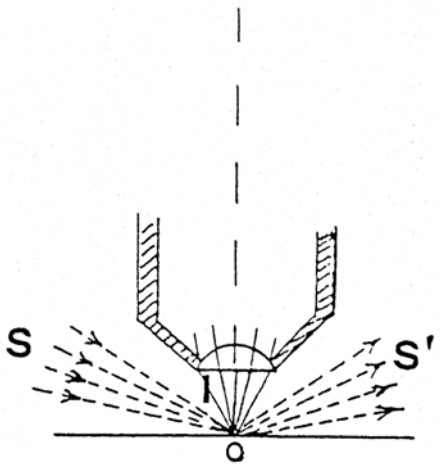


Fig. 124 - Illuminazione episcopica in fondo scuro

— obliterare parzialmente il diaframma d'apertura (spesso esiste a questo fine un diaframma decentrabile). Si ottiene un risultato simile a quello di fig. 123, cioè un fascio illuminante obliquo, ma senza obliterare la pupilla d'obbiettivo. L'illuminazione del campo oggetto sarà spesso poco uniforme, ma tecnicamente questa soluzione è semplice e può essere efficace;

— interporre due filtri polarizzanti (vedi i §§ 23.2 e 30.7), uno prima dello splitter (per es. in B , fig. 122), l'altro sopra lo splitter (per es. in A , stessa figura). Il primo filtro ("polarizzatore" in senso stretto) avrà la direzione di vibrazione perpendicolare al piano d'incidenza sullo splitter, in modo da accordarsi col potere polarizzante dello specchio. L'oggetto e l'obbiettivo sono così colpiti da radiazione polarizzata. I riflessi da essi prodotti, ancora polarizzati, giungono sul secondo filtro ("analizzatore"), il quale sarà in "estinzione", cioè col piano di vibrazione perpendicolare a quello del polarizzatore: il riflesso verrà estinto. Con questa disposizione, il riflesso della superficie di un oggetto levigato scompare e si vedranno solo quelle strutture dell'oggetto, spesso quelle situate sotto la sua superficie lucida, che diffondono la luce e la depolarizzano. L'immagine risulterà spesso un po' scura, ma assai diversa da quella fornita dai dispositivi precedenti e più contrastata.

Nella scelta di uno strumento per l'episcopia è bene assicurarsi che almeno una parte di queste disposizioni sia realizzabile. Ogni costruttore offre soluzioni diverse, e per ogni tipo di oggetto occorre scegliere la tecnica adatta.

Su un microscopio episcopico è poi possibile applicare in linea di principio tutte le tecniche speciali descritte sotto (fluorescenza, contrasto di fase, contrasto interferenziale, polarizzazione, ecc.) con appositi accessori, troppo vari e complessi da poter essere illustrati in questa sede.

Come si è detto sopra, il semi-riflettente viene interessato due volte: prima dal fascio

illuminante (prima di entrare nell'obbiettivo), poi dal fascio formatore d'immagine, riflesso o diffuso dall'oggetto e diretto all'oculare. Ogni volta, una parte della radiazione va perduta. Si è già spiegato come il massimo rendimento fotometrico globale possibile è del 25 % (con oggetto totalmente riflettente) e lo si ha quando il rapporto riflessione/trasmissione è del 50 %; supponendo nulle le perdite per assorbimento, diffusione, ecc. L'immagine in episcopia è quindi in genere poco luminosa. Se l'oggetto è diffondente, si osserverà anche un'ulteriore perdita di luminosità con gli obbiettivi più deboli: ciò è dovuto al fatto che un obbiettivo episcopico debole equivale ad un condensatore a piccola apertura e quindi ad un debole flusso sull'oggetto ed il flusso diffuso dall'oggetto (su un ampio angolo solido) in gran parte non viene recuperato dall'obbiettivo. Se invece l'oggetto è perfettamente riflettente (e perpendicolare all'asse ottico), la luminosità finale non dipende dall'obbiettivo in uso poiché l'apertura del condensatore e dell'obbiettivo sono necessariamente identiche.

La superficie semi-riflettente discussa finora, contenuta nell'illuminatore episcopico, può essere rappresentata da una delle facce di una lamina in vetro a facce piane e parallele; l'altra faccia porterà in genere un buon trattamento anti-riflettente per ridurre i riflessi indesiderati (luce diffusa) e la formazione di una doppia immagine della sorgente, dei diaframmi, ecc. Questa è la soluzione più economica ma ha un inconveniente: la presenza di una lamina a facce piane nel fascio formatore d'immagine, lamina non perpendicolare all'asse, induce la formazione di piccoli residui di astigmatismo non simmetrico, che nuocciono alla definizione dell'immagine, anche in asse.

In alternativa, la superficie semi-riflettente viene ricavata dalla faccia diagonale interna di un prisma cubico composto da due semi-prismi con sezione a forma di triangolo rettangolo isoscele (vedi la fig. 34 C, § 11); questa soluzione introduce una lamina di forte spessore sopra l'obbiettivo e perciò è generalmente usata con obbiettivi "a seconda coniugata infinita" che non ricevono danno dall'introduzione di un tale spessore di vetro (§ 3.2.3); essa inoltre elimina il problema dei riflessi sulla seconda faccia. Si elimina così anche il problema dell'astigmatismo. In certi casi (Jena, ecc.) il prisma mostra però le due facce d'ingresso e d'uscita non perfettamente perpendicolari all'asse: ciò ha lo scopo di portare fuori dal fascio utile il riflesso di quelle due facce (solito problema della luce diffusa), ma si ripresenta il problema dell'astigmatismo, molto ridotto invero per il fatto che le due facce del prisma non sono inclinate di 45° rispetto all'asse, ma di quasi 90°.

30.1.1 - L'episcopia in fondo scuro

Se l'oggetto è piano, perpendicolare all'asse e più o meno levigato, il fascio illuminante che incide sull'oggetto viene almeno in parte riflesso verso l'obbiettivo e forma l'immagine intermedia, la quale quindi presenterà un "fondo chiaro"; su questo si vedranno, più o meno scure, quelle strutture dell'oggetto, quelle irregolarità della sua superficie, che diffondono od assorbono il fascio illuminante.

Il riflesso della superficie lucida dell'oggetto, abbiamo detto, non produce di per sé alcun contrasto.

Ma osserviamo la fig. 124: I indica il fascio di massima apertura accettato dall'obbiettivo, quello che poi forma l'immagine intermedia. Al di fuori di esso, vi è uno spazio a forma di cono cavo (S) che comprende tutti i valori di apertura esterni al fascio I . Se noi illuminiamo l'oggetto (Og) con un fascio, possibilmente convergente in O , si avrà un fascio riflesso S' che rimane ancora esterno al fascio I (se la superficie dell'oggetto è riflettente e perpendicolare all'asse ottico). Dunque il fascio illuminante, anche dopo la

riflessione sull'oggetto, non penetra nell'obbiettivo ed il fondo dell'immagine appare nero ("fondo scuro"). Su tale fondo si vedrà più o meno chiara ogni struttura ed irregolarità dell'oggetto capace di riflettere o diffondere un po' di luce in direzione dell'obbiettivo, all'interno del fascio I . Poiché il fascio illuminante non traversa l'obbiettivo, viene a cadere il problema dei riflessi sulle lenti e la conseguente perdita di contrasto.

Quando l'oggetto è molto irregolare e diffondente, la distinzione fra fondo chiaro e scuro viene in buona parte a cadere: in questo caso, da qualunque parte provenga il fascio illuminante, l'immagine sarà formata solo dalla radiazione diffusa. Il problema del riflesso sull'oggetto scompare; nel caso del campo chiaro rimane il problema del riflesso sulle lenti, per cui il fondo scuro darà in genere un miglior contrasto.

Per il fondo scuro si tratta allora di creare un fascio molto inclinato (S in fig. 124), possibilmente convergente sul centro del campo (O), possibilmente proveniente da tutte le direzioni: un fascio anulare dunque, anzi conico. Ciò si ottiene realizzando con specchi, lenti, od entrambi, un condensatore anulare che circonda l'obbiettivo. Tale condensatore riceve un fascio illuminante anulare, a forma di cilindro cavo, che è prodotto da una lampada speciale posta di lato, sopra l'obbiettivo, ed è riflesso verso il basso da uno specchio anulare, sempre inclinato di 45° sull'asse. Attraverso il foro centrale di tale specchio passa il fascio emergente dall'obbiettivo, che andrà a formare l'immagine intermedia.

Il condensatore anulare di solito fa corpo unico con l'obbiettivo, il quale assume così un diametro assai superiore al normale. Anche l'attacco dell'obbiettivo è più grande del normale: o si tratta di un passo di vite maggiorato (M 30, ad es.) o di un attacco a slitta. Se vi è un revolver (le slitte in genere portano un solo obbiettivo), dovrà portare fori anch'essi maggiorati.

Questi obbiettivi per episcopia in fondo scuro possono essere utilizzati anche per il campo chiaro ed esistono strumenti con un sistema illuminante complesso, capace di servire per il campo chiaro, come quello di fig. 122, con splitter e/o prisma, ed anche per il fondo scuro, con specchio anulare. Naturalmente, come per tutti gli obbiettivi episcopici, almeno per quelli forti, è escluso l'esame di normali vetrini con coprioggetto. Sono possibili osservazioni in immersione con gli appositi obbiettivi.

L'illuminatore episcopico, assieme agli obbiettivi speciali da usare senza lamella, distingue allora il microscopio episcopico da quello diascopico. L'illuminatore esiste essenzialmente in due versioni:

1) Accessorio speciale da inserire fra estremità del braccio e tubo porta-oculari, quindi poco sopra il revolver. Lo stativo è spesso di tipo normale (§ 25).

2) Sistema integrato, contenuto nella colonna o nel braccio (§ 27.1.3). Si tratta di stativi specificamente concepiti, che possono però, se il costruttore lo ha previsto, essere usati anche in diascopìa o con altre tecniche.

L'utilità dell'episcopia è ben nota nel campo della metallografia, dove è l'unica tecnica applicabile, della petrografia, dei semiconduttori (circuiti integrati, ecc.), ma è quasi ignorata dai naturalisti, che invece ne avrebbero gran vantaggio nell'osservazione delle strutture superficiali degli organi (rilievi dell'epidermide, stomi, peli, parassiti di superficie, sculture della cuticola degli insetti, setole, ecc.). Tale osservazione normalmente viene eseguita con il microscopio stereoscopico (§ 29) ma col limite di ingrandimento che si è detto (50 – 100 × totali), mentre l'epimicroscopio consente l'uso anche degli obbiettivi ad immersione.

30.1.2 - Stativi rovesciati

Quando l'oggetto è grande e pesante, e di forma irregolare (campione di roccia, ad es.) non è comodo poggiarlo su un tavolino normale ed osservarlo dall'alto.

A parte la necessità di abbassare il tavolino, occorre servirsi di qualche sostegno che tenga ben orientato l'oggetto, colla superficie lucidata perpendicolare all'asse ottico[212]. Ma è più pratico uno stativo "rovesciato" in cui l'asse ottico è ripiegato da opportuni prismi in modo che l'obbiettivo (e la sua lente frontale) sia voltato verso l'alto: obbiettivo e revolver sono sistemati SOTTO al tavolino e guardano l'oggetto da sotto. La superficie lucida dell'oggetto si poggia direttamente sul tavolino, il quale ne assicura il corretto orientamento senza altri interventi. Questo schema rovesciato, che porta il nome di Le Chatelier, normalmente si può usare solo in episcopia poiché è dedicato all'osservazione di campioni metallografici di grandi dimensioni. Ma si può usare anche in diascopia (culture, microacquari) se vi è un sistema illuminante sopra il tavolino: si può osservare quindi, da sotto, il fondo del recipiente, dove si raccolgono spesso cellule e microrganismi. Vedi il § 27.1.5.

Con gli stativi rovesciati in episcopìa, la forma e le dimensioni dell'oggetto possono variare entro ampi limiti: è sufficiente che l'oggetto presenti una superficie piana, generalmente lucida, da poggiare sul tavolino.

La messa a fuoco in questi stativi è spesso affidata al movimento del revolver, ma non mancano stativi in cui a muoversi è il tavolino.

Il fascio che emerge dall'obbiettivo è diretto in basso. Per ragioni di comodità, gli oculari debbono ancora essere rivolti in modo che l'osservatore guardi verso il basso: con opportuni specchi o prismi a riflessione interna, il fascio formatore d'immagine viene orientato verso l'alto, cioè verso gli oculari.

Sui lati della base, vi saranno spesso attacchi per microcamere, telecamere, ecc.

30.2 - Il FONDO SCURO e l'ILLUMINAZIONE OBLIQUA in DIASCOPIA (art. n° 33 e 35)

Iniziamo ora l'esame delle "tecniche di contrasto". Esse sono nate fin dai primordi della microscopia per consentire l'esame di oggetti di per sé poco contrastati: cellule isolate, microrganismi, sezioni di tessuti, ecc.

Tali oggetti vengono normalmente resi contrastati a mezzo di colorazioni selettive, cioè trattando l'oggetto con coloranti capaci di fissarsi specificamente su certe parti dell'oggetto e solo su quelle. La colorazione però in genere uccide le cellule e va preceduta da una "fissazione", cioè un trattamento chimico preventivo che uccide rapidamente e conserva la struttura dell'oggetto. In ogni caso, la colorazione è un procedimento lento ed a volte complesso. Per un'osservazione rapida, anche su oggetti viventi, si cerca quindi di modificare l'immagine con mezzi ottici, senza intervenire sull'oggetto stesso. Il mezzo più semplice è il "campo scuro".

---

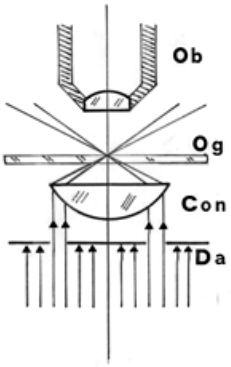
[212] A volte basta una piastra rivestita di plastilina, su cui l'oggetto viene posizionato correttamente a mezzo di una piccola pressa.

Si è già parlato del fondo scuro in episcopia, dedicato ad oggetti opachi; questo tipo di illuminazione si può applicare anche ad oggetti trasparenti: è quello che si chiamava, quando fu introdotto, "ultra-microscopia". Il suo primo scopo era l'osservazione di particelle minutissime in sospensione in un liquido. L'illuminazione laterale era ottenuta con differenti soluzioni pratiche capaci di illuminare l'oggetto con un fascio radente, da un lato solo ("unilaterale") o da tutti i lati ("omnilaterale").

Ma il fondo scuro si può ottenere anche in diascopia, cioè con oggetti trasparenti illuminati con un fascio di forte inclinazione che giunga sempre di lato, ma da sotto il piano oggetto. L'oggetto apparirà luminoso poiché diffonde in direzione dell'obbiettivo una parte della radiazione che lo colpisce, ma il fondo dell'immagine sarà ancora scuro poiché il fascio illuminante avrà un'apertura maggiore di quella massima dell'obbiettivo e sfuggirà ad esso. Il contrasto è così molto forte. Per un **fondo scuro unilaterale** in diascopia occorre solo un sistema ottico capace di fornire un fascio concentrato proveniente da una parte sola rispetto l'asse ottico (§ 18.10). L'oggetto apparirà fortemente ombreggiato a causa dell'asimmetria dell'illuminazione. Si può realizzare questo schema anche con un normale condensatore, a condizione che la sua apertura massima sia maggiore di quella dell'obbiettivo: apertura d'obbiettivo in genere non superiore a 0,7, se a secco; non superiore a 1,0 se ad immersione (anche il condensatore dovrà essere ad immersione).

Ora si veda in proposito la fig. 90 (§ 21.8); si supponga che, sotto il condensatore ("Con" in figura 90) vi sia uno schermo opaco (Da) con una zona anulare trasparente, concentrica all'asse ottico; questa "zona", in figura, corrisponde all'apertura massima del condensatore, e quest'ultimo trasforma il fascio cilindrico cavo che attraversa Da in un fascio conico, sempre cavo, che converge al centro dell'oggetto (Og). Il fascio poi, al di sopra del piano di Og , prosegue diventando divergente; la sua inclinazione (la sua apertura minima) è però superiore a quella dell'obbiettivo, per cui il fascio sfugge all'obbiettivo stesso ed il fondo dell'immagine rimane scuro.

Lo schema di fig. 90 prevede dunque un diaframma anulare (Da) sotto il condensatore e quindi un'illuminazione dell'oggetto da tutti i lati: è il **fondo scuro omnilaterale**, che non produce effetti di ombreggiatura. Se invece lo schermo in Da presenta un foro o una fessura solo da un lato, si ha l'illuminazione in fondo scuro unilaterale. Il passaggio dallo schema unilaterale a quello omnilaterale dipende solo dalla forma del diaframma posto in Da .



(Si veda l'immagine nell'ultima pagina di questo manuale)

Ma, se il condensatore ha un'apertura non superiore a quella dell'obbiettivo, come avviene spesso con un normale "condensatore di Abbe" usato a secco (§§ 21.6 e 16.5) ed un obbiettivo forte, è ovvio che il fascio conico prodotto da un diaframma anulare come quello di fig. 90 entrerà almeno in parte nell'obbiettivo ed il fondo immagine non sarà più scuro. E qui si presentano due casi.

1) Se il diaframma non è anulare, ma eccentrico, come quello previsto dal fondo scuro unilaterale, non si avrà fondo scuro, ma semplicemente un'illuminazione obliqua . Ebbene, questo tipo di illuminazione si ottiene da un normale condensatore, purché si tenga tutto aperto il diaframma d'apertura, semplicemente ponendo presso il diaframma stesso uno schermo con un foro di qualche millimetro di diametro e tenendo il foro in posizione più eccentrica possibile. Può bastare infilare un cartoncino sotto il condensatore e spingerlo fino ad obliterare buona parte della relativa pupilla d'ingresso. La tecnica è dunque semplicissima ed il risultato può essere sorprendente poiché, oltre ad un effetto di ombreggiatura che fornisce un'impressione viva di rilievo, si ha un notevole aumento del contrasto. Qualunque

microscopio normale fornito di un condensatore anche di modesta qualità consente di usufruire di questa possibilità, anche con gli obbiettivi ad immersione. Il maggiore inconveniente è ovvio: la luminosità dell'immagine diminuisce molto, ma non è il solo. Nel capitolo seguente ("Modulazione d'ampiezza") se ne illustrano altri.

2) Se si pretende invece un fondo semi-scuro omnilaterale, allora si hanno due casi:

••• Obbiettivi a secco forti: un condensatore normale non ha apertura sufficiente, ma soprattutto ha aberrazioni così forti che il fascio illuminante non ha confini definiti ed il fondo non è mai omogeneamente grigio. Per questo caso è bene ripiegare sul fondo scuro completo e ricorrere a condensatori speciali, molto corretti da aberrazioni, basati almeno in parte su specchi concavi o convessi: sono i condensatori "cardioide", "paraboloide", ecc. di fortissima apertura, che vanno usati a secco e possiedono un meccanismo interno di centratura. In fig. 125 si vede lo schema di un tipico esempio. Sotto il sistema di specchi è indicato il solito diaframma anulare.

Sono stati costruiti anche condensatori secondo lo schema di fig. 125, ma con la superficie riflettente esterna lavorata a zone parallele di diversa inclinazione; ciò consente di dare al fascio conico convergente differenti valori di apertura per adattarlo all'obbiettivo ed all'oggetto in osservazione (condensatore di Hund).

••• Obbiettivi ad immersione. Poiché questi obbiettivi, come detto nel § 16, raggiungono spesso le massime aperture tecnicamente possibili, nessun condensatore, neppure ad immersione, può possedere un'apertura maggiore. Questi obbiettivi dunque non possono servire in fondo scuro (a parte il caso dell'illuminazione obliqua): occorre limitare la loro apertura.

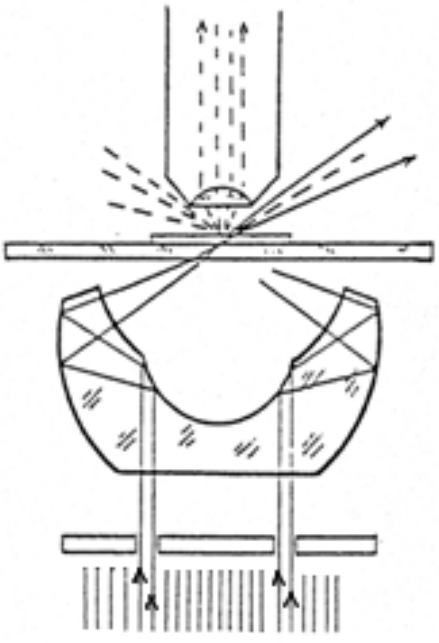


Fig. 125 - Condensatore "cardioide" per diascopia in fondo scuro a secco. Con linee tratteggiate è indicata la luce diffusa dall'oggetto.

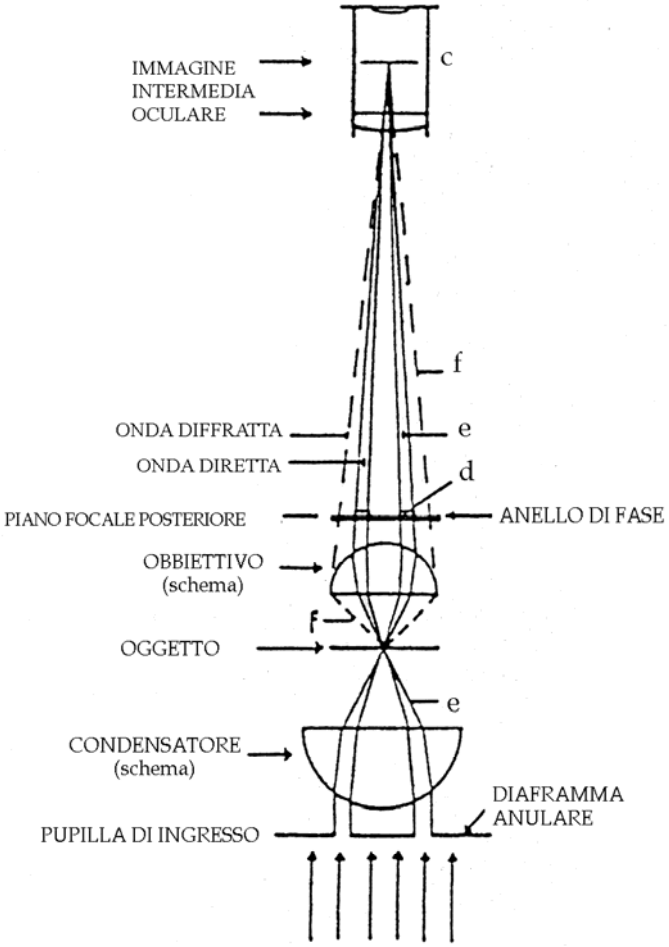


Fig. 126 - Schema del contrasto di fase. Con linee tratteggiate è indicata la luce diffusa o diffratta dall'oggetto.

Questa riduzione si può ottenere con appositi "cilindretti limitatori", piccoli diaframmi fissi che si introducono da sopra nell'obbiettivo, oppure con obbiettivi speciali contenenti un diaframma ad iride manovrabile a mezzo di un anello esterno (§ 19.2.6).

Con questi mezzi, l'apertura dell'obbiettivo viene ridotta al valore di circa 1,0 e l'apertura del fascio illuminante del condensatore potrà spaziare fra circa 1,1 e 1,45. Naturalmente, questo si può ottenere solo se il condensatore è ad immersione (§ 16). Superiormente, esso dovrà terminare con una superficie piana assai vicina al vetrino, e fra le due superfici dovrà essere posto un velo d'olio. La struttura di questi condensatori per fondo scuro ad immersione è simile a quella dei condensatori a secco sopra descritti (fig. 125), a parte la necessità della finestra d'uscita piana per reggere lo strato d'olio ed altri dettagli interni. Con i condensatori ad immersione per fondo scuro è possibile usare obbiettivi a secco: il fascio illuminante, avendo un'apertura superiore ad 1, verrà riflesso totalmente alla superficie superiore del coprioggetto a verrà riportato verso il basso.

Va ricordato che gli obbiettivi ad immersione con diaframma, ogni volta che si riduce la loro apertura, perdono luminosità e risoluzione; il diaframma va quindi riaperto appena si torna all'uso in campo chiaro. Una dimenticanza in questo senso è altamente probabile, per cui tali obbiettivi vengono spesso fatti lavorare ad apertura ridotta: anche involontariamente, la ghiera di comando del diaframma può venire ruotata quando si ruota il revolver e nessuno se ne accorge. Gli obbiettivi a diaframma vanno quindi continuamente controllati.

L'illuminazione obliqua sopra descritta non richiede invece una riduzione di apertura dell'obbiettivo e non provoca quindi perdite di risoluzione.

Il fondo scuro e l'illuminazione obliqua si realizzano su qualunque microscopio; per gli obbiettivi a secco deboli basta un condensatore normale ed un diaframma anulare, che si può anche auto-costruire con un dischetto di vetro ed un dischetto più piccolo, in cartoncino nero, incollato al centro del precedente. Il diametro del disco di vetro (si può usare anche un foglio di plastica trasparente semi-rigida tagliato con una fustella) si deduce da quello interno del porta-filtri; il diametro del disco di cartone deve essere tanto maggiore quanto più alta è l'apertura dell'obbiettivo in uso; si procederà per tentativi, ma normalmente il sistema può funzionare con dischetti di 20 - 25 mm di diametro e con obbiettivi di apertura fino a circa 0,65. Per gli obbiettivi forti, come già detto, occorre invece il condensatore adatto, a secco; per quelli ad immersione occorre un obbiettivo con diaframma ed un condensatore (speciale, per campo scuro) ad immersione.

30.3 - Il CONTRASTO a MODULAZIONE d'AMPIEZZA (art. n° 33)

Abbiamo appena descritto la tecnica dell'illuminazione obliqua; ora esaminiamo alcune variazioni sul tema.

Consideriamo un fascio illuminante stretto (di scarsa apertura) ed analizziamo alcune condizioni possibili:

-- 1) se il fascio è più o meno centrato ed occupa quindi la porzione centrale della pupilla d'uscita dell'obbiettivo, si ha una normale illuminazione in diascopia con diaframma d'apertura pazialmente chiuso. Si può avere un aumento del contrasto[213] ed una perdita di risoluzione, come già detto a suo tempo;

-- 2) se il fascio è più o meno obliquo ed attraversa quindi una porzione più o meno marginale della pupilla d'uscita dell'obbiettivo, si ha l'illuminazione obliqua, descritta al

[213] L'immagine dell'oggetto a livello dell'immagine intermedia è formata in prevalenza da radiazione diffratta, che dà un'immagine chiara dell'oggetto stesso, mentre il fondo è poco luminoso per via della chiusura del diaframma d'apertura.

capitolo precedente: il fondo del campo visuale è chiaro e l'oggetto appare in rilievo, ombreggiato, in quanto la sua immagine è formata (a livello dell'immagine intermedia) da radiazione diffratta in prevalenza da un lato dell'oggetto, dal lato rivolto verso l'asse ottico; la radiazione diffratta dall'altro lato, cioè dal lato opposto all'asse, non viene in buona parte raccolta dall'obbiettivo poiché esce dall'apertura utile dell'obbiettivo stesso. Poiché il fascio illuminante è obliquo, cioè soffre di una dissimmetria in senso azimutale, anche l'immagine finale mostrerà un contrasto con effetto direzionale: un generico oggetto apparirà più scuro da un lato e più chiaro dall'altro, come se fosse (ed è effettivamente) illuminato da un lato e creasse delle ombre unilaterali. Questo effetto direzionale crea difficoltà nell'osservazione di strutture allungate in direzione del piano in cui giacciono il fascio illuminante e l'asse del sistema: anche nell'osservazione normale, un bastone poggiato per terra produce un'ombra meno marcata se viene illuminato da una direzione parallela alla sua. Ciò può creare confusione ed esige la rotazione frequente dell'oggetto attorno all'asse o comunque una attenta interpretazione dell'immagine.

-- 3) se il fascio è inclinato al punto da uscire completamente dalla pupilla d'uscita dell'obbiettivo, si ha il fondo immagine scuro ma l'oggetto apparirà chiaro poiché la sua immagine è formata (solo) dalla luce diffratta. Anche qui, per gli stessi motivi, si ha un contrasto con effetto direzionale e l'oggetto appare "ombreggiato". È il normale "campo scuro unidirezionale" già descritto.

-- 4) se il fascio è meno inclinato rispetto al caso precedente e cade a cavallo dell'orlo della pupilla d'uscita dell'obbiettivo, il fondo immagine apparirà più o meno chiaro e l'oggetto apparirà chiaro con effetto di ombreggiatura. È questa una condizione intermedia fra i casi 2) e 3) sopra descritti: tutto dipende da quanta parte del fascio illuminante penetra nell'obbiettivo e da quanta parte va perduta; non va però perduta ai fini dell'immagine dell'oggetto, in quanto coopera a formare il fascio diffratto dall'oggetto stesso, fascio che è abbastanza aperto da penetrare sempre, almeno in parte, nell'apertura utile dell'obbiettivo.

Ecco dunque che sono nate alcune soluzioni particolari che realizzano il caso 4) in vario modo. In sostanza, si tratta di regolare l'apertura media e, genericamente, le dimensioni del fascio illuminante in modo da dosare la frazione di esso che penetra nell'obbiettivo (e determina la luminosità del fondo immagine) e la frazione che non vi penetra (e contribuisce a formare l'immagine dell'oggetto). Si controlla così il contrasto, cioè la luminosità relativa del fondo e dell'oggetto.

Si parte in genere da uno schermo opaco posto nel primo piano focale del condensatore, in luogo del diaframma d'apertura, che deve comunque essere tutto aperto. Lo schermo porta un foro od una fessura eccentrica; poiché ad ogni obbiettivo corrisponde una diversa apertura, occorrerà un diverso schermo per ogni obbiettivo previsto: nel condensatore sarà presente un disco-revolver che porta diversi schermi.

Ciò potrebbe bastare ma, per aumentare la flessibilità del sistema, esistono soluzioni più sofisticate in cui la fessura nello schermo è parzialmente occupata (dal lato interno) da un filtro polarizzatore; sotto al condensatore si trova un altro polarizzatore, che è attraversato dall'intero fascio illuminante proveniente dalla microlampada ed è girevole attorno all'asse ottico. Per quanto si dirà sotto, due filtri polarizzatori in serie possono mostrare una trasmissione totale che va dal 40 % circa a quasi 0 % a seconda dell'orientamento relativo. Dunque, azionando il polarizzatore inferiore, la porzione interna della fessura nello schermo sopra descritto può avere una trasparenza variabile fino a zero, mentre la porzione esterna (senza polarizzatore) ha una trasparenza fissa. Poiché la porzione interna della fessura fornisce un fascio meno obliquo che rientra nella pupilla dell'obbiettivo e la porzione esterna fornisce un fascio che va perduto dal punto di vista del fondo immagine, è possibile, variando la trasparenza della porzione interna col mezzo appena descritto, variare la luminosità del fondo rispetto a quella dell'oggetto, che rimane fissa. Dunque, variare il contrasto.

Questa soluzione è adottata nella tecnica del "contrasto a modulazione di Hoffman" o "contrasto a modulazione d'ampiezza" (Robert Hoffman, 1975), che si va diffondendo. Ma con una ulteriore sofisticazione: nella pupilla d'obbiettivo viene posto un filtro "modulatore" costituito da una lastrina di vetro sul cui margine si trova una striscia semi-trasparente (T = 15 %, ad esempio) tangente alla circonferenza della lastrina; più esternamente ancora, una seconda striscia quasi opaca che termina con l'orlo del "modulatore" (T = 1 % o simili). Variando la larghezza utile della fessura a mezzo della rotazione del polarizzatore, è così possibile far cadere il fascio illuminante più o meno sulla parte trasparente o sulla parte opaca del modulatore. Si noti che il modulatore non altera la fase del fascio che l'attraversa ma solo l'intensità (l'ampiezza) per cui si spiega il termine "modulazione d'ampiezza" o "contrasto d'ampiezza" ("amplitude modulation contrast").

Poiché i due polarizzatori si trovano prima dell'oggetto, non si hanno grandi difficoltà nella formazione dell'immagine di oggetti birifrangenti. Le ragioni di questa affermazione saranno chiare dopo la lettura del paragrafo sul microscopio polarizzatore (§ 30.7). Difficoltà di questo genere si hanno invece con le tecniche basate sull'uso di radiazione polarizzata, come il DIC (§ 30.5).

30.4 - Il CONTRASTO di FASE
(artt. n° 25, 33 e 35)

Anche questa tecnica di contrasto si rivolge ad oggetti poco contrastati, non colorati, come cellule e microrganismi vivi. In questi casi, fra un punto e l'altro dell'oggetto, vi sono solo differenze di indice di rifrazione e quindi di velocità di propagazione della luce: i raggi che hanno traversato i vari punti del preparato sono in anticipo o in ritardo l'uno rispetto all'altro e si hanno fra di essi, fra le onde corrispondenti, differenze di fase. Gli oggetti appena descritti son detti perciò "**oggetti di fase**". Dire "differenze di fase" significa che quando un'onda è arrivata ad un certo punto del suo ciclo o "periodo", per es. al punto di massima ampiezza positiva, un'altra onda non vi è ancora arrivata (ritardo) o vi è già passata (anticipo).

Per confronto, un oggetto più o meno colorato differisce da punto a punto per il colore o il potere di trasmissione: i raggi che l'attraversano differiscono fra loro non per la fase, ma per l'intensità, cioè per l'ampiezza dell'onda, e si parla di "**oggetti di ampiezza**", come per un normale vetrino colorato o una diapositiva.

Parlando del fondo scuro, si sono fatte considerazioni analoghe, e si è visto qual'è il vantaggio di quella tecnica nell'osservazione di un preparato di fase: si possono osservare oggetti trasparenti, anche viventi, senza alcun trattamento preventivo, con la certezza che non vi sono state le alterazioni spesso provocate dalla fissazione e dalla colorazione.

Il contrasto di fase ha dunque applicazioni simili al fondo scuro, ma con due differenze:

— Il "fondo" è chiaro, sia pure meno luminoso che in campo chiaro, a parità di altre condizioni.

— Non si vedono solo i contorni degli oggetti, o piuttosto le linee lungo le quali vi è una variazione di indice di rifrazione, ma tutto l'oggetto appare più scuro ("contrasto positivo") o più chiaro del fondo ("contrasto negativo")[214], almeno se è di piccola estensione.

Il principio di funzionamento è complesso; si guardi la fig. 126 . Sotto al condensatore vi è un diaframma anulare, ma con apertura tale che il fascio cavo che lo attraversa ("**e**" in figura) viene interamente accolto dall'obbiettivo. Questo fascio illuminante, in linea di

[214] Questo, come altri discorsi che seguono, suppongono che l'oggetto sia più rifrangente del mezzo in cui è immerso, come avviene molto spesso per cellule od organismi sospesi in acqua. Se l'oggetto è meno rifrangente, i contrasti s'invertono. Su questo argomento, si veda in particolare l'art. n° 33, in questo sito.

massima, attraversa lo spazio "libero" del vetrino[215] senza venir alterato e, al di là dell'obbiettivo, converge verso l'immagine intermedia. Lo possiamo chiamare "fascio diretto". Esso fornisce la luminosità del fondo dell'immagine. La sua fase, nella pupilla d'obbiettivo, si può prendere come riferimento e si dirà quindi che il fascio diretto non è sfasato, anche se in realtà lo è.

Però, attraversando l'oggetto, una piccola frazione di questo fascio diretto viene diffusa (per rifrazione, riflessione e diffrazione) in uno spazio molto ampio; nella fig. 126 sono indicati con linee tratteggiate i confini di quella porzione del fascio diffratto che viene accolta dall'obbiettivo (**f**). Anche quest'ultima confluisce nell'immagine intermedia, in corrispondenza dell'immagine dell'oggetto e si può dimostrare che essa è ritardata di fase (per circa 1 / 4 λ) rispetto all'onda diretta.

Nella pupilla d'uscita dell'obbiettivo vi è dunque una zona anulare (**d**) traversata dal fascio diretto, non sfasato (**e**): si è già dimostrato che in **d** si forma un'immagine reale del diaframma del condensatore. A questo punto, in **d** si pone un filtro anulare speciale (**anello di fase**) capace di alterare (vedremo come) lo stato del fascio diretto; il fascio diffratto invece attraversa solo in piccola parte l'anello di fase poiché occupa l'intera pupilla dell'obbiettivo e quindi è sostanzialmente immutato, nel senso che non risente dell'azione dell'anello di fase, ma è comunque ritardato di 1/4 λ ad opera della diffrazione.

In un microscopio normale, il fascio diretto e diffratto si sommano nell'immagine intermedia senza produrre alcun effetto[216] da cui la scarsezza di contrasto per un'oggetto trasparente; invece, per la presenza dell'anello di fase, il fascio diretto viene attenuato ed anticipato di fase di 1 / 4 λ (contrasto positivo), oppure ritardato (contrasto negativo) in modo che, nell'immagine intermedia, esso si trova in opposizione di fase con quello diffratto e può produrre interferenza distruttiva (oggetto più scuro del fondo) oppure si trova in concordanza di fase e produce interferenza costruttiva (oggetto più chiaro). Si ricordi che, in corrispondenza dell'immagine dell'oggetto, si sovrappongono (ed interferiscono) l'onda diretta, indisturbata, e l'onda diffratta dall'oggetto stesso.

In pratica, il contrasto di fase si realizza ponendo sotto al condensatore un diaframma anulare; l'obbiettivo (tranne eccezioni), è speciale in quanto contiene al proprio interno l'anello di fase[217]. Ad ogni obbiettivo deve corrispondere un diverso diaframma anulare per cui, di solito, sotto al condensatore vi è un disco-revolver con i tre-cinque diaframmi occorrenti per i corrispettivi obbiettivi di fase. Lo stativo può essere normale.

Il condensatore di fase comprende sempre una posizione del disco-revolver priva di diaframma anulare, da usare in fondo chiaro. Raramente è possibile collo stesso condensatore anche il fondo scuro.

L'anello di fase è ormai universalmente adottato ma, storicamente, sono state tentate "piastrine di fase" di altra forma (a striscia, a croce, ecc.). La forma anulare assicura che il contrasto non mostri direzioni preferenziali, come invece avviene con l'illuminazione obliqua (vedi sopra), col DIC (vedi oltre), ecc.

Esistono obbiettivi di fase anche ad immersione.

Accanto all'aumento di contrasto, la presenza dell'anello di fase produce un effetto disturbante: per complesse ragioni (alterazione della struttura della centrica, per cui il disco di Airy è meno intenso ed i primi anelli hanno un'intensità maggiore del normale), i margini di qualunque struttura dell'oggetto sono accompagnati da un **alone** (chiaro sui bordi di un

---

215 Cioè lo spazio fuori dalle cellule o dai microrganismi; tale spazio deve essere ampio. In un preparato di fase si raccomanda sempre di porre pochi oggetti diluiti in molto liquido, proprio per consentire i corretti rapporti di fase.

216 Si può infatti dimostrare che essi sono sfasati l'uno rispetto all'altro di 1/4 λ e, interferendo fra loro, riproducono un'onda circa della stessa ampiezza dell'onda che ha traversato la zona libera del vetrino.

217 L'anello di fase si vede osservando un obbiettivo da sopra e puntando la lente frontale verso una superficie illuminata estesa.

oggetto che appare scuro) che ostacola l'osservazione di fini dettagli in vicinanza dell'alone stesso (vedi, in questo sito, l'art. n°25).

Il contrasto di fase è realizzato in differenti versioni: con due anelli di fase concentrici è possibile variare il valore del contrasto ("Phv", Jena); con anelli costituiti da un filtro interferenziale è possibile avere immagini a colori ("Varicolor", Wild), ecc. Esistono versioni per l'episcopia.

Nota bene: gli obbiettivi contenenti l'anello di fase si possono usare anche in fondo chiaro e scuro, anche con lieve aumento di risoluzione, ma con una sensibile perdita di contrasto rispetto ad un obbiettivo normale[218]. I medesimi obbiettivi non possono essere usati in episcopia per la forte riflessione dell'anello di fase. Sono poco adatti alle altre tecniche speciali.

Per migliorare le condizioni d'interferenza a livello dell'immagine intermedia, è opportuno che l'onda diffratta e l'onda diretta abbiano un'ampiezza abbastanza simile. Normalmente, l'onda diretta è assai più intensa di quella diffratta per cui, oltre al potere "sfasante", all'anello di fase vien attribuito anche un potere assorbente che attenua l'onda diretta che l'attraversa. Poiché molto dipende dalla struttura dell'oggetto e non esistono regole generali, i costruttori danno all'anello di fase questa funzione da "filtro neutro" con un assorbimento che va da 50 a 90 %. Si può dimostrare che, più forte è l'assorbimento dell'anello di fase, più forte sarà il contrasto nell'immagine finale (e più contrastato l'alone), e quindi saranno più visibili gli oggetti piccoli e poco rifrangenti. Per oggetti grandi e più rifrangenti, è sufficiente un potere assorbente minore. Sarebbe così augurabile poter variare il potere assorbente dell'anello di fase. Per rispondere a questa esigenza, sono stati costruiti obbiettivi di fase con un duplice anello, come citato sopra, oppure serie diverse di obbiettivi con anello di diverso assorbimento; quelli ad assorbimento maggiore sono a volte indicati colla sigla "h" (= "hart" = duro, in tedesco) e mostrano l'alone sopra citato più luminoso, per cui sono adatti ad osservare oggetti piccoli sparsi in un campo molto libero: due oggetti troppo vicini si ricoprirebbero con i rispettivi aloni.

Il potere assorbente dell'anello di fase attenua dunque l'onda diretta e riduce la luminosità generale dell'immagine; questo effetto si somma col fatto che l'onda diretta è comunque in buona parte obliterata dal diaframma anulare. Tutto ciò significa che questa tecnica esige una buona microlampada e non sempre si ottiene la luminosità desiderata.

Le operazioni concrete per mettere in funzione il contrasto di fase sono queste:

-- si inserisca l'obbiettivo (di fase) dell'ingrandimento voluto;

-- si metta a fuoco, sia pure approssimativamente, il preparato che deve essere, come già precisato, più sottile e più trasparente possibile; nel caso di sospensione di microrganismi o cellule, diluire il più possibile la sospensione;

-- si disponga il sistema illuminante come per il campo chiaro: regolazione del diaframma di campo, sua centratura, focalizzazione del condensatore; quest'ultima focalizzazione è critica poiché, in caso di errore, le dimensioni del diaframma anulare non corrispondono più a quelle dell'anello di fase (si altera l'ingrandimento del sistema condensatore + obbiettivo);

-- in deroga alle regole dell'illuminazione secondo Köhler, aprire tutto il diaframma d'apertura onde evitare di obliterare i diaframmi anulari; raramente (Zeiss) il diaframma d'apertura è montato sul disco-revolver, per cui esso viene inserito solo nella posizione del disco riservata al campo chiaro e non vi è bisogno di aprirlo prima di passare al contrasto di fase;

-- andrà inserita l'eventuale lente frontale estraibile del condensatore; nei condensatori di fase si evita però in genere la frontale estraibile poiché ciò altererebbe l'immagine del diaframma anulare; in cambio, si ha lo svantaggio che non sarà possibile illuminare tutto il

[218] La centrica risulta alterata dalla presenza dell'anello di fase in modo che il disco di Airy è più piccolo (aumento di risoluzione), ma gli anelli sono più intensi (perdita di contrasto).

campo degli obbiettivi deboli (§ 21.1) ma questo è accettato dalla maggioranza dei costruttori poiché sono rari gli obbiettivi di fase di ingrandimento inferiore a 10:1; infatti, a basso ingrandimento si può chiudere molto il diaframma d'apertura e l'aumento di contrasto che ne consegue è sufficiente; del resto, a basso ingrandimento si osservano oggetti relativamente grandi e quindi visibili anche se trasparenti, senza ricorrere alle tecniche speciali;

-- inserire il diaframma anulare corrispondente all'obbiettivo in uso; vi possono essere diaframmi singoli, inseribili uno alla volta oppure, più spesso, un disco-revolver che porta differenti diaframmi; a volte (Wild), uno stesso diaframma può servire per due diversi obbiettivi di ingrandimento simile;

-- inserire un sistema per l'osservazione della pupilla d'obbiettivo (§19.5.5): che sia un "microscopio ausiliario", generalmente venduto di corredo assieme agli obbiettivi ed al condensatore per contrasto di fase, che sia la "lente di Amici" integrata negli stativi più raffinati, che sia una semplice lente d'ingrandimento a lunga focale, poco importa;

-- mettere a fuoco detto sistema per visualizzare l'immagine del diaframma anulare che si trova nella pupilla d'obbiettivo; a questo punto, se il preparato è ragionevolmente diffondente, si vedrà tale immagine assieme all'anello di fase (che appare grigiastro);

-- con le apposite chiavette, o con piccole manopole (Zeiss), poste in genere presso l'orlo del disco-revolver nel condensatore, si centri l'immagine del diaframma anulare in modo che risulti completamente coperta dall'anello di fase;

-- togliere il microscopio ausiliario o la lente di Amici ed iniziare l'osservazione;

-- poiché lo sfasamento operato dall'anello di fase varia leggermente a seconda della lunghezza d'onda (dispersione dell'indice), il miglior contrasto si ottiene interponendo un filtro verde nel sistema illuminante. Ciò può essere inaccettabile nella fotografia a colori, ma si ricordi che, tranne casi molto particolari, le immagini del contrasto di fase sono in bianco e nero.

Ad ogni cambio d'obbiettivo, occorre in genere sostituire il diaframma anulare. Se la meccanica dello strumento è buona, la centratura dei diaframmi eseguita una volta rimane stabile anche per anni, purché non si proceda allo smontaggio del condensatore o degli obbiettivi.

30.5 - Il CONTRASTO INTERFERENZIALE
(art. n° 17)

Si tratta di un'altra tecnica di contrasto che può fornire immagini contrastate in bianco-nero o a colori, ma senza il fastidioso alone del contrasto di fase. Si rivolge ancora ad oggetti "di fase"; si può applicare all'episcopia, ove aiuta nel rivelare piccole differenze di livello fra un punto e l'altro della superficie lucidata dell'oggetto (rocce, leghe metalliche, semi-conduttori, ecc.), differenze di livello che provocano naturalmente differenze di fase nell'onda riflessa.

Il principio di funzionamento può essere molto vario, e può portare ad un vero e proprio strumento di misura (micro-interferometro) che non solo fornisce immagini contrastate, ma consente la misura del "cammino ottico" dell'oggetto, cioè del prodotto spessore × indice (nel caso della diascopia), da cui si possono ricavare quei due valori ed altri valori derivati (concentrazione, residuo secco, ecc.). Nel caso di oggetti opachi osservati in episcopia, le misure al microscopio interferenziale consentono misure di altezza o spessore degli oggetti, con risoluzione di piccole frazioni di micron.

La soluzione più diffusa serve solo da tecnica di contrasto ed è il cosiddetto DIC (Differential Interference Contrast = Contrasto interferenziale differenziale), basato su ricerche di Nomarski: l'immagine prodotta mostra forti contrasti ed anche colori vivaci, ma

con un effetto di rilievo apparente, simile a quello dell'illuminazione obliqua.

Tutto ciò è ottenuto sdoppiando il fascio illuminante in modo da avere due fasci spostati lateralmente l'uno rispetto all'altro di una lunghezza pari al potere risolutivo dell'obbiettivo. In questo modo non si vedono due immagini dell'oggetto ma una sola immagine con i bordi ombreggiati. Dopo l'obbiettivo, i due fasci vengono ricombinati per farli interferire.

Certi modelli di microscopio interferenziale presuppongono uno strumento specificamente concepito, ma spesso è possibile usare questa tecnica, in particolare il DIC, con stativi normali equipaggiati di obbiettivi normali e con l'aggiunta di gruppi di accessori, uno sotto il condensatore, l'altro sopra l'obbiettivo. Ognuno dei due gruppi è costituito almeno da un filtro polarizzatore e da un prisma di Wollaston; quest'ultimo è dato da una coppia di prismi birifrangenti cuneiformi[219] con pari angolo diedro, incollati fra loro con gli assi ottici incrociati. Due prismi di Wollaston per ogni obbiettivo, che si inseriscono l'uno sotto il condensatore e l'altro sopra l'obbiettivo, in appositi alloggiamenti.

Con questo doppio sistema: polarizzatore + prisma di Wollaston si hanno in genere immagini in bianco e nero; il fondo dell'immagine può essere più o meno scuro a seconda delle regolazioni (uno dei prismi può in genere essere traslato in direzione perpendicolare all'asse) ma dovrebbe essere omogeneo; se non lo è, probabilmente si tratta di un difetto nei prismi o nella loro posizione.

Aggiungendo nello spazio fra polarizzatore inferiore e superiore (spesso nel condensatore) un compensatore birifrangente fisso (vedi il § 30.7) con ritardo di $\lambda / 4$ oppure di λ, ed eventualmente con la rotazione di questi attorno all'asse, è possibile ottenere immagini colorate con i vistosi "colori di interferenza" che si hanno in qualunque sistema in radiazione polarizzata.

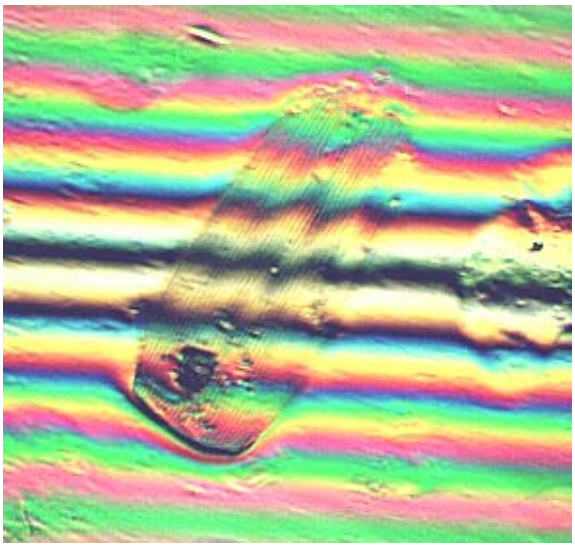
Gli accessori per il DIC sono abbastanza facili da usare, ma sono costosissimi.

Le immagini fornite dal DIC sono molto gradevoli, ma vanno interpretate con attenzione. Le più probabili cause di errore sono:

-- L'ombreggiatura e l'apparente rilievo nell'immagine non sono dovuti tanto alla forma dell'oggetto quanto alle sue variazioni di indice di rifrazione e/o spessore.

-- Poiché l'oggetto è traversato da radiazione polarizzata, gli oggetti birifrangenti producono contrasti non dovuti né alla forma né all'indice e quindi difficili da interpretare. Gli oggetti birifrangenti sono più comuni di quanto si creda: materiali cristallini e microcristallini, polveri, prodotti chimici solidi, molti materiali plastici, fibre di ogni genere, legno e molti tessuti vegetali e loro derivati, certi tessuti animali, materiali cornei, peli, ecc.

Altre tecniche interferenziali non-DIC consentono di ottenere un "**interferogramma**": all'immagine dell'oggetto si sovrappone un sistema di frange (colorate se si opera in luce bianca); se l'oggetto ha un cammino ottico omogeneo (per es. uno strato di liquido fra due vetrini), le frange appaiono diritte e parallele; se l'oggetto non è omogeneo, le frange subiscono delle deformazioni che indicano le variazioni di indice di rifrazione e/o di spessore e quindi, di solito, anche i contorni dell'oggetto.



Il quadro che si presenta ricorda quello di una carta topografica attraversata da isoipse (curve di livello).

[219] Spesso fabbricati con quarzo. L'esigenza di avere un diverso prisma per ogni obbiettivo nasce dalla diversa altezza della pupilla del secondo e/o dal diverso potere risolutivo: lo sdoppiamento operato dal prisma vi deve corrispondere.

Le frange però non indicano tanto la forma dell'oggetto, quanto piuttosto le variazioni del suo cammino ottico (spessore × indice).

L'interferogramma diventa così uno strumento di misura.

Anche l'interferogramma si può avere dall'esame di oggetti opachi in episcopia; in questo caso, il significato delle frange è veramente comparabile con quello delle isoipse, con la differenza che il piano di riferimento non è l'orizzontale, come nelle carte topografiche, ma un piano orientabile a volontà rispetto all'oggetto.

In altri strumenti, ancora non del tipo DIC , si ha sempre un fondo immagine omogeneo ma senza lo sdoppiamento e l'effetto di ombreggiatura tipico del DIC. Si parla più propriamente in questi casi di "contrasto interferenziale" con immagini in bianco e nero o colorate. Opportuni sistemi consentono di far interferire il fascio che ha traversato il campo-oggetto con un "fascio di riferimento" ad onda piana che non è interessato dall'oggetto; variando la fase di uno dei due fasci (con opportuni ritardatori regolabili) è possibile passare dal bianco-nero ad immagini colorate, naturalmente usando sempre un'illuminazione in luce bianca.

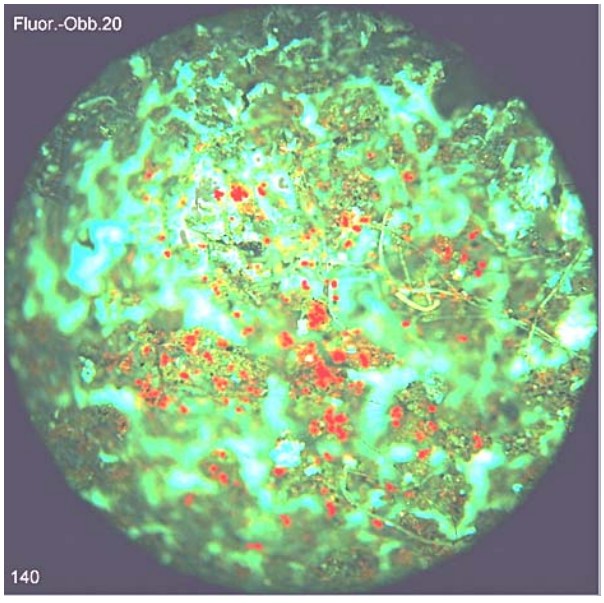
Questi strumenti si basano spesso sull'interferometro di Mach-Zender, in cui il fascio illuminante, prima di traversare l'oggetto, viene sdoppiato da una superficie semi-riflettente; uno dei fasci parziali serve da riferimento, l'altro traversa l'oggetto; i due fasci vengono poi a sovrapporsi, sempre a mezzo di un secondo semi-riflettente, e da questa sovrapposizione nasce l'interferenza che crea i contrasti ed i colori nell'immagine.

Sulla base di queste immagini, con opportuni accorgimenti, è possibile eseguire misure di cammino ottico, che non sono possibili con il DIC. Le tecniche interferenziali consentono dunque misure indirette dell'indice di rifrazione e/o dello spessore di un oggetto e, ancora più indirettamente, della concentrazione e del "residuo secco" di un materiale biologico.

Per ulteriori approfondimenti, si veda la bibliografia alla fine del volume e l'art. n° 17.

30.6 - LA FLUORESCENZA[220]
(art. n° 35)

Se colpiti da un fascio di radiazione di opportuna lunghezza d'onda (λ), gli atomi di certe sostanze si "eccitano" e riemettono luce propria di λ maggiore. Se questo fenomeno, genericamente definibile come "luminescenza", decade colla sospensione della radiazione eccitante, si parla di "fluorescenza"; se dura per un certo tempo ancora, si parla di "fosforescenza". La radiazione emessa contiene poca energia: circa un millesimo di quella di eccitazione, ed anche molto meno.



La fluorescenza può essere classificata in "primaria" e "secondaria". La primaria, o auto-fluorescenza, è presente spontaneamente in certi minerali (fluorite, uraninite, ecc.), in certi petroli, in certi organi vegetali

[220] La Zeiss di Jena presentò un microscopio a fluorescenza nel 1913 in base agli studi di August Köhler riguardo il microscopio in ultravioletto.

(tessuti contenenti clorofilla [vedi la foto qui sopra: alghe unicellulari su corteccia], pareti cellulari, spore di funghi, soredi di licheni, ecc.).

Ma, specie in biologia, è spesso utile provocare la fluorescenza di un oggetto ("fluorescenza secondaria" o "indotta") trattandolo con opportune sostanze fluorescenti ("fluocromi" o "fluorofori").

Il vantaggio è che, per ragioni di affinità chimica o fisica, il fluocromo tende a legarsi selettivamente con certe parti dell'oggetto più che su altre, per es. su certi organuli cellulari. In questo modo il fluocromo si comporta come un colorante selettivo che aiuta a rivelare certi componenti chimici e strutturali dell'oggetto. La sensibilità del metodo è grande: nelle migliori condizioni, sembra si possano rivelare oggetti contenenti il fluocromo in concentrazione di 50 molecole per micron cubo.

Il fenomeno della fluorescenza non può migliorare il potere risolutivo dell'obbiettivo; però, apparendo l'oggetto luminoso su fondo scuro, è possibile percepire (si ricordi la distinzione fra "potere di risoluzione" e "potere di percezione", § 15) oggetti assai più piccoli del potere risolutivo; quello che conta è solo il flusso totale emesso dall'oggetto.

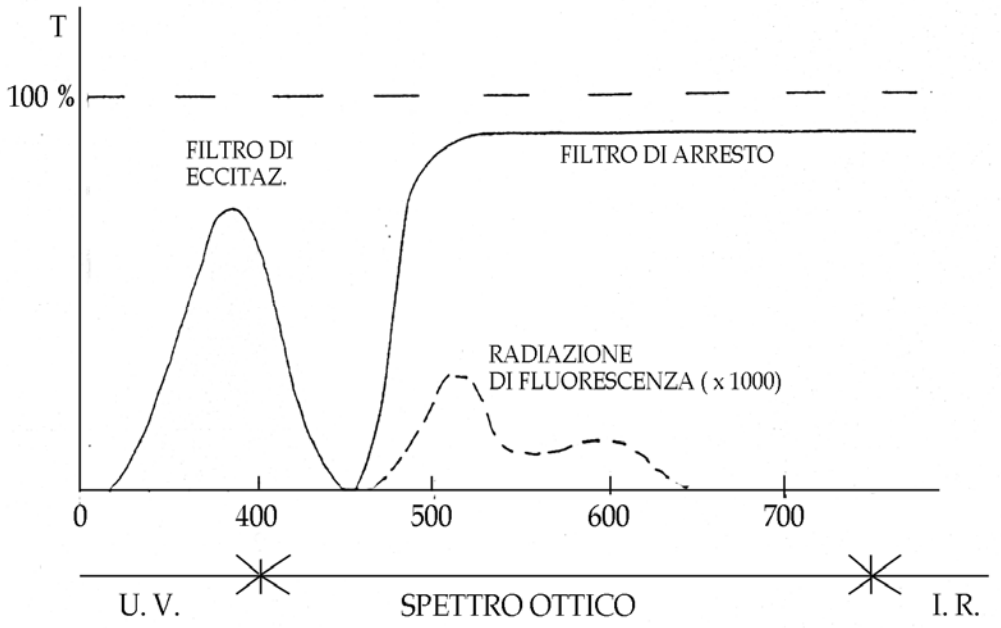


Fig. 127 - Banda passante di un generico filtro di eccitazione e del corrispondente filtro di arresto per fluorescenza. In ordinata, la trasmissione T ; in ascissa, la lunghezza d'onda λ, espressa in nm.

L'uso di fluocromi si fa più interessante nella ricerca degli antìgeni[221]: si cerca di legare chimicamente un anticorpo con un fluocromo; poi si tratta coll'anticorpo fluorescente l'oggetto sospetto; se vi è un antigene (uno specifico antigene e solo quello, per es. un batterio di una determinata specie), su di esso si concentra l'anticorpo rendendolo visibile a causa della fluorescenza. La reazione antigene-anticorpo è assai specifica e permette diagnosi veloci e sicure. L'uso di anticorpi fluorescenti è una tecnica di ricerca diventata di routine in molte branche della medicina e della biologia. L'avvenire della tecnica della fluorescenza in microscopia, più che ad un miglioramento delle prestazioni ottiche dello strumento, è legato all'introduzione di nuovi fluocromi, sempre più specifici, e di rendimento sempre maggiore.

La radiazione capace di eccitare i fluocromi può possedere qualunque valore di λ

[221] Un antìgene è una sostanza o una struttura organica (microrganismo, parassita, ecc.) capace di suscitare le reazioni immunitarie di autodifesa in un organismo vivente, provocando la formazione di "anticorpi". L'anticorpo è una specie di antibiotico naturale, una difesa biochimica che l'organismo mette in atto in presenza di certi corpi estranei, che sono appunto gli antigeni.

(dipende dal fluocromo), ma poiché la radiazione di fluorescenza ha quasi sempre lunghezza d'onda maggiore di quella eccitante (legge di Stokes), per quest'ultima si adopera la regione blu-viola dello spettro ottico o l'ultravioletto (UV); in pratica, si lavora in quattro regioni spettrali limitate, corrispondenti alle righe di massima emissione della lampada ad arco in vapori di mercurio (§ 22.6.2), che è la più usata: 366 nm (UV), 406 nm (viola estremo), 435 nm (viola), 546 nm (verde).

Se gli oggetti fluorescenti sono immersi in un mezzo inerte, non fluorescente[222], appaiono colorati su fondo scuro, ma non come avviene nel campo scuro, poiché non appare il contorno dell'oggetto, ma solo le parti fluorescenti.

Si è detto che la radiazione di fluorescenza è assai più debole di quella di eccitazione; questa è la ragione per cui le parti vegetali verdi, alla luce del giorno, non mostrano la debole fluorescenza rossa della clorofilla poiché la luce del sole è assai più forte. In pratica, per osservare il fenomeno, occorre in generale illuminare l'oggetto con un fascio più intenso possibile, eliminando da esso le bande spettrali inutili, che nasconderebbero la fluorescenza; poi osservare l'oggetto attraverso un filtro capace di bloccare la radiazione eccitante e lasciar passare solo quella di fluorescenza. Per la prima funzione si usa un filtro passa-banda, a banda larga o stretta (§ 23), che lascia passare il più possibile la radiazione che si intende utilizzare per l'eccitazione (filtro di eccitazione), bloccando il più possibile le altre bande dello spettro. Per la seconda funzione, si usa un filtro che blocca il più possibile la radiazione eccitante e lascia passare il più possibile la radiazione di fluorescenza (filtro di arresto o di sbarramento o di soppressione, "barrier filter"). Poiché la fluorescenza si svolge quasi sempre a lunghezze d'onda superiori a quella di eccitazione (come già detto: legge di Stokes), il filtro di arresto è un passa-basso, che lascia passare tutte le regioni spettrali che vanno dal limite destro della banda di eccitazione fino all'estremo "rosso" dello spettro: si veda la fig. 127. A sinistra è indicata la banda passante di un filtro di eccitazione, una curva a campana, a cavallo fra UV e viola (400 nm circa); a destra, in linea continua, la curva del filtro di arresto che lascia passare tutto, dal limite destro della curva del filtro precedente (circa 450 nm in figura) fino all'estremo rosso ed oltre. La radiazione di fluorescenza osservabile (linea tratteggiata) si viene così a trovare tutta all'interno della banda ammessa dal filtro di arresto. La scelta dei filtri è dunque importante, e deve adattarsi al meglio alle caratteristiche dell'oggetto: ogni oggetto ed ogni fluocromo rendono al meglio se eccitati in una certa banda e se osservati in un'altra banda. Ed inoltre, se il filtro di arresto non è abbastanza efficiente, una parte della radiazione eccitante giungerà all'occhio (o all'emulsione fotografica) ed il fondo dell'immagine non sarà più nero.

Lo schema del sistema sarà dunque: sorgente - collettore - (eventuale filtro anticalorifico per proteggere i filtri di eccitazione dal surriscaldamento) - filtri di eccitazione - condensatore - oggetto - obbiettivo - filtri di arresto - oculare. Se tutto è ben disposto, in assenza di oggetto il fondo dell'immagine deve apparire scuro.

I filtri di eccitazione a banda stretta consentono di eccitare l'oggetto in bande più definite, in modo da isolare fenomeni particolari, ma l'immagine sarà in genere meno luminosa.

Certi filtri di eccitazione in vetro (i classici vetri all'ossido di nickel, come la serie UG di Schott) per la regione UV e viola, oltre la banda passante principale, possiedono una banda di debole trasmissione nella regione del rosso ("rosso residuo"). Con questi filtri, il fondo dell'immagine appare quindi rosso; per eliminare ciò si dispone, dopo il filtro di eccitazione, un secondo filtro di "soppressione del rosso residuo", di colore celeste, capace di sopprimere appunto il "rosso residuo".

Si è accennato sopra alla legge di Stokes: la radiazione di fluorescenza ha lunghezza d'onda maggiore di quella di eccitazione. Ma vi sono eccezioni; in particolari casi, per

[222] Evitare i liquidi fluorescenti, come certi olii per immersione, il balsamo del Canada "naturale", ecc.

trasferimenti di energia all'interno dell'atomo, due o più fotoni di eccitazione sommano le loro energie e può avvenire che il fotone emesso abbia energia maggiore (e quindi lunghezza d'onda minore) di quello d'eccitazione: si parla di "emissione anti-Stokes".

La fluorescenza nello spettro ottico si svolge in base ad eccitazione di singoli elettroni e quindi dipende in sostanza dalla natura degli atomi coinvolti. Ma esiste anche una fluorescenza nello spettro infrarosso (fluorescenza Raman) che coinvolge gli stati energetici ("vibrazionali") di intere molecole, anche organiche, per cui lo spettro di emissione Raman consente l'identificazione di molecole di grandi dimensioni e quindi analisi chimiche molto selettive in campo organico. La tecnica Raman è entrata da poco in uso poiché l'intensità dell'emissione è assai debole e richiede soluzioni tecniche assai sofisticate; ma i risultati che fornisce sono ineguagliabili in certe applicazioni.

30.6.1 - Eccitazione in luce trasmessa

Tutto si svolge come in diascopia a fondo chiaro, a parte la presenza dei filtri e la microlampada, che in genere sarà di tipo speciale, di grande potenza[223], possibilmente ad arco. Anche il condensatore dovrà mostrare la massima apertura possibile, meglio se è ad immersione. Se non fosse per l'alto costo, sarebbero preferibili in tutto il sistema illuminante le lenti in silice fusa, che assorbono l' UV molto meno del vetro; anche i vetrini dovrebbero essere in silice.

Per accogliere al massimo la debole luce di fluorescenza, occorre usare obbiettivi della massima apertura possibile, come gli apocromatici: la resa fotometrica è proporzionale al quadrato di questa apertura. In ragione dell'inverso del quadrato, molto dipende anche dall'ingrandimento totale; si dovranno usare quindi oculari ed obbiettivi del minimo ingrandimento possibile (senza con questo rinunciare ad una forte apertura). Gli obbiettivi ad immersione sono da preferire poiché si evita il doppio riflesso sulla superficie frontale dell'obbiettivo e sulla superficie superiore della lamella. Evitare i planari, per il maggior numero di lenti.

Poiché il fascio eccitante penetra più o meno completamente nell'obbiettivo, occorre che il filtro di arresto sia molto efficiente. Per attenuare questa esigenza, alcuni costruttori usano l'illuminazione in campo scuro, sempre in diascopia; occorrerà un apposito condensatore, possibilmente in immersione (§§ 21.8 e 30.2).

30.6.2 - Eccitazione in episcopia

Si tratta di uno schema simile a quello descritto per l'episcopia (fig. 122, § 30.1), ma con la differenza che la superficie semiriflettente (E) non è neutra ma "dicromatica"[224]: riflette una parte dello spettro e trasmette il resto; essa viene progettata in modo da riflettere verso l'obbiettivo il più possibile della radiazione di eccitazione, e da trasmettere verso l'oculare il più possibile della radiazione di fluorescenza, di maggior lunghezza d'onda. La radiazione eccitante che viene riflessa dall'oggetto e torna nell'obbiettivo viene poi di nuovo riflessa dal semiriflettente (verso la sorgente), per cui il filtro di arresto ha un compito meno gravoso da svolgere. Vedi anche il § 25.4.

Poiché in episcopia l'obbiettivo funge anche da condensatore, è doppiamente importante

---

[223] Oltre un certo limite (circa 150 W), si può dimostrare che l'illuminamento sul piano oggetto non cresce al crescere della potenza dell'ampolla, se è ad incandescenza, poichè alla fine tutto dipende dalla brillanza del filamento, che è limitata dalla temperatura di fusione del metallo. Con le lampade ad arco, il plasma non ha limiti teorici di temperatura e quindi la brillanza può essere assai maggiore.

[224] Impropriamente si dice "dicroica", ma il dicroismo è un'altra cosa: è una proprietà legata alla polarizzazione.

usare obbiettivi ad alta apertura; anzi, visto che l'oggetto fluorescente diffonde la luce di fluorescenza in un amplissimo angolo solido, la luminosità dell'immagine in fluorescenza è proporzionale al quadrato dell'apertura dell'obbiettivo (per la parte illuminante) ed allo stesso quadrato (per la parte formazione dell'immagine) e quindi, globalmente, alla quarta potenza dell'apertura; per questo motivo, a piccolo ingrandimento l'episcopia è meno efficiente della diascopia: infatti, gli obbiettivi deboli hanno bassa apertura, mentre il condensatore usato in diascopia può avere sempre la massima apertura indipendentemente dall'obbiettivo. D'altra parte, l'episcopia è insostituibile per osservare la superficie di oggetti spessi od opachi, e la presenza dello specchio dicromatico aumenta l'efficienza del sistema di filtri.

Poichè il maggior problema della fluorescenza è la resa fotometrica, sarà cura del costruttore scegliere i materiali più efficienti: vetri (spesso silice fusa) e cementi trasparenti all'UV, almeno fra la sorgente e l'oggetto, trattamenti anti-riflettenti ottimizzati per l'UV nel sistema illuminante e per il visibile nel sistema formatore d'immagine, ecc. Essendo poi importante anche il contrasto, al fine del riconoscimento di oggetti debolmente luminescenti, occorre anche curare tutte le sorgenti di "luce diffusa" capaci di schiarire il fondo dell'immagine: il preparato dovrà essere molto "pulito" da oggetti fluorescenti non interessanti (polvere di vario tipo, ad es.), il fluocromo dovrà fissarsi solo sugli oggetti interessanti e non diffondere nel liquido di cultura e così via. Dal punto di vista del costruttore, andranno scelti accuratamente i materiali, vetri e cementi, che non siano dotati di auto-fluorescenza propria e quindi non vengano eccitati dal fascio illuminante. Anche i vetrini copri-oggetti (o porta-oggetti nel caso della diascopia) dovranno essere scelti riguardo alla loro trasparenza in UV.

In fig. 122 è raffigurato uno schema per l'episcopia; il dicromatico E elimina le lunghezze d'onda superiori alla banda utile trasmettendole verso le pareti dell'involucro; in ciò collabora col filtro di eccitazione B . Inoltre esso elimina la radiazione di eccitazione riflessa dall'oggetto, come appena detto, rispedendola verso la sorgente; collabora così col filtro di arresto. Lo specchio dicromatico è sempre del tipo degli specchi interferenziali (§ 23.1).

Riassumendo, i requisiti di un microscopio a fluorescenza sono:

Per la diascopia: sorgente forte, magari ad arco; obbiettivo della massima apertura possibile e, senza rinuncia all'apertura, del minimo ingrandimento possibile; condensatore a forte apertura (per la diascopia); oculare debole; filtri opportunamente scelti in base allo spettro di emissione della lampada, alle lunghezze d'onda più efficaci per l'eccitazione ed alla composizione della radiazione prodotta per fluorescenza dall'oggetto o dal fluocromo. Sistemi intermedi, cambiatori d'ingrandimento e simili col fattore di tubo minimo possibile. Lo stativo può essere normale.

Per l'episcopia: tutto come sopra, con in più: illuminatore episcopico con semi-riflettente dicromatico; spesso ciò richiede uno stativo appositamente concepito. Non serve il condensatore né la lampada diascopica.

Si noti che, in episcopia, non serve il diaframma d'apertura: conviene sfruttare tutta l'apertura disponibile dell'obbiettivo, per ovvii motivi. Del resto, la radiazione di eccitazione viene comunque bloccata dal filtro d'arresto.

30.7 - MICROSCOPIA in RADIAZIONE POLARIZZATA
(vedi il manualetto "Microscopia in polarizzazione" e gli artt. n° 7, 16, 26, 35, ed O10)

La radiazione ottica (quella che volgarmente si chiama "luce") è composta da onde, cioè da variazioni periodiche di un campo elettrico e di uno magnetico (§ 1.1). Ogni onda ha una durata limitata, cioè la radiazione è data da un gran numero di treni d'onda di energia costante, detti "fotoni" o "quanti".

Ogni fotone oscilla in un determinato piano o "piano di polarizzazione": esso è quindi "polarizzato"; ma la radiazione nel suo complesso è costituita da un gran numero di fotoni che oscillano in piani orientati a caso, cioè globalmente non è polarizzata (fig. 128, in basso).

Un polarizzatore è uno speciale filtro ottico che obbliga i fotoni che l'attraversano ad oscillare tutti nello stesso piano[225]; in realtà, un polarizzatore elimina almeno la metà dell'energia incidente[226], ma questo non cambia il nostro discorso. Dunque, la radiazione emergente da un polarizzatore è "linearmente" polarizzata.

Un tempo, i polarizzatori si chiamavano "Nicol" poiché erano costituiti da prismi di calcite tagliati ed incollati secondo le indicazioni del fisico scozzese William Nicol (§ 23.1). Da molti anni invece i polarizzatori a cristallo sono quasi tutti sostituiti da lamine di materiale plastico trattato con procedimenti speciali (stiramento a caldo) e poi con ioduri di chinino; esse sono fortemente dicroiche, nel senso che mostrano assorbimento diverso a seconda del piano di polarizzazione dell'onda che le attraversa; in particolare, le lamine di cui stiamo parlando assorbono tutte le onde che non vibrano in un piano definito.

Questi polarizzatori sintetici o **Polaroid** si chiamano ancora Nicol per ragioni storiche; ve ne sono con caratteristiche assai varie.

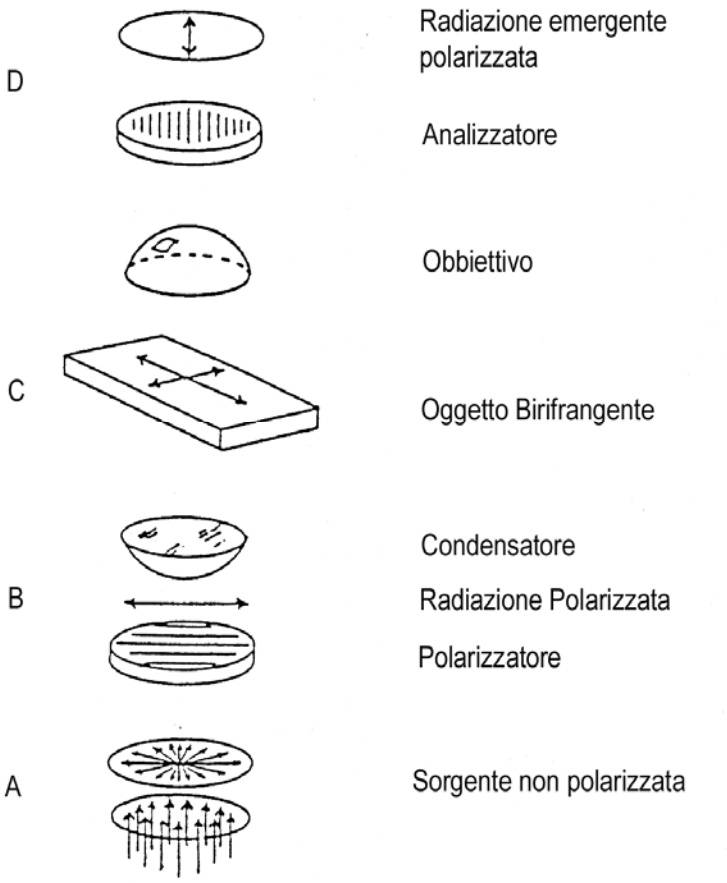


Fig. 128 - Schema essenziale di microscopio polarizzatore

[225] La maggior parte dei fenomeni legati alla polarizzazione della luce si spiega tenendo conto del solo vettore elettrico; perciò con "direzione previlegiata" o "piano di vibrazione" di un polaroid si intende il piano in cui oscilla il vettore elettrico.

[226] Bisogna fare i conti con la decomposizione dei vettori secondo la "regola del parallelogramma".

Sul piano di un Nicol si può quindi tracciare idealmente una "direzione previlegiata": quella di oscillazione dei fotoni che l'attraversano (vedi la fig. 128, in cui sono indicate con frecce a due punte le direzioni previlegiate); un fotone che incide su di esso oscillando parallelamente alla direzione previlegiata può traversarlo senza attenuazione (salvo le perdite per riflessione sulle due superfici o per residuo assorbimento); un fotone che incide invece oscillando obliquamente rispetto alla direzione previlegiata viene trasmesso solo in parte, secondo il principio del parallelogramma; se incide oscillando perpendicolarmente alla direzione stessa, viene soppresso o "estinto". Se dunque, dopo il primo Nicol, si pone un secondo Nicol colla direzione previlegiata perpendicolare a quella del primo, i fotoni emergenti dal primo Nicol vengono estinti nel secondo ed il sistema complessivo appare come se fosse opaco. Si parla di fondo nero da "Nicol incrociati" o "posizione di estinzione". Se le direzioni previlegiate dei due Nicol sono parallele, il fascio emergente dal primo attraversa il secondo con modeste perdite, essenzialmente per riflessione alle sue superfici.

Nel microscopio polarizzatore si pone sempre un Nicol ("polarizzatore" in senso stretto) sotto al condensatore ed uno ("analizzatore") sopra l'obbiettivo, prima della eventuale lente di tubo per le ragioni dette nel § 3.2. Se i Nicol vengono "incrociati", in assenza di oggetti interposti, si ha un fondo scuro o estinzione. Normalmente, il polarizzatore è disposto colla direzione previlegiata orientata trasversalmente al piano mediano dello strumento (direzione "Est-Ovest"); una volta si usava la disposizione perpendicolare a questa.

Ora, molti oggetti naturali (la maggioranza dei corpi allo stato cristallino, che è come dire tutte le rocce, la maggioranza dei minerali e loro polveri, parti solide di tessuti vegetali, alcuni tessuti animali come quello corneo, osseo, connettivo, muscolare, vari componenti cellulari) ed oggetti artificiali (fibre tessili, composti chimici, polveri, ecc.) sono "birifrangenti". Questo significa che un'onda polarizzata (o un fascio polarizzato, composto di fotoni che oscillano in piani paralleli), se attraversa un tale oggetto, viene decomposta in due onde che oscillano in due piani perpendicolari fra loro, coincidenti con due direzioni previlegiate dell'oggetto (vedi ancora la fig. 128).

Ebbene, se poniamo tale oggetto fra due Nicol incrociati, non si ha più estinzione; per lo meno, se le direzioni previlegiate dell'oggetto sono oblique rispetto alla direzione di oscillazione dei Nicol, avviene che ogni raggio polarizzato che incide sull'oggetto viene diviso (sempre secondo la regola del parallelogramma) in due raggi oscillanti in piani perpendicolari fra loro; questi raggi incidono sull'analizzatore obliquamente rispetto alla direzione previlegiata di esso e quindi in parte lo attraversano. Dopo di ciò essi vibrano nello stesso piano e possono interferire fra loro. Da questa interferenza, l'immagine finale acquista chiaroscuri e colori da cui è possibile risalire a talune proprietà ottiche dell'oggetto: potere birifrattivo, pleocroismo, ecc.

In questo modo, il microscopio polarizzatore diviene uno strumento di misura. In particolare, i risultati dell'interferenza che avviene nell'analizzatore dipendono dalla fase relativa fra i due raggi birifratti dall'oggetto; questa fase dipende dal potere birifrattivo dell'oggetto e dal suo spessore per cui, noto l'uno, si ricava l'altro.

La fase fra i due raggi birifratti dipende anche dalla lunghezza d'onda e, operando in luce bianca, avviene di solito che si ha interferenza negativa, cioè attenuazione, per certi valori di lunghezza d'onda, cioè per certi colori, e rimangono gli altri colori; in questi casi l'oggetto appare colorato da "colori di sottrazione" anche se, in radiazione non polarizzata, è trasparentissimo. Poiché questi colori di sottrazione nascono da un'interferenza negativa, si parla di "colori d'interferenza".

Spesso, si ha interesse ad alterare e misurare lo sfasamento fra i due raggi birifratti dall'oggetto; ciò si ottiene con lamine birifrangenti opportune, chiamate compensatori , che si introducono in un posto qualunque fra polarizzatore ed analizzatore. Esse possono provocare

uno sfasamento fisso o variabile, che si somma o si sottrae con quello dell'oggetto, a seconda dell'orientamento reciproco.

I compensatori più usati sono fissi; quello chiamato "mica quarto d'onda" o "λ/4" introduce uno sfasamento di 1/4 λ fra i due raggi birifratti che da esso emergono ed è tradizionalmente costituito da una lamina di sfaldatura di mica muscovite. Fra Nicol incrociati appare grigio. Quello chiamato "gesso, rosso di 1° ordine" (Rot I) o "tinta sensibile" o "onda intera" o " λ " introduce uno sfasamento di una lunghezza d'onda di 550 nm (zona spettrale del verde) e, se osservato fra Nicol incrociati, appare color magenta (porpora). Questo colore è detto "tinta sensibile" poiché, anche per piccoli sfasamenti dell'oggetto, vira rapidamente verso l'arancio o il blu. Il compensatore "onda intera" è tradizionalmente fatto da una lamina di sfaldatura di selenite, varietà trasparente lamellare di gesso.

Quando l'oggetto birifrangente viene fatto ruotare attorno all'asse ottico, durante una rotazione completa di 360° avviene che quattro volte, una ogni 90°, le direzioni previlegiate di esso sono parallele a quelle dei Nicol. In queste condizioni, si può dimostrare che l'oggetto non produce più birifrazione; fra Nicol incrociati esso quindi è come se non ci fosse e si ritrova l'estinzione (campo immagine del tutto oscuro): quattro posizioni di estinzione per ogni giro completo dell'oggetto. Inoltre, ruotando l'oggetto, cambiano le condizioni di interferenza ed i colori nell'immagine cambiano pure, almeno come saturazione. Per questi motivi, un microscopio polarizzatore deve possedere un tavolino girevole attorno all'asse ottico, magari con una scala graduata sull'orlo.

Un apposito reticolo a croce, non girevole, posto nell'oculare o comunque a livello dell'immagine intermedia, indica le direzioni di vibrazione dei Nicol e permette di misurare l'angolo fra esse e certe strutture dell'oggetto.

Di solito, in seguito a vari fenomeni d'interferenza, si formano nel piano focale posteriore dell'obbiettivo delle particolari figure a bande colorate, dette "figure d'interferenza", che non hanno nulla a che fare con la forma dell'oggetto, ma permettono di riconoscere talune sue proprietà ottiche, come i cosiddetti "assi ottici" e l'angolo fra di essi. In un microscopio polarizzatore deve quindi esistere una speciale lente all'interno del tubo, detta "lente di Amici-Bertrand", che permette di osservare il piano focale superiore dell'obbiettivo attraverso l'oculare. Inserendo questa lente, l'immagine dell'oggetto scompare e si vede solo la figura d'interferenza con le sue linee o "frange" colorate. Queste frange nascono dal fatto che l'oggetto riceve un fascio conico, cioè raggi di diversa inclinazione, e produce un diverso sfasamento fra i due raggi birifratti per ogni direzione di propagazione. Questo tipo di osservazione si chiama "luce convergente" o "conoscopìa"; poiché i suoi effetti dipendono dall'inclinazione o apertura dei raggi, si ha interesse ad eseguirla con obbiettivi della massima apertura possibile; il condensatore dovrà avere un'apertura non minore ed il diaframma d'apertura sarà tutto aperto.

Da quanto detto, è chiaro che i sistemi ottici interposti fra i Nicol, per lo meno l'obbiettivo ed il condensatore, debbono essere privi di birifrazione propria per non alterare i fenomeni dovuti all'oggetto. Il vetro ottico, in linea di principio, è privo di birifrazione, cioè è monorifrangente, ma la acquista se è soggetto a tensioni esterne (montatura meccanica troppo stretta) od interne (tensioni da raffreddamento durante la fabbricazione del vetro). Pertanto i sistemi ottici usati in polarizzazione debbono essere selezionati affinché risultino "esenti da tensioni" ("strain free").

Riassumendo, un microscopio polarizzatore deve possedere almeno questi requisiti:
-- due filtri polarizzatori, di cui almeno uno girevole attorno all'asse;
-- possibilità di inserire vari tipi di compensatori;

-- tavolino girevole, possibilmente con scala graduata e nonio per misurare l'angolo di rotazione;

-- lente di Amici-Bertrand, possibilmente accoppiata con un diaframma ad iride (diaframma di Wright) per separare le figure di diffrazione dovute ai vari granuli, quando si osservano aggregati cristallini;

-- condensatore ed obbiettivo in vetro "non tensionato"; almeno uno degli obbiettivi ed il condensatore debbono essere a forte apertura per facilitare la conoscopia;

-- un oculare con reticolo a croce, non girevole attorno all'asse ottico.

Difficilmente tutti questi accorgimenti sono applicabili su uno stativo normale. Va detto però che molte osservazioni in luce polarizzata possono essere eseguite rinunciando a misure quantitative delle grandezze sopra citate (potere birifrattivo, angolo fra gli assi ottici, posizioni di estinzione, ecc.); infatti, un'osservazione puramente qualitativa può essere preziosa, specie con preparati biologici, per rivelare molte strutture dei tessuti, soprattutto vegetali (pareti cellulari, amido, spore di funghi, ecc.). A questo punto, può bastare un qualunque strumento equipaggiato con due filtri Polaroid, e si ha un'altra tecnica di contrasto, che differisce dalle altre perché rivela solo gli oggetti birifrangenti. Poiché la birifrangenza è dovuta alla disposizione ordinata o all'orientamento delle molecole nell'oggetto, si hanno così informazioni sulla struttura della materia a livello molecolare, e non esiste altra tecnica ottica capace di fare altrettanto.

Si noti infine che anche un microscopio stereoscopico può servire in radiazione polarizzata; anch'esso è in genere usato solo per osservazioni qualitative e quindi gli possono bastare due Polaroid. Solo per alcune misure è necessario il tavolino girevole e qualche compensatore. La lente di Amici non serve poiché l'apertura di un obbiettivo stereoscopico è minima, non esiste condensatore, e non è possibile la conoscopia.

30.8 - LA FOTO - MICROGRAFIA
(artt. n° 12 e 13)

La "macro-fotografia" (meglio: "foto-macrografia") indica la ripresa fotografica di un'immagine più grande dell'oggetto, ma con solo un obbiettivo, cioè con un sistema ottico riconducibile ad una lente semplice.

Invece, "foto-micrografia" indica lo stesso processo di ripresa di un'immagine più grande dell'oggetto, ma ottenuta con un microscopio composto, cioè con un sistema riconducibile ad almeno due lenti semplici (obbiettivo + oculare) in cui l'ingrandimento avviene in due fasi, a mezzo della formazione di un'immagine "intermedia".

A rigore, il termine molto usato di "micro-fotografia" dovrebbe essere limitato ad indicare una tecnica di ripresa su emulsioni fotosensibili in cui l'immagine è assai più piccola dell'oggetto, esattamente il contrario di ciò che si fa al microscopio; si tratterebbe di tecniche come il microfilm, la micro-litografia, ecc.

In un microscopio correttamente a fuoco, l'immagine intermedia si forma nel primo fuoco dell'oculare e pertanto (fig. 14 , § 2.6.2) l'immagine finale si forma a distanza infinita; tale immagine non si può raccogliere su uno schermo, ma il nostro occhio la percepisce come se essa provenisse da un oggetto molto lontano. E si noti che in questo modo la visione avviene con l'occhio rilassato, non "accomodato", senza sforzare inutilmente il muscolo ciliare.

Per fotografare occorre invece un'immagine reale a distanza relativamente piccola. Per

questo vi sono tre possibilità:

— Alterare la messa a fuoco (basta pochissimo con gli obbiettivi forti) ed in particolare abbassare l'oggetto rispetto all'obbiettivo. In questo modo, l'immagine intermedia si abbassa anch'essa e si forma in OB (fig. 13), prima del fuoco anteriore dell'oculare. L'immagine finale (O'B') si forma così a distanza finita, ed è reale: la si può raccogliere su uno schermo, come un'emulsione fotografica.

Molti sistemi classici, a soffietto, funzionano così, e con buoni risultati, ma non sono pratici, ed inoltre il microscopio lavora con focalizzazione alterata.

— Usare oculari speciali o proiettivi (§ 20.7), calcolati per dare un'immagine finale al posto giusto, senza alterare la messa a fuoco e senza introdurre aberrazioni.

— Porre subito sopra l'oculare un apposito raccordo contenente una debole lente convergente, detta "**lente di camera**", che rende convergente il fascio emergente dall'oculare e consente la formazione di un'immagine reale a distanza ravvicinata, anche quando la messa a fuoco è corretta.

Da quanto detto, risulta che fotografare al microscopio è molto semplice: basta proiettare l'immagine fornita dallo strumento su un'emulsione fotografica, evitando che la luce ambiente o non desiderata si sovrapponga all'immagine stessa.

In pratica, vedremo che occorre inquadrare, mettere a fuoco, misurare il tempo di esposizione, manovrare l'otturatore, ecc., ma rimane il fatto che gli accessori fotomicrografici costituiscono essenzialmente una "camera oscura" a tenuta di luce che riceve semplicemente il fascio prodotto dall'oculare o dal proiettivo, che tiene l'emulsione alla giusta distanza, centrata e perpendicolare all'asse ottico, e che contiene le parti occorrenti per svolgere le funzioni accessorie citate. Insomma, il microscopio crea l'immagine ed il sistema fotografico la raccoglie bell'e fatta. Infatti, le caratteristiche dell'immagine fotografata dipendono dall'oggetto, dal microscopio e dal suo sistema ottico; la parte fotografica è solo un contenitore.

Nella fotografia usuale, gli aspetti tecnici possono divenire trascurabili rispetto alle esigenze estetiche; ma al microscopio chi crea il risultato finale è il sistema ottico posto PRIMA dell'apparato fotografico, nonché l'oggetto ed il modo con cui è stato preparato. Conoscere l'ottica dello strumento è essenziale per un buon risultato. L'esperienza acquisita in campo fotografico usuale è utile quasi solo per la scelta del materiale fotografico o dei filtri.

Un sistema foto-micrografico moderno deve dunque svolgere le seguenti funzioni:

30.8.1 - Consentire di inquadrare ed osservare l'immagine da fotografare senza alzarsi in piedi (come nei vecchi sistemi a soffietto), magari senza staccare gli occhi dagli oculari, magari durante la stessa esposizione.

30.8.2 - È utile un reticolo che indichi esattamente la porzione di immagine che viene utilizzata per la foto: una specie di "mirino".

30.8.3 - Indicare in qualche modo quando l'immagine è a fuoco sull'emulsione.

30.8.4 - Misurare il tempo di esposizione, indicarne il valore ed eventualmente comandare direttamente l'otturatore. Tenere conto dei fattori di correzione richiesti dalla sensibilità della pellicola, dalle tecniche speciali, ecc.

30.8.5 - Disporre di un otturatore esente da vibrazioni.

30.8.6 - Produrre un'immagine finale senza aggiunta di aberrazioni rispetto a quanto fornito dal microscopio.

30.8.7 - Permettere l'uso di tutti i formati ed i materiali fotografici più usati; permettere il passaggio rapido da un formato all'altro oppure da una pellicola all'altra.

30.8.8 - Consentire l'uso di filtri adeguati alle varie applicazioni.

30.8.9 - Consentire l'uso delle sorgenti necessarie per le varie tecniche speciali, tenendo conto della loro emissione spettrale, della loro brillanza, ecc.

30.8.1 - Inquadramento

Nei sistemi a soffietto, questo inquadramento può essere eseguito su un vetro smerigliato posto in luogo della lastra, oppure posto di lato, con uno specchio ribaltabile dietro (tipo "reflex"). In questi casi però l'immagine è buia e difficile da focalizzare.

Attualmente, lo schema più diffuso è un reflex a cannocchiale. Si veda la fig. 129: il fascio proveniente dall'obbiettivo, di solito prima che si formi l'immagine intermedia, viene sdoppiato in due parti geometricamente identiche ad opera di un semiriflettente o "splitter", spesso un prisma cubico con la superficie riflettente in diagonale (fig. 34 C, § 11). La frazione del fascio che è trasmessa (F in figura) viene inviata al sistema fotografico (esposimetro, otturatore, eventuale proiettivo, pellicola); la porzione riflessa (V) viene inviata al sistema di mira e/o di osservazione: un apposito "telescopio", un oculare singolo o un tubo bioculare.

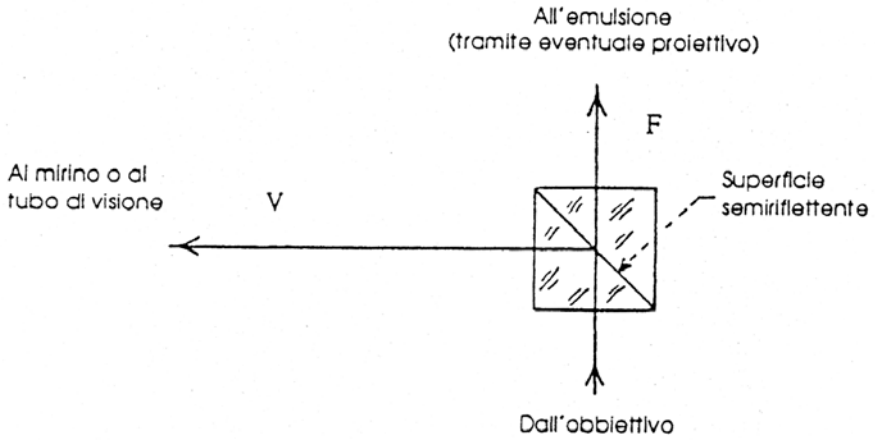


Fig. 129 - Schema di sistema fotomicrografico

Se lo splitter è fisso, la porzione F contiene di solito l'80 % dell'energia e la V il 20 %; nei moderni semiriflettenti a strati sottili interferenziali, la frazione di energia assorbita è trascurabile; nei vecchi sistemi a strato metallico, essa poteva raggiungere il 40 %.

Questa soluzione permette di osservare anche durante l'esposizione.

Quando invece l'energia disponibile è scarsa (fluorescenza, fondo scuro, ecc.), può convenire inviare tutto il fascio in V per l'osservazione o tutto in F per la foto. Occorrerà un dispositivo a specchio mobile , magari azionato dallo stesso pulsante che sgancia l'esposizione: in questo caso vi è il pericolo di vibrazioni. Qualcosa di simile avviene nelle macchine fotografiche "reflex monoottica". In altri casi, vi sono due o più possibilità intercambiabili, cioè specchi con diversa ripartizione dei fasci F e V ; un caso frequente è: − tutto in F − 50% / 50 % − tutto in V .

È ovvio che i canali F e V devono essere parcentrali, nel senso che il centro dell'immagine fotografata deve essere il centro anche dell'immagine nel mirino o negli oculari. Questa condizione non è sempre rispettata poiché i due cammini F e V possono contenere molte parti (basti pensare ai prismi del tubo bioculare), ognuna suscettibile di errori di centratura.

È anche ovvio che l'orientamento dell'immagine fotografata e di quella osservata deve essere lo stesso, soprattutto quando si opera in radiazione polarizzata ed occorre un riferimento alle direzioni previlegiate dei Nicol. Questo orientamento viene assicurato da apposite "chiavi" (spine, intaccature, ecc.) che vincolano tutte le parti passibili di rotazione.

Altrettanto ovvio è che le due immagini devono essere parfocali in modo da garantire che l'immagine vista a fuoco nel canale visione lo sia anche sull'emulsione. Ma ciò non è sempre garantito e conviene eseguire un controllo come detto nel § 30.8.3.

30.8.2 - Delimitare l'immagine

Di solito, nell'oculare o in uno degli oculari che servono all'inquadramento della foto vi è un "reticolo", cioè un sistema di linee opache su un supporto trasparente che delimitano uno o più rettangoli corrispondenti ai vari formati fotografici

In qualche caso, il reticolo appare luminoso e si può "spegnere" a volontà.

È sottinteso che il reticolo deve avere lo stesso centro e lo stesso orientamento dell'immagine fotografata, cioè della "finestrella" che delimita il formato. Se tale orientamento non è obbligato dalla struttura meccanica del sistema, l'utente deve andare ad occhio, ma in compenso ha la possibilità di ruotare il formato (la fotocamera) rispetto all'immagine fotografica senza ruotare l'oggetto (il che sarebbe difficile in assenza di tavolino girevole). Ciò è prezioso quando si fotografano strutture allungate.

Si noti anche che la regolazione di certi tubi bioculari (allo scopo di variare la distanza pupillare) porta alla rotazione dell'oculare e quindi del reticolo (§ 24.1); la rotazione del tubo nella propria coda di rondine o dell'oculare all'interno della boccola che lo regge porta naturalmente allo stesso risultato: un diverso orientamento della fotografia e del reticolo di mira. Se la mira non si esegue in un normale oculare ma in un apposito telescopio, la posizione del reticolo sarà in genere fissa.

Se la mira si esegue in un tubo bioculare, il reticolo d'inquadramento si trova spesso in uno dei due oculari; in altri casi invece il reticolo si trova all'interno del tubo, in corrispondenza di un'immagine intermedia aggiuntiva e così esso è visibile in entrambi gli oculari e la rotazione del tubo bioculare o degli oculari non porta ad una sua rotazione.

Quando il sistema fotografico prevede diversi formati che corrispondono a diverse porzioni dell'immagine finale, il reticolo deve contenere diversi rettangoli capaci di indicare i confini di ognuno. In altri casi, la porzione di immagine coperta dai vari formati è sempre la stessa: essa infatti è ingrandita in diversa misura da opportune lenti intermedie, contenute nei raccordi che reggono le cassette dei vari formati. Ogni formato può essere così totalmente coperto dalla stessa porzione dell'immagine.

Ma andiamo più a fondo: l'ideale sarebbe che, per ogni formato fotografico e per ogni combinazione ottica usata, il rettangolo corrispondente all'immagine registrata sull'emulsione fosse esattamente inscritto nel cerchio che delimita l'immagine intermedia massima che l'obbiettivo è progettato per fornire. A questo dovrebbe provvedere il proiettivo, ma eccone la ragione.

Ogni obbiettivo ha un definito campo immagine dato dal diametro dell'immagine intermedia prevista dal progettista ("indice di campo" = s'). Al di fuori di quel limiti, insorgono rapidamente vignettature ed aberrazioni, ma all'interno di essi è contenuta l'informazione (le "linee" totali, vedi il § 30.9.4) che l'obbiettivo è capace di dare. Se non si vuol perdere informazione e quindi risoluzione, quando si fotografa occorre portare sull'emulsione la massima porzione possibile dell'immagine intermedia, cioè del rettangolo inscritto in essa. Occorre allora che l'oculare usato per la mira abbia l'indice di campo massimo consentito dal costruttore (di solito 18 mm per i sistemi classici, 25 per Zeiss, 26 per Leitz, 26,5 per Olympus, 20 - 32 per Jena, ecc.) e che il rettangolo indicante il formato sia esattamente inscritto nel suo campo visivo.

Se l'obbiettivo ha un campo superiore a quello dell'oculare o del proiettivo, occorrerebbe inserire un sistema intermedio con fattore $f_t < 1$ che costringa l'immagine intermedia nel campo visivo dell'oculare. In questo modo, aumenta la risoluzione in linee/mm nell'immagine fotografica, anche se l'occhio non se ne accorge a causa della risoluzione limitata della rètina.

Purtroppo, molti sistemi fotografici del commercio utilizzano solo una parte dell'immagine intermedia e non si sfrutta tutta l'informazione in essa contenuta: si ha una perdita di definizione.

Dimensioni ed orientamento dell'immagine fotografica si controllano osservando negli oculari un oggetto a struttura ben definita (ad es. un micrometro oggetto, § 12.1); poi si pone in luogo della pellicola un vetro smerigliato (o un pezzo di carta "da lucidi") e si confrontano le due immagini. Naturalmente occorrerà aprire la cassetta e poggiare la faccia smerigliata del vetro sulla stessa struttura ove poggia la superficie dell'emulsione.

In certi casi, il sistema fotografico contiene diversi proiettivi, di diverso ingrandimento, rapidamente intercambiabili. È chiaro che di essi solo il più debole potrà sfruttare il massimo indice di campo e quindi dare la massima risoluzione sulla foto. Sul reticolo, vi dovranno essere rettangoli corrispondenti ai formati coperti dai diversi proiettivi.

30.8.3 - Focalizzare

Non parliamo dei sistemi classici, in cui la messa a fuoco si esegue sul vetro smerigliato, poiché il loro uso è intuitivo. Si ricordi che è preferibile avere al centro del vetro smerigliato una finestrella lucida con crocefilo, in modo da poter eseguire la messa a fuoco direttamente sull'immagine reale (l'"immagine aerea", come la chiamano i fotografi). In questo caso è utile una piccola lente d'ingrandimento da poggiare sulla finestrella per aumentare la sensibilità del metodo; la lente deve mettere a fuoco il crocefilo. Quando si sostituisce il vetro smerigliato colla lastra, la messa a fuoco è garantita nella misura in cui, durante la sostituzione, non si è avuta alcuna alterazione della geometria del sistema.

Riferendoci invece allo schema di fig. 129, è chiaro che negli oculari viene formata un'immagine intermedia analoga a quella che è diretta nel canale F. Dopo il semiriflettente, i due canali F e V contengono elementi diversi, ma il fascio che entra in essi è lo stesso (a parte l'intensità). Dunque, dalle caratteristiche e dalla posizione dell'immagine finale nel canale V si può ricavare la posizione dell'immagine nel canale F. In altre parole, si può mettere a fuoco l'immagine in F operando nel canale V, cioè nel mirino o nell'oculare. Questo vale se i due sistemi ottici in F e V sono rigidi fra di loro, e la loro struttura non viene mai alterata, ed inoltre si suppone che il costruttore disponga in modo che vi sia questa corrispondenza di messa a fuoco (parfocalità) fra i due canali. E si noti che l'apertura del fascio che dall'oculare di proiezione raggiunge l'emulsione è minima: con un diametro della pupilla d'uscita dell'oculare che è al massimo di 3 mm, ed una distanza oculare-emulsione di solito almeno 100 mm, si ha un'apertura relativa di almeno $f_{\#} = 100 / 3 = 33$. Da questo deriva una profondità di fuoco sull'emulsione (§ 14) di almeno $P = f_{\#}^2 \lambda = (33)^2 \lambda = 1.000 \times 0{,}5 = 500\ \mu$. Dunque, le quote nel canale F non sono critiche: la tolleranza è dell'ordine di mezzo millimetro almeno.

Se si intende controllare questa parfocalità fra canale visione e canale fotografico, si sostituisca la pellicola con un vetrino smerigliato (superficie smerigliata dal lato dell'emulsione) di dimensioni tali da poggiare sulle stesse superfici su cui poggia normalmente la pellicola. Si esegua la messa a fuoco nel canale visione con uno dei metodi sotto citati; si controlli la focalizzazione sul vetro smerigliato con una buona lente, naturalmente senza ritoccare la messa a fuoco. Per meglio controllare quest'ultima focalizzazione, conviene sostituire il vetro smerigliato con un vetrino lucido; sempre dal lato dell'emulsione, si traccino sul vetrino alcune sottili righe con una qualunque punta d'acciaio o con un pennarello. Quando il vetrino è in posizione corretta, si osservino le righe con una buona lente d'ingrandimento, per es. un "contafili", e si curi di vederle ben nitide. A questo punto, anche l'immagine microscopica deve essere nel miglior fuoco.

I metodi più comuni per mettere a fuoco nel canale di osservazione V sono tre. Il concetto che è loro comune è che il reticolo di inquadramento nell'oculare di mira è parfocale coll'emulsione: se l'immagine è a fuoco col reticolo, essa giace anche nel piano dell'emulsione. Occorre dunque valutare se l'immagine che si osserva giace nel piano del reticolo, e questo è appunto risolto in vario modo.

NB: se l'oculare di mira contenente il reticolo si trova in un tubo bi- o trioculare, si verifichi che la regolazione della distanza interpupillare non alteri la lunghezza del tubo e quindi la messa a fuoco (§ 24.1)[227]. Per lo stesso motivo, l'oculare di mira non deve trovarsi in un tubo a lunghezza regolabile: molti tubi bioculari hanno una o entrambe le sedi degli oculari con una ghiera girevole per la compensazione delle anisometropie; se l'oculare si trova inevitabilmente in un tubo regolabile, si metta la ghiera della regolazione diottrica in posizione di zero. Se invece è l'oculare ad essere regolabile (lente oculare spostabile in altezza per mettere a fuoco il reticolo), questo non dà errori di focalizzazione nel canale F poiché ciò che si sposta non è il reticolo, che fa da riferimento, ma la sola lente che gli sta sopra. L'importante è che il reticolo venga visto a fuoco.

a) Messa a fuoco sul reticolo

Se chi osserva il reticolo porta occhiali di potenza sferica (miopìa o ipermetropìa) non superiore a 3 D, può toglierli; gli occhiali per astigmatici vanno tenuti; gli occhiali da presbite vanno invece tolti. L'importante è che l'osservatore regoli l'apposito anello sull'oculare di mira finché vede nitido il reticolo; per evitare di sforzare inutilmente l'accomodazione, occorre iniziare questa regolazione con la lente tutta svitata (verso l'esterno) e fermare il movimento appena si vede nitido. Ottenuto questo, basta che l'utente regoli la micrometrica finché vede simultaneamente a fuoco reticolo ed oggetto. Ma, ogni volta, occorre assicurarsi di vedere nitido il reticolo, cioè di non aver messo in moto incosciamente l'accomodazione.

I guai nascono quando lo strumento è regolato per un dato osservatore e sopravviene un'altra persona con qualche ametropìa sferica, che si toglie gli occhiali senza prima regolare l'anello di messa a fuoco del reticolo: egli può non accorgersi che il reticolo gli appare sfuocato e la messa a fuoco che egli esegue sulla sola immagine dell'oggetto sarà necessariamente errata.

b) Il cannocchiale ("focussing aid")

Nel caso precedente, la complanarità fra reticolo ed immagine dell'oggetto nel canale V è realizzata "ad occhio" in base alla nitidezza delle due immagini. Per aiutare l'occhio nel valutare tale nitidezza, alcuni costruttori avveduti propongono un piccolo telescopio (secondo la ricetta di Kepler, con ingrandimento pari a 2 - 5 ×, messo a fuoco "per l'infinito") che va applicato sull'oculare di mira ed ingrandisce l'immagine fornita dall'oculare stesso. Chi si abitua a lavorare con questo semplice accessorio, non sa più privarsene. La sua utilità è maggiore ai bassi ingrandimenti poiché gli obbiettivi deboli hanno una pupilla d'uscita più grande ed anche il "disco di Ramsden" (§ 9) è più grande; ne consegue che la pupilla dell'occhio può essere più piccola del "disco" e diaframmarlo, aumentando la profondità di fuoco dello strumento (il "disco" è l'immagine reale della pupilla d'uscita dell'obbiettivo). Ciò rende meno critica la messa a fuoco[228]. Il cannocchiale, nella stessa misura in cui ingrandisce l'immagine del reticolo e dell'oggetto, impiccolisce la pupilla d'uscita dello strumento ed elimina il problema.

---

[227] Questo si verifica nei tubi secondo Siedentopf (§ 24.1), nei tubi a compensazione Leitz e pochi altri.

[228] Tale aumento di profodità di fuoco non si verifica però nel canale F in cui nulla fa da diaframma.

c) La parallasse

Per controllare la complanarità fra reticolo ed immagine dell'oggetto, oltre alla ricerca della "nitidezza" si può basarsi sull'annullamento della "parallasse" (fig. 130): se l'immagine giace nello stesso piano del reticolo (A), spostando lateralmente l'occhio, le due parti non appaiono spostarsi fra loro; se invece esse non sono complanari (B), si ha coincidenza fra centro del reticolo e centro dell'immagine solo se anche l'occhio giace sull'asse (B). Se l'occhio si sposta lateralmente (C), appare uno spostamento relativo del reticolo rispetto l'immagine, detto "parallasse".

In pratica, per applicare il metodo della parallasse, si sposta il capo a destra ed a sinistra alternativamente e si regola la micrometrica finché il reticolo appare immobile rispetto l'immagine. È la situazione di coincidenza schematizzata in (A).

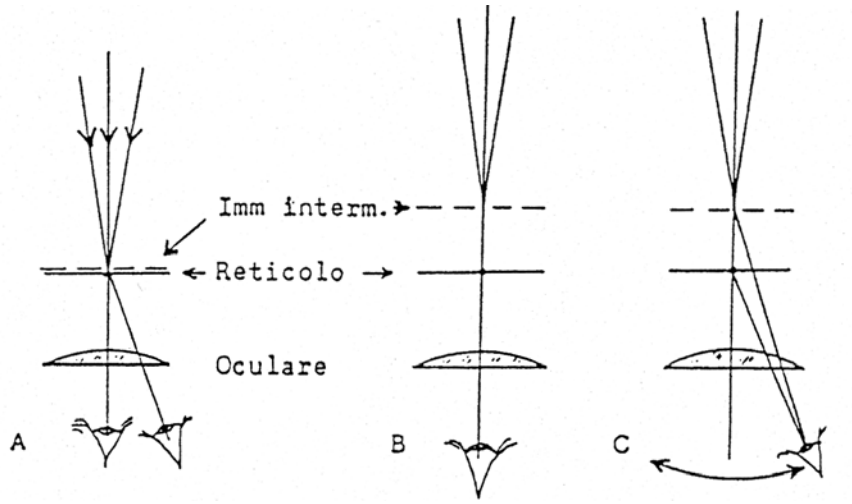


Fig. 130 - Il fenomeno della parallasse nella messa a fuoco con reticolo

30.8.4 - Misurare il tempo di esposizione

Tale misura si può effettuare semplicemente poggiando una fotocellula sull'oculare di mira. Ma normalmente vi è un congegno apposito all'interno del sistema, generalmente nel canale F . Si tratta di un elemento sensibile che viene inserito meccanicamente nel cammino ottico a mezzo di un pulsante esterno oppure che riceve stabilmente una porzione del fascio, ottenuta da un semiriflettente.

Rispetto al fascio globale che produce l'immagine fotografica, il sensore può risultare sensibile a tutta o quasi l'estensione del fascio ("misura integrale"). Questo metodo è valido se la brillanza dell'immagine è abbastanza omogenea e quindi i contrasti sono piccoli.

Se invece l'oggetto interessante occupa una piccola parte del campo ed è scuro su fondo chiaro (globuli bianchi, cellule isolate su striscio, ecc.), oppure è chiaro su sfondo nero (campo scuro, fluorescenza, polarizzazione, ecc.), allora bisogna eseguire la misura fotometrica su una piccolissima regione del campo visuale, in corrispondenza della quale deve trovarsi l'oggetto interessante ("misura puntiforme" o "spot").

Queste possibilità sono offerte dai migliori costruttori. La regione "puntiforme" in cui viene effettuata la misura "spot" viene indicata sul reticolo di mira da un apposito cerchietto centrale. L'utente deve spostare il preparato finché il cerchietto viene occupato per intero dall'oggetto che gli interessa di più. Il resto dell'immagine potrà risultare sovra-esposto o

sotto-esposto, ma questo è inevitabile; ed è inutile farsi illusioni sulla "latitudine di posa" delle emulsioni fotografiche[229].

Presso certi costruttori si trova uno "spot" mobile che rende non più necessario portare l'oggetto a coincidere col centro del campo. Altri costruttori offrono due spot concentrici di diversa estensione.

Poiché lo spot utilizza solo una piccolissima parte del campo immagine (di solito l'1 %) e quindi una piccola parte della radiazione che attraversa il campo visuale, deve possedere un rivelatore assai sensibile, spesso un foto-moltiplicatore ad anodi multipli.

Quando non si dispone di un esposimetro spot, è generalmente possibile risolvere problemi di esposizione per oggetti piccoli con qualche semplice calcolo.

Si abbia, ad esempio, un oggetto chiaro su fondo scuro, come un cristallo in radiazione polarizzata. Si misuri, almeno ad occhio, il lato dell'oggetto rispetto al rettangolo che delimita il formato fotografico. Se, ad es., il lato del cristallo (media fra lato lungo e lato corto) è 1/10 del lato (medio) del formato, si può dire che, all'incirca, la superficie dell'oggetto occupa 1/100 del formato. Quindi l'esposimetro (integrale, s'intende) riceve 1/100 dell'energia che riceverebbe se l'oggetto occupasse tutto il formato. A questo punto non c'è che dividere per 100 il tempo di posa indicato dallo strumento, che naturalmente non deve comandare automaticamente l'otturatore.

Occorrerà semmai tener conto dello "scarto dalla legge di reciprocità" (detto "**effetto Schwarzschild**") secondo il quale, diminuendo l'illuminazione della pellicola, non basta aumentare in pari misura il tempo di esposizione (altrimenti sarebbe sempre valida la "legge di reciprocità" e non si avrebbe lo "scarto dalla legge … "). Occorre invece introdurre un fattore di correzione, che dipende dal tipo di materiale fotografico. Per es., per le diapositive a colori, quando il tempo indicato dall'esposimetro o calcolato è intorno a 20 sec., è bene moltiplicarlo per circa 2 ; quando arriva a qualche minuto, è bene moltiplicarlo per 3 - 4 , e così via.

Si ricordi anche che, in campo oscuro, l'occhio gradisce nella foto una certa sovraesposizione.

Naturalmente, l'esposimetro dovrebbe avere la stessa "curva spettrale di sensibilità" dell'emulsione fotografica, cioè rispondere allo stesso modo ai vari colori. Ma ciò non può mai essere del tutto verificato, se non altro perché i diversi tipi di emulsione hanno curve di sensibilità diverse, e tali curve variano col variare del tempo di posa, colle condizioni di magazzinaggio, coi parametri di sviluppo, ecc. Ed anche la provenienza del materiale fotografico ha il suo peso: l'esperienza insegna che la tale pellicola "made in France" "tira al giallo", mentre, se è "made in USA", tira al blu, ecc. Coll'approssimarsi della data di scadenza, molte pellicole "tirano al blu", oltre a divenire meno sensibili.

Il tempo misurato dall'esposimetro può essere indicato in forma analogica o digitale da un apposito display, magari memorizzato, ed anche modificato a seconda della sensibilità nominale della pellicola (che l'utente deve impostare a mano su apposito comando o che può essere percepita da appositi sensori che "guardano" la superficie esterna del caricatore ove tale sensibilità è codificata da rettangolini bianchi e neri). In alcuni casi, il circuito di misura viene informato da appositi sensori circa il formato fotografico utilizzato e corregge opportunamente il tempo: se il formato è maggiore, la radiazione si distribuisce su una superficie più grande ed occorre allungare in proporzione il tempo di posa. A volte, il formato

---

[229] Da questo punto di vista, sono assai più "morbide" le emulsioni in bianco-nero; fra le emulsioni per diapositive a colori è nettamente migliore la Kodachrome, ma il tipo per luce artificiale è da anni fuori produzione.

Non si parla qui della fotografia digitale, ma possiamo aggiungere che i sensori elettronici mostrano spesso una latitudine di posa anche peggiore delle emulsioni fotografiche.

può essere selezionato dall'utente semplicemente premendo un pulsante.

Nei sistemi più semplici, il tempo indicato sul display deve venire manualmente impostato sull'otturatore; ma spesso l'otturatore viene comandato direttamente dall'esposimetro.

Appositi segnali luminosi possono informare sullo stato del sistema: esposizione in corso, troppa luce o troppo poca, caricatore non inserito, ecc.

L'elettronica moderna di continuo sforna nuove soluzioni tecniche; ma si ricordi che i meccanismi più complicati sono quelli che si guastano più in fretta e per i quali è più difficile trovare i ricambi. Dopo tutto, non esiste un marchingegno così perfezionato che possa venir usato da uno stupido. La buona foto nasce più dall'abilità e dalla pazienza del tecnico che dalle sofisticherie della macchina.

30.8.5 - L'otturatore

È questo un organo, normalmente di natura meccanica se a comando manuale, o elettromeccanica se a comando automatico, che provvede a trasmettere o a bloccare il fascio nel canale F (vedi sempre la fig. 129). È ovvio che il canale V è sempre aperto, anche quando uno specchio mobile o un prisma convoglia l'intero fascio nel canale foto durante la posa.

Le caratteristiche di un otturatore da microscopio sono:

— Tagliare il fascio in un punto in cui il suo diametro è minimo, per es. presso la pupilla d'uscita dell'oculare (disco di Ramsden). Se l'otturatore tagliasse un fascio di grande diametro, poiché il suo movimento è relativamente lento rispetto ai tempi di posa corti, succederebbe che le parti più esterne del fascio verrebbero scoperte dopo (in fase di apertura) e tagliate prima di altre (in fase di richiusura), e quindi il tempo di posa non sarebbe costante su tutto il fotogramma.

— Tagliare il fascio DOPO l'esposimetro. La ragione è ovvia.

— Non produrre vibrazioni dannose. Il microscopio ingrandisce l'immagine dell'oggetto, ma anche le sue vibrazioni! Di solito si usano otturatori "centrali" con lamelle a movimento radiale, piuttosto che le "tendine" a movimento laterale: in un otturatore centrale, in teoria, il baricentro non si sposta durante l'apertura e la chiusura.

In ogni caso, è sempre bene ridurre l'influenza delle vibrazioni dell'otturatore, che durano una frazione di secondo, usando tempi di posa di qualche secondo, al cui confronto la durata delle vibrazioni è trascurabile. Evitare i tempi superiori a circa 10 sec. poiché allora diventano importanti le vibrazioni del pavimento, specie in prossimità di strade, industrie pesanti, ecc.

Altra accortezza è quella di non lubrificare mai le lamelle di un otturatore: l'adesione fra le lamelle ne bloccherebbe il movimento. Lo stesso vale per i diaframmi ad iride, anche se questi sono assai meno sensibili per via del comando manuale.

30.8.6 - Definizione e risoluzione nell'immagine fotografica

Tra oggetto ed emulsione si trova un sistema ottico costituito almeno da obbiettivo e proiettivo (od oculare), ma spesso anche da prismi, lenti di tubo, lenti di camera, ecc. Globalmente, il sistema deve essere corretto nel miglior modo da tutte le aberrazioni, specie

quelle che influiscono di più sul risultato fotografico: sferica, cromatica assiale e laterale, curvatura.

È questo un problema che solo il costruttore può risolvere, adeguando il sistema ottico nel canale F alle caratteristiche del sistema globale. L'utilizzatore dovrà solo rispettare le indicazioni circa l'uso di proiettivi ed altre parti intermedie.

Per una verifica delle caratteristiche dell'immagine da fotografare, si possono usare gli stessi mezzi che si usano per la verifica dell'immagine visuale o per il controllo dell'inquadratura: reticoli, micrometri oggetto o simili[230]. Occorre togliere la pellicola, poggiare un vetro piano e lucido (siamo sul piano immagine e quindi non occorre un vetro ottico con planeità controllata) sulle stesse superfici di riferimento su cui poggia l'emulsione, poste presso i bordi della "finestrella", ed osservare l'immagine reale con una buona lente d'ingrandimento, poggiata sul vetro.

In questo modo si rivela anche l'esistenza di "**immagini catadiottriche**"[231], piccoli riflessi chiari al centro del campo. Ecco la loro origine: fra tutte le superfici aria-vetro esistenti fra pupilla d'obbiettivo ed emulsione, si possono considerare tutte le coppie possibili; per ognuna di queste coppie, il fascio ottico viene parzialmente riflesso all'indietro dalla superficie più alta della coppia e poi ancora parzialmente riflesso in avanti dalla superficie inferiore. Si crea così un sistema ottico riflettente (cata-) e rifrangente (di-ottrico) che può formare un'immagine spuria della pupilla d'obbiettivo più o meno a fuoco sull'emulsione. Tale "cata-diottrica" può non essere visibile nel canale V poiché il sistema ottico è diverso. Queste macchie chiare sulla foto possono formarsi per ognuna delle possibili combinazioni obbiettivo - proiettivo - lenti intermedie - filtri - ecc. e tali combinazioni, in uno strumento normale, sono tante ed il costruttore non può prevedere tutti i casi possibili.

Macchie chiare sulla foto possono formarsi, generalmente fuori centro, anche per riflessione sulle pareti interne dei tubi e dei raccordi nel canale F . Non sempre il costruttore provvede con sufficienti annerimenti interni di quelle parti. Un controllo è possibile col metodo del vetro smerigliato in luogo della pellicola. In ogni caso, per ridurre i riflessi interni, è bene chiudere il più possibile il diaframma di campo e quello di apertura: si eviteranno inutili raggi obliqui.

30.8.7 - I formati e le emulsioni

Esistono in commercio molti materiali fotografici su pellicola normale, su pellicola rigida, su lastra, ecc. in vari formati. I materiali previsti per realizzare immagini a colori positive, in generale trasparenti, cioè dia-positive, sono indicati commercialmente con nomi che terminano per "chrome" (Kodachrome Agfachrome ecc.); quelli destinati a realizzare negativi destinati alla stampa a colori hanno nomi che terminano con "color" (Kodacolor, Agfacolor, ecc.).

Un buon costruttore di microcamere deve fornire gli accessori necessari per utilizzare tutti quei materiali e quei formati, per lo meno dal "formato Leica" (24 × 36 mm) al 9 × 12 cm (pari circa a 4 × 5 pollici).

Per ogni formato, il sistema ottico dovrà essere predisposto all'interno del "raccordo" in modo da sfruttare appieno il campo immagine fornito dal microscopio (vedi i §§ 25.2 e 30.8.2). Se vi sono proiettivi intercambiabili, quello più debole in linea di principio dà la massima risoluzione sul piano dell'emulsione poiché utilizza la maggior parte possibile dell'immagine finale.

---

[230] Lo star test (§ 18.4) è prezioso per il controllo delle aberrazioni del punto.

[231] Vedi l'art. n° 31.

Per la scelta dell'emulsione, riportiamo qualche criterio fondamentale.

— La emulsioni a maggior risoluzione sono quelle in bianco e nero, specie le meno sensibili. Questo vantaggio è apprezzabile quando il microscopio ha una risoluzione (sul piano immagine) superiore a quella dell'emulsione. Questo può avvenire con gli obbiettivi più deboli e con maggiore apertura. Cogli obbiettivi forti, in genere, l'emulsione ha una risoluzione maggiore di quella del microscopio e quindi tanto vale usare emulsioni a colori, che hanno minor risoluzione[232].

— Soprattutto in vista della riproduzione tipografica, la maggior risoluzione si ha con i formati grandi, ma ancora una volta il vantaggio si sente coi minori ingrandimenti. Gli obbiettivi forti, per ragioni ottiche, danno una risoluzione maggiore sul piano oggetto (maggiore apertura), ma inferiore sull'immagine finale (l'ingrandimento cresce in misura maggiore dell'apertura: si veda la nota precedente).

— Le pellicole B - N possono funzionare bene con qualunque tipo di sorgente, purché non si usino filtri a colori molto saturi con banda passante agli estremi dello spettro ottico.

— Le pellicole a colori "per luce artificiale ("tungsten") del tipo B o, meglio ancora, del tipo A, vanno bene con una lampada al quarzo-iodio. Con una lampada a xeno o con la luce del cielo nuvoloso occorre un filtro di compensazione color ambra da + 12 DM (§ 23.2), come il Wratten Kodak 85 B.

— Le pellicole a colori "per luce diurna" ("daylight") vanno bene con le lampade a xeno o col cielo nuvoloso; con lampade al quarzo-iodio, usare un filtro di compensazione blu da almeno – 12 DM, come il Wratten Kodak 80 A.

— Nessuna emulsione rende bene i colori con una sorgente a vapori di mercurio, tranne che la si usi in fluorescenza; nessun filtro è adatto poiché si tratta di sorgenti "a righe".

— La resa dei colori, come si è detto sopra, varia come la sensibilità reale da un'emulsione all'altra, anche di pari sensibilità nominale. Varia anche in base alla durata ed alle condizioni di stagionamento, alla provenienza, alle condizioni di sviluppo, ecc. Nulla è prevedibile.

— Esistono in commercio pellicole "per tempi lunghi", più adatte ai tempi normalmente usati in microscopia.

— Tutte le pellicole, in B - N o a colori, sono assai più sensibili dell'occhio al viola ed all'UV. Ne deriva che un sistema normale (obb. acromatico, ad es.), adatto all'osservazione visuale, può dare un effetto di "flou" (aloni sbiaditi) anche nelle pellicole in B - N poiché a quelle lunghezze d'onda il sistema ottico non è più corretto. Quindi è prudente l'uso stabile di un filtro anti-calorifico o di un anti-UV; in B - N è di solito possibile l'uso di un filtro verde, possibilmente a banda stretta.

30.8.8 - I filtri (vedi anche il § 23)

Normalmente, i filtri e la sorgente si trovano all'inizio del cammino ottico del microscopio, e quindi ben lontani dal sistema fotografico. Ma essi possono ugualmente influire molto sul risultato finale, per ragioni ovvie.

Avendo già trattato dell'argomento più sopra, limitiamoci a ricordare alcune indicazioni pratiche.

---

[232] Si faccia questo confronto: obb. apocromatico 10/0,45; la risoluzione massima nel piano oggetto (formula 7), con $\lambda = 0{,}5\ \mu$ è : $r = 0{,}61\ \lambda / NA$ pari a circa $0{,}61 \times 0{,}5 / 0{,}45 = 0{,}3 / 0{,}45 = 0{,}68\ \mu$, pari a 1500 linee/mm. Con un obb. apocromatico 100/1,3, si ha $r = 0{,}234\ \mu$, pari a 4250 linee/mm. Passiamo all'immagine finale; supponendo un proiettivo 4 ×, l'ingrandimento finale sull'emulsione per i due obbiettivi sopra citati è $M = 10 \times 4 = 40$ oppure $M = 100 \times 4 = 400$. La risoluzione sul piano dell'emulsione in linee/mm è allora, rispettivamente, $1500 / 40 = 38$ e $4250 / 400 = 11$. Come si vede, l'obbiettivo forte è in difetto. Nel primo caso, la risoluzione di una pellicola a colori è appena sufficiente (30 - 50 linee/mm), nel secondo caso, è ampiamente sufficiente. La pellicola in B - N può arrivare a più di 100 linee/mm.

— I filtri in gelatina sono sensibili al calore e vanno protetti con un anti-calorifico, specie se sono scuri, cioè assorbono molto. Lo stesso vale per l' UV prodotto dalle lampade a mercurio: salvo il caso della fluorescenza, occorre sempre introdurre un filtro anti-UV subito dopo la lampada o il collettore.

— Lo stesso vale per i filtri misti (vetro-gelatina), come certi filtri di arresto per fluorescenza, e per i Polaroid.

— Un filtro anticalorifico in genere assorbe molto anche l'UV e pertanto è utile per proteggere obbiettivo e preparato dal riscaldamento e dalla decolorazione, per allungare la durata dei preparati contenenti esseri viventi, ecc. Più efficaci sono quelli di tipo interferenziale.

— In B - N , i filtri colorati consentono di variare il contrasto in base a questo principio intuitivo: un filtro dello stesso colore dell'oggetto ne attenua il contrasto rispetto al fondo; se è di colore complementare, ne esalta il contrasto. Per oggetti opachi all'infrarosso, come il rivestimento chitinoso o "esoscheletro" degli insetti, usare un filtro rosso estremo o infrarosso.

— Dei filtri di compensazione per la fotografia a colori si è già parlato qui sopra e nel § 23.

— Un vetro smerigliato può essere prezioso in fotografia a fondo chiaro per rendere omogeneo il "fondo": l'emulsione è assai più sensibile dell'occhio alle differenze di luminosità. Esso però porta spesso ad una perdita di contrasto e comunque ad una forte perdita di luminosità, fino a 100 volte (a seconda del punto in cui è sistemato, § 22.2.4), e pertanto va escluso in fluorescenza, campo scuro, ecc.

30.8.9 - Le sorgenti

Se ne è già parlato nel § 22.6 e poco sopra, a proposito della scelta delle emulsioni. Riportiamo anche qui alcuni consigli pratici.

Le sorgenti più diffuse e più comode sono quelle ad incandescenza, a filamento di tungsteno; la loro alimentazione è semplice, il loro spettro è continuo. Il loro rendimento è però basso: al massimo il 5 % dell'energia da loro dissipata viene restituita come radiazione "ottica". La loro temperatura di colore (TC) è di 2600 - 3400 °K; quindi esse non danno problemi per l'osservazione, la fotografia in B - N ed a colori, purché con pellicole per luce artificiale. Al massimo, richiedono un filtro di correzione leggero, dell'ordine di – 2 o – 3 DM (blu chiaro). I filtri "luce diurna", spesso consigliati per l'osservazione, per facilitare il riconoscimento dei colori, sono troppo forti in questo contesto, poiché vanno da – 3 a – 6 DM. Per la fotografia con pellicole per luce diurna occorre un blu più carico, con un valore di mired di almeno – 12 DM.

La vita media delle sorgenti a tungsteno è assai variabile e decresce rapidamente col crescere della loro TC.

Da decenni si sono imposte le sorgenti ad incandescenza "al quarzo-iodio" (QI) o "ad alogeni" (non sempre è iodio), in cui la TC varia da 3200 a 3400 °K. Per la fotografia con pellicole per luce artificiale, in linea di principio, è inutile il filtro di compensazione. In pratica, sarà da vedere.

In microscopia si usano potenze da 10 W (diascopia, fondo chiaro) a 100 W (tecniche interferenziali ed altre), e non vi sono difficoltà per tutte le tecniche, tranne la fluorescenza in UV e la proiezione.

Per la fluorescenza, come si è detto nel § 22.6, è preferibile usare le lampade ad arco in vapori di mercurio, a causa del loro spettro a righe; ma queste lampade non sono adatte alla fotografia a colori, sia per la loro elevata temperatura di colore, sia per l'impossibilità di

"compensarle" con filtri.

Le lampade ad arco in xeno, per la loro temperatura di colore (5.500 °K), sono invece adattissime alle pellicole "per luce diurna".

30.9 - La RIPRESA TELEVISIVA al MICROSCOPIO

Quando l'immagine reale che il microscopio può fornire deve essere proiettata sulla superficie fotosensibile di una camera da ripresa del tipo televisivo, si ritrovano molti dei problemi caratteristici delle ripresa con emulsioni fotografiche. In particolare, problemi di inquadramento e delimitazione dell'immagine, focalizzazione, risoluzione e definizione, illuminazione. Quindi problemi di filtri, sorgenti, resa dei colori …

Altri problemi invece non si presentano nella ripresa televisiva. Per es., la funzione dell'esposimetro viene in genere svolta all'interno della telecamera, la quale può provvedere da sola, entro certi limiti, a compensare le variazioni di luminosità dell'immagine; al massimo, un indicatore segnalerà la condizione di "troppa" o "troppo poca luce", che l'apparecchio non è più in grado di correggere da solo. In molte telecamere, l'obbiettivo è dotato di un diaframma automatico, che contribuisce alla compensazione appena descritta; ma, come vedremo, in genere la telecamera deve essere privata del suo obbiettivo prima di essere applicata sul microscopio ed il diaframma automatico non può intervenire.

Del resto, e questo vale anche per la fotografia, un diaframma automatico, che si chiude da solo appena l'esposimetro denuncia "troppa luce", provoca immancabilemnte qualche vignettatura. Una ripresa fotografica o televisiva al microscopio con macchine ancora provviste del loro obbiettivo presuppone che il diaframma sia comandabile manualmente e venga tenuto tutto aperto.

Anche l'otturatore non esiste in una telecamera, visto che la ripresa è continua.

Vediamo ora il problema della valutazione dell'immagine dal punto di vista dell'inquadramento, dell'orientamento, dell'ingrandimento, della messa a fuoco.

Il segnale televisivo diviene visibile come immagine completa in un apposito "**display**" o "**monitor**", che esteriormente e come funzione assomiglia molto ad un televisore. Si può trattare di uno schermo piccolissimo (che si osserva spesso attraverso una lente d'ingrandimento) fissato sulla telecamera; questa disposizione non è utile in microscopia se la telecamera va fissata sopra al microscopio voltata verso il basso ed il display è fisso, generalmente rivolto dalla parte opposta all'oggetto; in questo caso, il display dovrebbe essere osservato salendo su una sedia e guardando verso il basso. Spesso però le telecamere moderne possiedono un display orientabile a volontà, ed il problema cade.

Invece è utilissimo un piccolo monitor (anche di 10 cm di larghezza) poggiato sul tavolo presso il microscopio, che l'operatore può osservare stando seduto, mentre manipola lo strumento. Più in alto, per eventuali studenti o spettatori, vi può essere un secondo grande schermo, anche fuori dalla visibilità dell'operatore.

La focalizzazione si valuta in base alla definizione dell'immagine sul monitor. L'inquadramento si valuta rispetto ai margini del monitor.

Si ricordi però che l'immagine televisiva è sempre molto più scadente di quella ottica, se non altro per il fatto di essere suddivisa in 625 righe parallele e di essere intermittente come quella cinematografica. È quindi sempre augurabile che l'operatore disponga di un mirino ottico o un tubo bioculare, come in fotografia.

30.9.1 - Il materiale sensibile televisivo

1) Tubi da ripresa a vuoto spinto, basati sull'effetto termoionico e sulla trasformazione dell'immagine ottica in immagine elettrostatica (**Orticon**, **Vidicon**, **Newvicon**, ecc.).

Un fascio di elettroni, generato da un catodo riscaldato elettricamente, viene focalizzato su una superficie fotosensibile con un sistema di lenti elettrostatiche e deflesso in due direzioni ortogonali a mezzo di campi magnetici od elettrici variabili, in modo da esplorare per righe parallele successive tutta la superficie sensibile; l'insieme delle righe è detto "**raster**"[233]. Sulla superficie sensibile è proiettata l'immagine ottica, che viene quindi esplorata riga dopo riga in 1 / 50 di secondo e genera contemporaneamente un segnale elettrico che descrive punto per punto la luminosità (ed eventualmente il colore) dell'immagine stessa. Tale segnale "video" viene poi amplificato e trasmesso al monitor assieme ai segnali di sincronismo, che consentono di avere la fase corretta fra la deflessione nella telecamera e quella sul monitor. Sullo strato luminescente di quest'ultimo viene parimenti proiettato un fascio focalizzato di elettroni, che viene deflesso con meccanismi analoghi e riproduce quindi, riga dopo riga, l'immagine analizzata nella telecamera. Il fascio di elettroni nel monitor suscita la fosforescenza in uno strato di materiali speciali, ed essendo "modulato" dal segnale video può riprodurre i chiari-scuri o i colori dell'immagine di partenza. Si vanno diffondendo anche altri tipi di superfici luminescenti, per cui si hanno monitor "a **cristalli liquidi**", "al plasma", a **LED** o a led organici (OLED), ecc.

I tubi di ripresa "a vuoto" si basano su un tubo di vetro a vuoto molto spinto (per consentire il movimento degli elettroni), della lunghezza di almeno 10 cm, complesso come struttura e come alimentazione elettrica. Esso è quindi ingombrante e fragile; inoltre, può essere danneggiato irrimediabilmente da un'illuminazione troppo forte. La presenza di un catodo riscaldato richiede un certo tempo di pre-riscaldamento, da qualche secondo a qualche minuto. La presenza di un fascio di elettroni nel vuoto rende questi "tubi" sensibili ai campi magnetici.

2) Sistemi integrati a stato solido (**CCD** = Charge Coupled Device, o **CMOS** = Complementary Metal Oxide Semiconductor, o simili).

Si tratta di dispositivi molto sottili a semi-conduttori. La superficie sensibile è costituita da una matrice a maglie quadrate di elementi fotosensibili singoli detti "**pixel**", disposti in file parallele.

Le telecamere a CCD o CMOS sono più piccole e leggere di quelle a Vidicon e più semplici nell'alimentazione elettrica. Più raramente subiscono danni permanenti da sovra-illuminazione e possono a volte lavorare a livelli di illuminazione più bassi. Il tempo di avviamento è minimo, anche una frazione di secondo.

Per contro, la risoluzione di un CCD è spesso minore di quella di un Orticon o anche di un Vidicon e la loro "dinamica" (o "latitudine di posa") è generalmente minore, tanto minore quanto più piccolo è il sensore. Poiché al microscopio il livello di luminosità cambia facilmente (basta la sostituzione dell'obbiettivo, la manovra del diaframma d'apertura, ecc.) una telecamera a CCD obbliga ad una frequente variazione dell'alimentazione della lampada, alla sostituzione di filtri grigi, ecc. Questo può diventare snervante.

Entrambi i tipi di telecamere vengono costruiti per il B - N (bianco-nero) o per il colore; quelle in B - N sono più economiche se del tipo a Vidicon, ma il rapido sviluppo dei tipi a

---

[233] Nello standard europeo vi sono 625 righe per ogni "quadro", e 25 quadri al secondo; le 625 righe sono divise in due gruppi uguali di righe che si alternano ("interlacciatura") per un totale di 50 campi al secondo, sincroni con la tensione alternata della rete elettrica. Nello standard americano, le righe sono 525 ed i campi 60/sec.

CCD ne abbassa i costi.

I CCD sono insensibili ai campi magnetici.

Le telecamere professionali o "broadcasting" non possono essere usate al microscopio, e non solo per il loro costo, ma anche per l'ingombro ed il peso; occorrerebbe un supporto separato molto robusto.

Le caratteristiche di un sistema televisivo che interessano ai nostri fini sono esaminate nei seguenti capitoli.

30.9.2 - **Sensibilità spettrale** (variazione della sensibilità al variare della lunghezza d'onda)

I materiali disponibili sul mercato sono molti e non sempre i costruttori forniscono i dati completi. Riassumendo si può comunque dare qualche indicazione:

— I Vidicon in B - N non danno grandi problemi riguardo al colore; per influire sul contrasto si possono usare i filtri colorati secondo i criteri già visti a proposito della fotografia.

— I sistemi a CCD , in B - N o a colori, sono molto sensibili all'IR (infrarosso); per evitare discrepanze con la visione, si pone spesso un filtro anti-IR davanti al sensore; ciò evita anche l'effetto delle aberrazioni, che possono peggiorare molto nella banda IR.

— I sistemi a colori hanno una resa cromatica molto variabile, instabile, e generalmente meno fedele di una comune pellicola fotografica. I sistemi a CCD sono comunque più stabili nel tempo. Per fortuna, molte applicazioni della microscopia non richiedono una elevata fedeltà dei colori. Fanno eccezione alcuni casi, in cui i colori hanno valore diagnostico: colorazioni speciali (riconoscimento di specie batteriche col metodo Gram, ecc.), misure di birifrazione in base ai colori di interferenza in luce polarizzata, e così via.

— Come per le emulsioni fotografiche, anche una telecamera è sensibile alla **temperatura di colore** (**TC**) della sorgente (§ 22.6.4) e dà la miglior riproduzione dei colori solo con sorgenti dalle caratteristiche definite. I casi pratici si riducono a tre:

-- luce diurna o "**daylight**" o "**outdoor**", data dal cielo e dal sole, con TC variabile (a seconda della stagione, dell'ora, della latitudine, dello stato meteorologico, ecc.) fra 5.000 e 20.000 °K. Le sole sorgenti artificiali paragonabili a quella "diurna" sono le lampade a xeno (TC = 6.000 °K circa)

-- luce artificiale o "**indoor**" con lampade speciali come quelle al quarzo-iodio, con TC = 3.000 - 3.400 °K.

-- luce artificiale di altro tipo; le lampade ad incandescenza normali hanno TC = 2.400 - 2.700 °K; quelle "al neon" o "fluorescenti" hanno uno spettro di emissione svariatissimo, spesso a bande e righe, imprevedibile e variabile nel tempo, soprattutto con l'invecchiamento.

Spesso le telecamere possiedono un dispositivo, manuale od automatico, per commutare la risposta del sistema ed adattarla ai valori di TC più comuni: 3.200 e 5.500 °K, per es. La risposta più fedele ai colori si ha nelle telecamere "tri-tubo", in cui il fascio che forma l'immagine viene diviso in tre, con un gioco di specchi e **filtri dicromatici**, ed ogni fascio corrisponde ai tre "**colori fondamentali**" normalmente usati nella riproduzione dei colori nella grafica, nella fotografia, ecc. Per ogni fascio esiste un distinto sensore (tubo a vuoto o CCD). Le telecamere tritubo sono ovviamente più ingombranti e più costose di quelle mono-tubo.

Comunque, per una migliore resa dei colori, è previsto spesso qualche "trimmer" di bilanciamento, da regolare volta per volta.

30.9.3 - Sensibilità totale

I sistemi televisivi attuali non pongono problemi per le tecniche normali della microscopia, quando si possono usare normali lampade a filamento concentrato a bassa tensione. Con l'eventuale uso di filtri grigi, è normalmente possibile trovare una condizione di funzionamento corretta quanto a luminosità dell'immagine.

Un'illuminazione eccessiva o insufficiente si rivela in genere con una perdita di contrasto; quella eccessiva dà un fondo bianco; quella insufficiente, dà un fondo grigio. I CCD hanno spesso una minor tolleranza dei Vidicon a questo riguardo, nel senso che tollerano minori variazioni di luminosità, come già detto. Naturalmente, la luminosità del monitor non dipende solo dalla luminosità dell'immagine proiettata sul sensore della telecamera, ma anche da appositi comandi ("Luminosità", "Contrasto") sul monitor stesso.

Inoltre, molte telecamere possiedono un "**mirino**" nel quale un indice apposito rivela un difetto o un eccesso di luminosità dell'oggetto ripreso.

Molte telecamere possiedono poi un controllo automatico del diaframma dell'obbiettivo, proprio per neutralizzare livelli anomali di luminosità della scena; ma in microscopia questo accorgimento di solito non serve: come già detto, l'obbiettivo della telecamera di solito non viene usato e comunque la chiusura del suo diaframma potrebbe portare a vignettature nell'immagine (§§ 4.4 e 8.8, fig. 33) quando la pupilla d'ingresso di tale obbiettivo non coincide colla pupilla d'uscita del proiettivo o dell'oculare.

In genere, vi è poi un controllo automatico dell'amplificazione di tutta la parte elettronica (detto **AGC** = Automatic Gain Control) che tende sempre a neutralizzare luminosità eccessive o insufficienti; ma questo dispositivo agisce solo sul segnale elettrico ("video") e non può quindi variare il flusso ottico sulla superficie sensibile: se il flusso è eccessivo, come già detto, si avrà una perdita di contrasto poiché l'elemento sensibile "va in **saturazione**": la sua risposta si appiattisce poiché esso lavora in un tratto orizzontale della sua curva di sensibilità. Se il flusso è insufficiente, aumenta il "**rumore di fondo**"[234] dell'immagine televisiva poiché il "rumore" elettrico del circuito diventa preponderante rispetto al segnale ottico utile. In pratica, aumenta l' "**effetto neve**" sul monitor fino a nascondere l'immagine utile. Questo avviene in quanto l' AGC del circuito amplifica in misura eccessiva il debole segnale utile ma, simultaneamente, anche il rumore elettrico prodotto all'interno del circuito che precede[235].

Normalmente, la sensibilità di una telecamera viene espressa come minimo livello di illuminazione necessario per avere un'immagine discriminabile sopra il rumore di fondo (vedi oltre). In questo contesto, ci si riferisce all'illuminazione della scena posta di fronte alla telecamera, munita di un obbiettivo con apertura relativa $f_{\#} = 1,4$. L'illuminazione si misura in lux (lx): 1 lx = 1 lumen / m^2 = 10^{-4} Phot = 0,0929 ft-c (vedi nota [236]).

Sono normali sensibilità da 2 a 30 lux per i CCD ; spesso peggiori per i **Vidicon**.

30.9.4 - Risoluzione

Si è già definita la risoluzione come l'inverso di **d** , cioè della distanza minima che un sistema ottico può risolvere, e che è pari al raggio **r** della centrica (o del cerchio di

---

[234] Vedi il § 30.9.7 .

[235] Spesso, l'efficienza dell' AGC è maggiore nei sistemi in bianco-nero e basati su Vidicon od Orticon.

[236] Si noti che ft-c ("foot-candle") è un'unità legata allo standard inglese. L'illuminazione si indica col simbolo E .

confusione globale) nelle migliori condizioni (§ 18.3). Precisiamo.

Il valore di **d** ricavato dalla formula (50) rappresenta il massimo possibile, cioè il limite teorico, per la risoluzione di un sistema ottico "perfetto", cioè corretto dalle aberrazioni "del punto" (§ 13.2) e da ogni causa di perdita di contrasto, luce diffusa, sfocatura, ecc., in misura tale da rendere il loro effetto globale trascurabile rispetto agli effetti della diffrazione. Nei microscopi di media e buona qualità questo livello di correzione è sempre raggiunto, almeno in centro al campo. Se ne è già parlato, e si ricordi di distinguere sempre fra risoluzione nel piano oggetto e nell'immagine finale: il rapporto fra le due è, in linea di massima, dato dall'ingrandimento lineare del sistema.

Ebbene, il valore di **d** corrisponde all'incirca al "passo minimo" del reticolo le cui righe sono ancora distinguibili nell'immagine del reticolo data dal sistema in esame (§ 17.2). Si parla qui di un "reticolo" costituito da righe trasparenti ed opache alternate, righe diritte a lati paralleli, di pari larghezza. Il "passo" è la larghezza di un coppia: riga opaca + riga trasparente.

Per misurare il potere risolutivo in un'immagine si può quindi misurare il passo minimo (**d**) delle righe che si riconoscono ancora in essa, oppure contare il numero di righe massimo per ogni millimetro nell'immagine. In quest'ultimo caso, la risoluzione R è data da $R = 1 / d$, supposto che **d** sia espresso in mm. R si esprime così in "linee per millimetro" (l/mm). Analoghe considerazioni si sono fatte per le emulsioni fotografiche.

Quando le dimensioni dell'immagine sono definite, come nel caso di una telecamera, allora si può esprimere la risoluzione come Rt = numero totale massimo delle linee presenti nell'immagine. Se **h** è la dimensione considerata, espressa sempre in millimetri, sarà $Rt = R \cdot h$.

Rt si esprime in "linee totali" o "**linee TV**".

In una telecamera, si può indicare con **h** , a seconda dei casi, una delle tre dimensioni del formato televisivo, che è sempre rettangolare: altezza, larghezza, diagonale. Non c'è uniformità su questo punto ed è bene fare molta attenzione quando si legge la letteratura tecnica. Noi ci riferiremo d'ora in poi alla larghezza poiché è più semplice da misurare che non diagonale e poiché, nel senso dell'altezza, ci sarebbe la sovrapposizione delle righe di scansione del "**raster**".

Non trattiamo qui di altri modi di definire la risoluzione né dei fattori di imprecisione che sono impliciti nella definizione di Rt . Dobbiamo comunque distinguere bene fra:

a) numero di righe che formano il raster (525 nel sistema americano, 625 in quello europeo, Francia esclusa, ecc.) nel caso dei Vidicon ed affini e dei monitor a CRT;

b) numero di porzioni sensibili elementari ("**pixel**") presenti in ogni fila della superficie sensibile, nel caso dei CCD;

c) risoluzione otticamente intesa, come sopra definita (Rt o "linee totali").

Per misurare Rt o R si possono usare i metodi normalmente usati in ottica, a mezzo di reticoli con passo variabile (§ 17.2 e fig. 50). Ma normalmente i costruttori di apparecchi televisivi dichiarano un valore, di solito Rt , nella letteratura tecnica.

Ebbene, dal punto di vista della risoluzione, si possono dividere i sistemi televisivi in due grandi categorie:

— sistemi normali, con una risoluzione ottica di 200 - 500 righe totali;

— sistemi "ad alta risoluzione", già esistenti per applicazioni particolari ed in via di diffusione per applicazioni commerciali, con una risoluzione media migliore di 1.000 linee totali.

Facciamo ora un confronto.

Una pellicola commerciale a colori per formato Leica possiede una risoluzione (R) di almeno 30 linee / mm e quindi una Rt (riferita alla larghezza = 36 mm) di almeno $Rt = 30 \times$

36 = 1080 linee totali, migliore dei sistemi televisivi analogici.

L'immagine microscopica ha una risoluzione massima nel piano oggetto definita dalla formula (50). Per $\lambda = 0{,}5\ \mu$ (verde, al centro dello spettro ottico), considerando un obbiettivo acromatico ad immersione (NA = 1,25) si ha:

$d = 0{,}6 \cdot 0{,}5 / 1{,}25 = 0{,}3 / 1{,}25 = 0{,}24\ \mu$ circa.

Poiché un tale obbiettivo ha spesso un ingrandimento $M_{ob} = 100$, nel piano dell'immagine intermedia si ha un valore di **d** (anzi, visto che siamo dal lato immagine, **d'**) pari a **d'** $= 0{,}24 \cdot 100 = 24\ \mu = 0{,}024$ mm. Allora, $R = 1 / d' = 1 / 0{,}024 = 41$ linee/mm circa. Considerando il minimo valore in uso per il diametro dell'immagine intermedia, cioè un indice di campo s' = 18 mm, si ottiene $Rt = 18 \cdot 41 = 740$ linee totali. Con un obbiettivo a grande campo, per es. con s' = 25 mm, diviene Rt = 1030 circa. Si noti che tale valore rappresenta un minimo; con un obbiettivo più debole non acromatico si avrebbe un valore minore per **d** e quindi maggiore per la risoluzione R .

In ogni caso dunque l'immagine intermedia del microscopio è sempre più ricca di dettagli di quanto un sistema TV analogico è capace di accogliere.

Nel caso della fotografia, si evita questa perdita di risoluzione semplicemente usando proiettivi di ingrandimento opportuno e formati fotografici abbastanza grandi; di solito, con i componenti commerciali, è possibile avere un sistema foto-micrografico con una risoluzione (nell'immagine finale) superiore a quella del microscopio, la quale quindi non va minimamente perduta, almeno ai forti ingrandimenti (§ 30.8.7).

Nel caso di una telecamera invece il formato non si può cambiare; possiamo supporre per tutti i tipi analogici una risoluzione Rt = 400 linee circa; poiché l'immagine intermedia del microscopio contiene, abbiamo visto, almeno 740 linee totali, è il sistema televisivo che "strozza", che pone in quel caso un limite alla risoluzione finale; e ciò indipendentemente dall'ingrandimento dell'eventuale sistema ottico presente fra immagine intermedia e sensore. La struttura del sistema ottico a questo punto non ha più molta importanza: così l'apertura ed il campo dell'obbiettivo, il tipo di correzione, ecc. Qualunque microscopio economico fornisce sul monitor la stessa risoluzione dello strumento più sofisticato. Con telecamere ad "**alta definizione**", le cose cambiano.

Ma qui occorre confrontare le dimensioni dell'immagine microscopica con quelle della superficie sensibile, come abbiamo fatto in fotografia.

30.9.5 - Dimensioni utili della superficie sensibile

Sia per i Vidicon che per i CCD , le dimensioni utili sono quasi unificate in vari formati rettangolari, spesso con un rapporto fra i lati uguale a 4 : 3 .

Formato nominale (espresso in pollici ("), salvo i primi due)	Dimensioni utili, in mm (altezza × larghezza)	Diagonale utile, in mm
36 × 48 mm	36 × 48	60
35 mm (rapporto 3 : 2)	24 × 36	43,3
4 / 3 "	13,4 × 17,8	22,3
1" (= 25,4 mm)	9,65 × 12,7	15,95
2 / 3 "	6,6 × 8,8	11
1 / 2 "	4,8 × 6,4	8
1 / 3 "	3,6 × 4,8	6
1 / 4 "	2,4 × 3,2	4

NB: i primi tre formati sono usati solo nelle telecamere "professionali".

Come si vede, anche il campo più piccolo degli obbiettivi da microscopio (s' = 18 mm) è

sovrabbondante per i formati da 1" in giù, ma questo non porta a perdita di risoluzione poiché la risoluzione di un sistema TV analogico (circa 400 linee sulla larghezza, pari a 500 linee sulla diagonale) è sempre inferiore alla metà di quella dell'immagine intermedia che, per i calcoli sopra visti, è di almeno 740 linee per gli obbiettivi forti ed almeno 1.000 per quelli deboli ed a grande campo. Dunque, per avere la certezza di non perdere risoluzione, basta che l'immagine proiettata sullo strato sensibile della telecamera sia grande non più del doppio (nel caso peggiore) della diagonale del formato dello strato foto-sensibile, 11 mm nel caso del formato 2 / 3 ".

Con gli obbiettivi normali questo è all'incirca verificato (s' = da 18 a 25 mm, mentre 2 × 11 = 22 per un sensore da 2 / 3"), a condizione di proiettare direttamente sulla telecamera l'immagine intermedia, senza ottica da proiezione. Qualunque **proiettivo**, anche debole, ingrandirebbe troppo l'immagine intermedia. Per i formati più piccoli che si vanno diffondendo (1 / 3", ad es.), può essere opportuno addirittura rimpiccolire l'immagine e qualche costruttore coscienzioso prevede questo[237].

A questo punto, si potrebbe obbiettare che molti obbiettivi classici non sono ben corretti (soprattutto da cromatica laterale, vedi il § 13.2.2), e richiedono quindi l'uso di oculari "compensatori" per una correzione completa, ma la bassa risoluzione del sistema TV permette di solito di ignorare questa limitazione.

Un "raccordo", cioè un organo meccanico predisposto per collegare la telecamera allo stativo del microscopio, può dunque presentare un cammino ottico libero, senza lenti interposte. Si tratterà semplicemente di un dispositivo meccanico rigido che può essere sostituito da un supporto rigido posto vicino al microscopio, ma indipendente da esso. Le sue funzioni sono comunque:

— tenere rigidamente la telecamera in posizione corretta; la tolleranza negli spostamenti reciproci fra telecamera e microscopio è pari alla risoluzione della telecamera (per un modello corrente da 2/3", con larghezza del formato = 8,8 mm ed una risoluzione totale di 400 righe, si ha d = 22 μ); se gli spostamenti sono lenti, si può ammettere molto di più;

— essere "a tenuta di luce" per impedire l'ingresso della luce esterna;

— tenere la superficie sensibile della telecamera centrata e perpendicolare rispetto all'asse ottico;

— tenerla alla distanza occorrente perché l'immagine microscopica coincida collo strato sensibile (cioè sia "a fuoco") e simultaneamente sia a fuoco negli oculari o nel mirino. Se il "raccordo" non contiene il semiriflettente previsto dalla fig. 129, § 30.8, e quindi non vi è lo sdoppiamento dell'immagine intermedia, mancando un oculare di mira si è costretti a realizzare la messa a fuoco sul monitor; ma in questo modo non vi è garanzia che quella sia la posizione corretta per l'immagine intermedia. Un errore in questo senso può portare ad una perdita di parfocalità fra gli obbiettivi e ad altri effetti nocivi.

Se poi il costruttore fornisce un raccordo TV contenente qualche lente, occorre verificare che nel monitor si veda una porzione dell'immagine ottica non inferiore alla metà di quella visibile negli oculari. Quest'ultima dovrebbe poi sempre, per i motivi chiariti a suo tempo, corrispondere all'indice di campo (s') massimo degli obbiettivi previsti per quel dato strumento. In assenza di quest'ultimo dato, si faccia il confronto fra l'immagine TV e quella visuale usando un oculare debole. Il confronto fra le dimensioni dei due campi riesce meglio quando si osserva un oggetto a strutture ben definite, come un micrometro-oggetto o, in mancanza di meglio, un pezzo di carta millimetrata, osservata con l'obbiettivo più debole possibile.

Come "raccordo TV" si potrebbe usare una microcamera o un tubo tri-oculare, del tipo

---

[237] Questa riduzione dell'immagine intermedia può essere effettuata da un sistema ottico "ad hoc", o da un oculare normale seguìto da una "lente di camera" convergente a focale corta, oppure da un oculare a focale lunga seguìto dalla telecamera fornita del proprio obbiettivo (vedi oltre).

usato in fotografia. Ma questi dispositivi prevedono quasi sempre un oculare e quindi l'immagine finale risulterebbe quasi certamente troppo ingrandita e si perderebbe risoluzione. Per ovviare a questo, si potrebbe lasciare sulla telecamera l'obbiettivo normale di ripresa il quale, se ha una focale compresa fra 8 e 16 mm, rappresenta una "lente di camera" a forte riduzione. Ma qui nascono altri problemi di vignettatura[238], correzioni, centratura reciproca ed "immagini catadiottriche" (§ 30.8.6). Data perciò l'inopportunità di utilizzare l'obbiettivo proprio della telecamera, ne consegue che una telecamera da applicare al microscopio deve possedere la cosiddetta "ottica intercambiabile": l'obbiettivo si deve poter smontare e, per ragioni di intercambiabilità, deve possedere un "**attacco C**" (vedi sotto).

Difficilmente i raccordi TV del commercio soddisfano a tutte le condizioni richieste.

30.9.6 - Peso, ingombro, attacco meccanico

Facciamo il caso di una telecamera fissata direttamente al microscopio: il suo peso massimo è determinato dalla robustezza, rigidità e stabilità del microscopio. Se il costruttore non dichiara questo limite, è bene non superare 1 Kg, e questo limite è facilmente rispettato da molte moderne telecamere, specialmente a CCD.

Se la telecamera dispone di un supporto separato, tutto dipende dalle caratteristiche di quest'ultimo.

Per le dimensioni non vi sono limitazioni di principio, ma una telecamera lunga offre un braccio di leva maggiore per ogni urto accidentale e per le vibrazioni di qualunque origine.

Qualunque raccordo diretto fra stativo del microscopio e telecamera si fissa allo stesso attacco (lato telecamera) cui va fissato l'obbiettivo della telecamera stessa; tale obbiettivo va infatti smontato, dato quello che si è detto sopra. La gran parte delle telecamere commerciali di piccole dimensioni usa il cosiddetto "**attacco C**", cioè un passo di vite di 1" (un pollice, pari a 25,4 mm) con un filetto di 1 / 32" (0,8 mm). Su questo passo è realizzata la gran parte dei raccordi TV : verificare questo al momento dell'acquisto. Se la telecamera ha un supporto indipendente, anche questo problema viene a cadere. Ricordiamo che la distanza nominale fra flangia di appoggio dell'obbiettivo e sensore è di circa 17,5 mm. Tale quota scende a 12,5 mm per il cosiddetto "**passo CS**".

30.9.7 - Rapporto segnale/rumore (S / R) o "signal/noise ratio" (S / N)

Si tratta di un parametro elettrico che influisce sulla quantità di "rumore" sovrapposto all'immagine sul monitor. Per "rumore" (§ 30.9.3) si intende in tutti i sistemi di comunicazione un segnale casuale, che si sovrappone al segnale utile, comunque venga generato.

Questo segnale caotico nasce dalla stessa natura "discreta" (non continua) della radiazione e della corrente elettrica: la prima è costituita da "quanti", cioè da quantità definite, di grandezza determinata (fotoni) che si muovono secondo leggi statistiche; la corrente elettrica è parimenti costituita da quantità discrete di carica, gli elettroni. Nel comportamento

---

[238] Per evitare le vignettature, occorre spesso cercare oculari speciali "a pupilla alta", che si possono auto-costruire accoppiando due obbiettivi da binocolo (colle superfici più convesse rivolte in alto); un tale sistema può essere posto sopra l'estremità superiore del tubo porta-oculari, dopo tolto l'oculare. Ad esso si accosta poi l'obbiettivo della telecamera. La distanza fra oculare speciale ed obbiettivo di telecamera deve essere tale da far coincidere la pupilla d'uscita dell'oculare con la pupilla d'ingresso dell'obbiettivo; è bene quindi che la telecamera sia montata su un supporto focheggiabile, tanto più che, nel caso di obbiettivi zoom, la posizione della pupilla d'ingresso varia durante la manovra dello zoom.

La distanza fra l'oculare speciale sopra descritto e l'obbiettivo del microscopio andrà fissata in modo da avere parfocalità con gli oculari normali, ovvero in modo da conservare la parfocalità fra i vari obbiettivi.

dei fotoni e degli elettroni vi è sempre una componente probabilistica, caotica, che genera appunto un segnale casuale, irregolare. Tale segnale viene dunque generato dal bombardamento dei fotoni sul foto-recettore, dal movimento degli elettroni in ogni parte del circuito, ecc. e si presenta sempre come un segnale privo di informazione significativa: in un circuito audio si presenta come un fruscìo cupo, un soffio di fondo, un rumore caotico, appunto; in un circuito video come un "**effetto neve**" o granulosità rapidamente e caoticamente variabile, sovrapposta all'immagine.

Così, il segnale d'ingresso di un sistema di comunicazione (suono, immagine, dati, ecc.), attraversando la catena di trasmissione (recettore, amplificatore, linea, riproduttore), si sovrappone al "**rumore**" caotico generato lungo la catena stessa, e la sua decifrazione o intelligibilità ne risulta più o meno ostacolata.

Anche dall'esterno possono provenire segnali di rumore, i cosiddetti "disturbi". Si parla allora di "**interferenze**". Si può fare un paragone con la fotografia, in cui l'immagine utile è sovrapposta alla "**grana**" della pellicola, alla luce diffusa, ecc.

Il fattore rumore naturalmente vale per la telecamera e per tutti i circuiti esistenti fra strato sensibile della telecamera e superficie luminescente del monitor.

Il valore assoluto del rumore (o noise) di per sé non è indicativo; esso va confrontato col segnale utile. Si indica così il rapporto "**segnale/rumore**" (o "signal/noise" − S/N) come rapporto fra segnale massimo (S) che il sistema può elaborare senza distorcerlo (per es. senza saturazione di uno qualunque degli stadi fra strato sensibile della telecamera e superficie del monitor) e segnale di rumore (N o R) che si presenta in assenza di segnale utile (telecamera al buio, ad es.).

Il rapporto S / N viene espresso normalmente in "**deciBel**" (dB); 1 dB = 20 log V_1 / V_2 , essendo V1 e V2 le due grandezze da confrontare, per es. ampiezza dei segnali S ed N[239].

In una telecamera non professionale, un rapporto S / N pari a 45 dB è da considerarsi accettabile. Significa che il segnale elettrico massimo generato senza distorsione è 178 volte maggiore del rumore di fondo generato al buio.

Questa definizione del rapporto S/N diviene meno precisa quando la telecamera, come avviene spesso, possiede un controllo automatico di guadagno (AGC, vedi il § 30.9.3), cioè un'amplificazione variabile. Spesso infatti i costruttori indicano un valore del rapporto S/N relativo ad un dato valore di guadagno, espresso in dB, provocato da un corrispondente livello di illuminazione nell'immagine ripresa.

30.9.8 - Il contrasto

Il contrasto nell'immagine televisiva è legato ad una lunga serie di parametri fissi e di regolazioni disponibili sia sulla telecamera che sul monitor. Si tratta di fenomeni elettronici su cui non è possibile dilungarsi. Si può solo dire che in genere l'immagine TV è più contrastata di quella ottica, ma il rapporto fra i due contrasti dipende in buona parte dai parametri elettronici e dalle regolazioni.

Anche la linearità di risposta del sistema TV (proporzionalità fra luminosità dell'immagine microscopica e luminosità sul monitor, per ogni punto dell'immagine) è assai

---

[239] Il vantaggio dell'espressione logaritmica del rapporto è che, avendosi una catena di elementi, ognuno con un suo proprio rapporto S/N, si può avere il rapporto S/N globale semplicemente sommando, invece che moltiplicando, i relativi valori in dB . La tabellina seguente dà qualche esempio.

0 dB	1 dB	3 db	10 db	20 dB	30 dB	40 dB	50 dB
S/N = 1 : 1	1 : 1,122	1 : 1,412	1 : 3,162	1 : 10	1 : 31,62	1 : 100	1 : 316,2

Quando il valore in dB porta il segno + , allora V_1 è maggiore di V_2 : se V_1 e V_2 sono rispettivamente i segnali di uscita e di ingresso di uno stadio qualunque di una catena di trasmissione, in questo caso vi è amplificazione o "guadagno"; se il segno é – , avviene l'inverso, e vi è attenuazione.

variabile; la gradazione dei chiaro-scuri presente nell'immagine ottica viene sempre più o meno compressa verso i valori massimi o minimi.

30.9.9 - Stabilità a lungo termine, "stampaggio" e "burning"

Col passare degli anni, le condizioni di lavoro di una telecamera subiscono una deriva che richiede una manutenzione periodica. Questa esigenza è assai minore nei sistemi a CCD .

Più grave è la modificazione semi-permanente della sensibilità della superficie foto-sensibile. Oltre ad una variazione globale della sensibilità, che sarebbe il meno, si verifica spesso uno "**stampaggio**" localizzato, nel senso che una data immagine fissa, se proiettata sulla telecamera per un tempo sufficientemente lungo, ne altera la risposta punto per punto in modo da rimanere stabilmente "stampata" anche se l'immagine cambia; si produce allora la sovrapposizione dell'immagine fissa precedente colla nuova immagine. Questo fenomeno è più probabile se l'immagine fissa è molto intensa; essa non comporta una perdita ma solo un'alterazione localizzata della sensibilità.

Se poi l'intensità dell'immagine supera un certo limite, lo strato fotosensibile può risultare del tutto o localmente "accecato" senza possibilità di recupero: è questo il "**burning**" o "bruciatura". Il burning non ha nulla a che vedere con la saturazione (§ 30.9.3) la quale è reversibile, almeno finché non dura troppo, e si verifica del resto a livelli di intensità assai più bassi di quelli richiesti per produrre il burning. I CCD sono resistenti al burning assai più dei Vidicon.

30.9.10 - Persistenza a breve termine ("lag")

Ogni punto della superficie sensibile "ricorda" per una frazione di secondo lo stato immediatamente precedente, prima di stabilizzarsi su un nuovo valore di illuminamento. Le rapide variazioni di illuminamento di un singolo punto non possono quindi essere registrate al di sotto di un certo valore di durata. Se l'immagine è fissa, la persistenza non si nota facilmente, ma se l'immagine è in parte o totalmente in movimento, dietro ogni punto che si sposta si forma una "coda" di lunghezza pari al prodotto della sua velocità per il tempo di persistenza.

Anche in microscopia, questa persistenza è assai fastidiosa quando si osservano oggetti mobili o quando si sposta il tavolino.

Nei tubi Orticon, usati nelle applicazioni professionali, questo effetto è poco sensibile; nei Vidicon è invece evidente; trascurabile nei CCD. Certi modelli di telecamere a CCD possiedono la funzione "**strobe**" o "**shutter**", che non è realizzabile con i tubi a vuoto. Si tratta di questo: la cadenza di ripresa delle immagini è di 50 al secondo per lo standard europeo (60 per quello americano, in sincronismo con la frequenza di rete). Mentre nei tubi a vuoto la trasformazione dell'immagine ottica in segnale elettrico è continua, cioè occupa quasi tutto il tempo di 1 / 50 di secondo per ogni fotogramma, nei sistemi a CCD essa avviene in un tempo assai più breve, tipicamente 1 / 1.000 di secondo. Una ripresa con un CCD consiste dunque in una serie di istantanee, di fotogrammi separati, distanziati di 20 ms l'uno dall'altro[240] ma della durata di 1 ms ognuno. Il circuito elettrico della telecamera può memorizzare una di queste immagini e rileggerla per un tempo indefinito, ignorando ciò che succede dopo. È come fermare un proiettore cinematografico od un registratore video su un singolo fotogramma.

---

[240] Il millisecondo (ms) è pari ad 1 / 1.000 sec. Il periodo fra un fotogramma ed un altro, pari ad 1 / 50 s , dura quindi 20 ms (1.000 / 50 = 20).

Questa funzione del CCD è preziosa, ad es., quando si osservano oggetti viventi, microrganismi in movimento, ecc.

30.9.11 - Distorsione

A somiglianza con quanto si fa per un sistema ottico, si può definire genericamente come distorsione di un sistema TV una differenza fra la forma geometrica dell'immagine finale (piana e perpendicolare all'asse) e la forma dell'immagine sul monitor. Si tratta di una variazione dell'ingrandimento in diversi punti del campo.

Nel caso dei tubi a vuoto, la distorsione elettrica (a parte quella ottica delle lenti anteposte) è dovuta essenzialmente al sistema di deflessione elettrica o magnetica del fascio di elettroni che esplora l'immagine, e può essere molto forte, oltreché instabile nel tempo. Nel caso di un CCD , la distorsione è legata alla struttura geometrica del "chip" e può essere ridottissima e comunque è stabile nel tempo.

30.9.12 - IL MONITOR

S'intende con questo termine un dispositivo in grado di rendere visibile sotto forma di immagine ottica il segnale "video" prodotto da una telecamera od altra sorgente analoga (VTR, calcolatore, ecc.).

L'immagine presentata dal monitor dovrà essere il più aderente possibile, rispetto al segnale video proveniente dalla telecamera, riguardo a contrasto, risoluzione, dimensioni, fedeltà cromatica, ecc.

Possiamo quindi riprendere i problemi che abbiamo appena esaminato riguardo alle telecamere.

Resa cromatica

Vi sono in commercio molti tipi di monitor a colori, basati sia su tubi a vuoto (Cathode Ray Tube = CRT) come i cinescopi televisivi, sia su display a cristalli liquidi (Liquid Crystal Display = LCD), sia su sistemi più moderni (a plasma, ecc.)[241]. In ogni caso, la resa dei colori è sempre cattiva. Nel darne una valutazione, o si dispone di strumentazione di misura particolare, o ci si basa su un'impressione soggettiva, sempre fallace.

I principali fattori che influiscono sulla resa finale sono i seguenti:

- -- temperatura di colore della sorgente utilizzata;
- -- struttura del sensore e dei circuiti della telecamera; regolazioni effettuate su di essa;
- -- alimentazione elettrica ed invecchiamento di tutte le parti;
- -- natura del collegamento elettrico fra telecamera e monitor (problemi di banda passante, interferenze, ecc.);
- -- struttura e regolazioni effettuate sul monitor; in genere, esiste un "controllo del colore" o "crominanza" che dovrebbe regolare la saturazione dei colori; variando tale comando, ci si accorge che il risultato è o cattivo o peggiore;
- -- intensità e distribuzione spettrale della luce ambiente, che incide sul monitor.

[241] A volte, certi monitor non sono luminescenti di per sé, ma richiedono un'illuminazione dall'esterno.

Sensibilità assoluta

Poiché il monitor riceve un segnale elettrico, occorre che questo sia abbastanza grande da superare il più possibile il rumore di fondo intrinseco del monitor, ma non così grande da portare alla saturazione (e quindi alla distorsione elettrica) in qualche parte dell'amplificatore o nello strato luminescente.

Queste condizioni sono normalmente soddisfatte nelle apparecchiature commerciali o si possono raggiungere con le regolazioni previste.

Non si creda a questo punto che una grande sensibilità del monitor sia un pregio: ciò porterebbe ad esaltare i disturbi ed il rumore provenienti dalla telecamera o dalla linea di trasmissione; occorre un oculato equilibrio fra i parametri di tutte le parti della catena.

Per inciso, l'ampiezza dei segnali elettrici prodotti dalla telecamera o richiesti dal monitor si indica generalmente usando come unità di misura il Volt picco-picco (V_{pp}); non si indica cioè il valor medio o quello "efficace" del segnale elettrico, ma la sua ampiezza massima, dal massimo picco positivo al massimo negativo. Ciò è reso necessario dal carattere non completamente periodico del segnale video. I valori normalmente in uso si aggirano su 1 V_{pp} .

Risoluzione

Un monitor analogico di media qualità ha una risoluzione intorno alle 500 linee totali, definite come nel § 30.9.4, quindi leggermente superiore a quella di una telecamera non professionale. Il problema risoluzione ricade quindi sulla telecamera. Si ricordi sempre la differenza fra "linee totali" o "linee TV", cioè risoluzione ottica/elettronica Rt , e righe del raster, che sono in numero fisso (525 o 625).

Dimensioni utili

Parliamo qui della superficie luminescente del monitor analogico.

In genere, i circuiti elettrici allargano l'immagine elettronica "proiettata" su quella superficie un po' più della superficie medesima per cui, dell'immagine captata dalla telecamera, una sottile striscia marginale non figura sul monitor e va perduta. Questo accorgimento è voluto per neutralizzare eventuali errori di centratura fra immagine elettronica e schermo luminescente.

A parte questo, è chiaro che le dimensioni del monitor debbono crescere in proporzione al numero degli spettatori, e quindi in proporzione alla distanza media di osservazione. La distanza ottimale è molto legata a condizioni soggettive, ma si assume come riferimento una distanza occhio-monitor pari a sette volte la larghezza dello schermo.

Facciamo allora questo calcolo: su un monitor di media qualità sono visibili, come già detto, circa 500 "linee"; quindi, alla distanza di sette volte la larghezza del monitor, la larghezza di ogni "linea" rappresenta la base di un triangolo, la cui altezza è 7×500 volte maggiore. In altre parole, l'altezza di quel triangolo (distanza di osservazione) è 3.500 volte la base (larghezza della linea, cioè del più piccolo dettaglio nell'immagine). A questo rapporto corrisponde un angolo di quasi un minuto d'arco, ma l'occhio umano medio ha un potere risolutivo angolare (§ 18.12) di 1 - 2 minuti d'arco, quindi insufficiente a rivelare tutti i dettagli presenti. Questo "margine" è però utile per nascondere in parte il grande difetto dell'immagine TV, cioè la sua struttura a righe parallele.

Un monitor di medie dimensioni, per es. un "21 pollici", con una diagonale di circa 54 cm = 0,54 m ed una larghezza di circa 0,46 m , va dunque osservato da circa $0{,}46 \times 7 =$ 3,2 m di distanza o anche meno.

Rapporto segnale - rumore (S / N)

Anche il monitor rappresenta una sorgente di rumore elettrico che, anche in assenza di segnali esterni, si presenta come una granulosità rapidamente variabile dello schermo, simile all'effetto neve.

Ma questo rumore è minore di quello prodotto dalla telecamera, in quanto viene introdotto alla fine della catena globale di amplificazione, e pertanto non rappresenta un fattore limitante.

Una forte sorgente di rumore si presenta invece quando il collegamento fra telecamera e monitor non avviene sotto forma di segnale video diretto (a "bassa frequenza" o "videofrequenza" o "VF"), ma come segnale ad "alta frequenza" o "radio frequenza" (RF) in una qualunque banda o "canale" delle trasmissioni commerciali.

In sostanza il segnale utile, in questo caso il segnale video generato dall'esplorazione sequenziale delle righe del **raster** TV , viene usato per "modulare", cioè variare con legge più o meno lineare, un qualche parametro (l'ampiezza nei normali sistemi TV o radiofonici a "**modulazione d'ampiezza**" o "AM") di una "**portante**".

La "portante" è una oscillazione elettro-magnetica a frequenza molto maggiore di quella del segnale utile, modulante; i parametri della portante (frequenza, ampiezza e fase) sono costanti e quindi non trasmettono informazione utile; la portante serve solo alla trasmissione nello spazio del segnale modulante, la quale trasmissione, per la bassa frequenza del segnale stesso, avverrebbe con rendimento troppo basso.

Una portante "modulata", giunta nel ricevitore, viene decomposta[242] nelle due componenti: il segnale utile, modulante, e la componente ad alta frequenza, portante non modulata, che è inutile e viene soppressa.

Ma un segnale ad alta frequenza è più sensibile, rispetto ai segnali di bassa frequenza, all'interferenza o alle "scariche" (falsi contatti elettrici, fenomeni atmosferici, ecc.), che producono segnali in un ampio spettro di frequenze.

Quindi, un collegamento ad alta frequenza è sempre più vulnerabile al rumore di origine esterna.

Al momento dell'acquisto, è bene curare quindi che tutto il sistema TV possa funzionare a video-frequenza. Si tratta di "televisione a circuito chiuso", nel senso che il collegamento telecamera-monitor avviene via cavo, non via "etere", cioè non con trasmissione tramite lo spazio vuoto, con antenne trasmittente e ricevente. Questo produrrebbe disturbi maggiori.

Anche l'impianto (schermature dei cavi e connettori, prese di massa, ecc.) deve essere curato per non inquinare l'immagine con disturbi e rumori di ogni tipo.

I sistemi a colori in videofrequenza possono utilizzare un unico segnale ("video composito") oppure tre segnali distinti, uno per ognuno dei tre colori fondamentali (segnale "**RGB**" = Red-Green-Blue). In quest'ultimo caso, il cavo di collegamento dovrà possedere tre conduttori separati.

Contrasto

In genere, il massimo contrasto ottenibile da un monitor è superiore a quello fornito dalla sola telecamera. Anche qui, il monitor non rappresenta il fattore limitante. La regolazione del contrasto prevista su tutti i monitor influisce sull'amplificazione del circuito e quindi sul "rumore". Il minor rumore si ha sempre col minor contrasto.

Quanto alla linearità del sistema, cioè alla proporzionalità che sempre dovrebbe esistere fra densità nell'immagine ottica ed annerimento sullo schermo, essa dipende da tutti i

[242] Si dice in gergo "demodulata" o "rivelata".

componenti della catena, e comunque è meglio non farsi troppe illusioni in merito.

Anche riguardo ai fenomeni di stabilità a lungo termine, stampaggio e "**burning**" (§ 30.9.9), il monitor è meno critico e meno vulnerabile della telecamera.

Riguardo alla persistenza a breve termine ("**lag**", § 30.9.10), il monitor è ancora una volta migliore delle telecamere economiche a Vidicon. Il discorso sarebbe diverso per le telecamere "broadcasting" e quelle a CCD.

Distorsione

La distorsione di un monitor economico, soprattutto se del tipo a CRT (cinescopio), può invece essere elevata, ed è certamente peggiore di quella di una telecamera a CCD. Essa inoltre è largamente dipendente dalle messe a punto effettuate dal costruttore ("magnetini di correzione", "circuito di linearità" verticale ed orizzontale, ecc.). Tali messe a punto sono poi spesso instabili nel tempo. Anche il campo magnetico terrestre, e quindi l'orientamento del monitor, possono influire sulla sua distorsione.

Assai più stabili sono le caratteristiche geometriche in un display digitale a cristalli liquidi o simili.

Come conclusione, si può dire che la riproduzione televisiva dell'immagine microscopica è decisamente scadente: confrontando l'immagine negli oculari con quanto appare sul monitor si rimane sempre delusi. Se poi si adopera un "video proiettore", che consente di proiettare l'immagine su schermo, la cose possono diventare anche peggio.

D'altra parte, un sistema televisivo a circuito chiuso è l'unica soluzione possibile quando l'immagine debba venir osservata da più di quattro o cinque persone. Nel corso di una lezione od una conferenza, non è possibile far venire gli spettatori, uno alla volta, a chinarsi sugli oculari. A parte il tempo necessario, ogni osservatore deve regolare la messa a fuoco, la distanza interpupillare, ecc. ed è difficile illustrare i dettagli dell'immagine ad ognuno, uno dopo l'altro. Un'unica immagine su uno schermo consente di dare spiegazioni a tutti simultaneamente, le stesse, una volta per tutte e nessuno interviene con regolazioni errate sul microscopio.

E prima dell'avvento della televisione come si faceva? Le soluzioni sono essenzialmente due:

•• La microproiezione (vedi sotto), con tutti i problemi tecnici collegati, e con una bassa luminosità dell'immagine, insufficiente per grandi sale.

•• La proiezione di diapositive con un normale proiettore; questo ha il vantaggio che la ripresa fotografica consente di scegliere con cura l'inquadramento, la messa a fuoco, ecc. evitando gli errori del singolo osservatore; e si ha il vantaggio che la fedeltà dei contrasti e dei colori può essere assai maggiore. Ma non mancano gli inconvenienti:

-- il tempo necessario per la confezione delle diapositive;

-- l'impossibilità di presentare immagini in movimento (oggetti viventi, fenomeni fisici, ecc.);

-- mancanza del rapporto diretto fra studente e strumento; inconveniente comune ad un sistema televisivo o di micro-proiezione.

30.10 - La MICRO - PROIEZIONE

Per micro-proiezione s'intende la proiezione dell'immagine microscopica su uno schermo diffondente; ciò al fine di consentirne la visione da parte di molte persone.

Concettualmente, questo tipo di osservazione si realizza molto facilmente: basta alterare leggermente la messa a fuoco (allontanare l'oggetto rispetto l'obbiettivo) in modo che l'immagine intermedia si formi un poco prima del primo fuoco dell'oculare; in questo modo l'oculare, invece di fornire un'immagine finale virtuale a grande distanza o all'infinito, fornisce un'immagine reale a distanza relativamente piccola, che si può raccogliere su uno schermo. Se si vuole evitare questa alterazione della messa a fuoco (perdita di parfocalità, ecc.), si possono usare opportuni oculari regolabili, simili ad un oculare micrometrico.

Dato poi che l'immagine va proiettata in genere secondo un percorso prossimo all'orizzontale, mentre l'asse del microscopio è verticale o inclinato, occorre rendere orizzontale il fascio che forma l'immagine proiettata; ciò si può ottenere o portando il tubo del microscopio all'orizzontale (certi stativi come quello di fig. 96 lo consentono), oppure ponendo subito sopra all'oculare uno specchietto od un prisma a riflessione totale che portano il fascio nella direzione voluta.

Il supporto dello specchio o del prisma può essere fissato al tubo porta-oculari o direttamente all'oculare; esso può contenere una o più viti utili ad una regolazione fine dell'orientamento dello specchio. Soprattutto con gli oculari grandangolari è possibile che lo specchio od il prisma "vignettino" (§ 6.1) il fascio utile e quindi restringano il diametro del campo, generalmente in modo non simmetrico; per un controllo di questa eventualità, si può confrontare l'immagine trasmessa dallo specchio con quella che si ha (magari sul soffitto) in assenza di specchio. Una vignettatura è sempre possibile in quanto diversi tipi di oculare hanno una pupilla d'uscita (disco di Ramsden) ad altezza variabile (da 5 a 20 mm) ed un prisma, se si trova posizionato ad altezza non corretta, può tagliare il fascio che si allarga rapidamente sopra e sotto il disco di Ramsden; sarà bene perciò che il supporto del prisma o specchio sia regolabile in altezza.

Ma le difficoltà della micro-proiezione sono tante, alcune molto gravi, per cui questa tecnica è in disuso, quasi sempre soppiantata dal metodo televisivo.

Ecco le principali.

-- L'oculare deve essere in genere più debole di quelli normali per evitare che l'immagine proiettata appaia troppo grande e troppo poco luminosa. Tutto dipende dalla distanta oculare-schermo.

-- La sorgente deve essere più brillante possibile. Abbiamo parlato di "brillanza"[243], e ciò significa che, oltre un certo limite, è inutile aumentare la potenza dissipata nella sorgente. In pratica, per le normali lampade ad incandescenza, supposto che il filamento sia scaldato alla massima temperatura possibile, la brillanza non può superare un certo limite: il filamento fonderebbe[244]. A quel punto, si può dimostrare che un aumento della potenza dissipata comporta un aumento della superficie del filamento e, oltre un certo valore, il sistema illuminante del microscopio non può sfruttare tutta la superficie ed il flusso del filamento stesso. Per aumentare la luminosità dell'immagine finale non c'è altro che aumentare la brillanza e quindi la temperatura del corpo luminoso. Poiché tutti i corpi solidi prima o poi fondono o sublimano, si può solo ricorrere a lampade a plasma, cioè ad arco (§ 22.6.2).

---

[243] La brillanza misura il flusso emesso da un corpo luminoso per un angolo solido di uno steradiante e per un centimetro quadrato della sua superficie.

[244] La brillanza è una funzione crescente della temperatura del corpo luminoso.

Le microlampade da usare in micro-proiezione sono infatti quasi tutte basate su una lampada ad arco; sono preferite quelle in atmosfera di xeno per il fatto di possedere uno spettro continuo ed una temperatura di colore simile a quella del giorno. Purtroppo, la loro pressione interna è elevata anche quando sono spente e, per motivi di sicurezza, esse vengono spesso sostituite da quelle a vapori di mercurio che non sono in pressione se spente, ignorando l'inconveniente dello spettro a righe che ostacola il riconoscimento dei colori.

Le lampade ad arco però sono molto costose, necessitano di un alimentatore ingombrante e pesante, e la loro accensione e spegnimento richiedono dei tempi morti.

-- Il sistema illuminante deve essere ben curato per assicurare la massima resa fotometrica, e ciò spesso si ottiene solo sostituendo il condensatore assieme all'obbiettivo; ciò significa che spesso lo stativo o almeno il corredo di condensatori deve essere speciale.

-- Nonostante tutte le precauzioni (filtri anticalorifici, ecc.), l'oggetto viene attraversato da un fascio sempre molto intenso e dopo pochi minuti può risultare danneggiato irreversibilmente: le resine di montaggio fondono, i coloranti si decolorano, ecc. Le lampade a mercurio, molto ricche in radiazione UV , accelerano ulteriormente la decolorazione. Impossibile naturalmente osservare preparati freschi o di materiale vivente.

Naturalmente, la microproiezione non soffre di alcuni degli svantaggi della riproduzione televisiva, come la presenza delle righe del raster, la presenza di "rumore" elettrico sovrapposto all'immagine utile, la cattiva riproduzione dei contrasti e del colore, ecc. Ma la luminosità sempre scarsa ed i danni al preparato fanno in genere preferire i sistemi televisivi.

30.11 - CONCLUSIONI

La microscopia è certamente una delle branche dell'ottica che offre le applicazioni più varie e più numerose. Pochi sono i rami della ricerca scientifica o tecnologica, della routine industriale o della didattica che non debbano avvalersi, prima o poi, del microscopio.

A queste applicazioni è riservata una letteratura imponente, almeno in lingua tedesca ed inglese.

Inoltre, la microscopia è una delle tecniche di osservazione che coinvolge i più vasti e numerosi problemi di ottica e meccanica di precisione. Dalle aberrazioni alla diffrazione, dall'interferenza alla fotografia, dalle basi anti-vibranti agli esposimetri elettronici.

Ma forse, al di là di ogni problema scientifico o tecnologico, al di là di ogni applicazione pratica, la microscopia offre all'uomo uno dei più vasti orizzonti conoscitivi; e ciò hanno ben compreso le innumerevoli schiere di amatori degli ultimi secoli, specie nei paesi del nord-Europa.

Dalla vita dei microrganismi all'accrescimento dei cristalli, dalla struttura elementare degli esseri viventi alla costituzione dei corpi anisotropi, dalle fibre tessili alle leghe metalliche, sono pochi i fenomeni naturali ed i prodotti industriali che non possano essere meglio compresi coll'aiuto del microscopio ottico.

Il potere risolutivo medio dell'occhio umano è dell'ordine di un decimo di millimetro; tutto ciò che è più piccolo ci è invisibile. Ma la natura, specie quella vivente o organizzata, è altamente strutturata al di sotto di quel limite: tessuti, cellule, organiti cellulari, macromolecole, atomi, particelle nucleari, quark, ecc. Quasi tutto ciò che ci circonda sfugge al nostro occhio; siamo ciechi per tutti i livelli strutturali che si trovano sotto quella barriera del decimo di millimetro. Li si può studiare solo attraverso strumenti con maggior potere risolutivo o con metodi ancora più indiretti.

E del resto, difficilmente si potrebbe immaginare uno scenario più vario e più sconosciuto di quello che si presenta ponendo l'occhio su un oculare. Un mondo più nuovo, in cui non vi sono intrighi e vizi umani, ma solo le immutabili leggi della natura.

Davvero, la contemplazione dell'infinitamente grande e dell'infinitamente piccolo può insegnarci a fare "con dignità, ma senza vano orgoglio, il nostro mestiere di uomini" (Marcel Roland).

APPENDICI

31 - Il RILEVAMENTO dei PARAMETRI

(artt. 28, 29 e 30 e scheda tecnica n° 75)

Può accadere allo studioso, al tecnico, al collezionista, allo storico della scienza, all'amatore, di dover descrivere uno o più strumenti nelle loro caratteristiche tecniche, cioè rilevarne i parametri ottici e meccanici.

Ciò può accadere a fini di confronto con altri strumenti, di datazione storica, di catalogazione, di studio dell'evoluzione tecnologica, ecc.[245]

Si può procedere allora con la compilazione di schede, una per lo stativo, una per i principali accessori, come da allegati.

Nelle schede vanno previsti appositi spazi per annotare descrizioni o valori numerici per i parametri ritenuti importanti.

Iniziamo con l'analisi sistematica delle schede citate come esempio e con l'indicazione dei metodi utili a ricavare i valori richiesti. Tali metodi sono concepiti al fine di assicurare una tolleranza nel valore misurato, rispetto al valore reale, migliore di ± 1 % ed in modo da essere realizzabili con materiali facilmente reperibili, tranne qualche eccezione ("star test", reticoli vari, ecc.). Alcune misure possono venir eseguite con maggior precisione ed in minor tempo a mezzo di attrezzature speciali, che non sono state descritte perché richiedono un progetto ad hoc, componenti ottici particolari ed un certo lavoro d'officina.

31.1 - SCHEDA "MICROSCOPIO"

31.1.1 - Lunghezza meccanica del tubo (L_m) (vedi il § 10)

◊◊ Tubo telescopico (diritto od a gomito)

Fare attenzione prima di tutto al fatto che la eventuale graduazione non sempre corrisponde alla lunghezza effettiva L_m . Misurare quindi L_m con cura, come descritto sotto, almeno ai due estremi della graduazione.

In secondo luogo, se il microscopio è dotato di revolver, si può variare L_m finché si ottiene la migliore parfocalità (§ 19.1.2): quello potrebbe essere il valore nominale di L_m . I costruttori fino alla metà del '900 non erano troppo precisi in merito, non dichiaravano il valore di L_m e tale valore poteva variare da un obbiettivo all'altro.

◊◊ Tubo fisso

Tranne il caso di strumenti antichi o molto semplici che presentano un tubo diritto semplice senza sistemi intermedi, non è possibile misurare questa lunghezza con mezzi meccanici, in quanto anche un semplice prisma porta sia ad un avanzamento dell'immagine intermedia a causa della rifrazione (vedi il § 3.2) che ad un suo arretramento a causa delle

[245] Quando invece occorre dare una valutazione tecnica di uno strumento a fini commerciali, si consulti il capitolo seguente (§ 32).

riflessioni interne. Occorre cercare il valore otticamente equivalente di L_m . Si proceda così: si monta sul tubo in esame un obbiettivo debole (per es. un 10:1) ed un oculare micrometrico qualunque. Si mette a fuoco un micrometro oggetto e si misura con cura l'ingrandimento dell'obbiettivo Mob (§ 12.2).

Poi si trasporta l'obbiettivo, l'oculare ed il micrometro su un microscopio dotato di tubo telescopico. Si varia la lunghezza di questo tubo fino ad ottenere lo stesso valore per Mob . In quel momento, la lunghezza del tubo telescopico (che si suppone graduato e tarato) dà il valore richiesto.[246] Questo metodo vale se il tubo incognito ha un "fattore di tubo" pari a 1,0 ×, cioè se esso non contiene lenti o prismi. Se contiene lenti, si può fare un confronto valido solo se il tubo incognito ed il tubo telescopico di confronto si possono sostituire l'uno all'altro senza alterare la distanza oggetto - obbiettivo e se si varia poi L_m sul tubo telescopico fino a riottenere la miglior focalizzazione. In questo caso, si può misurare Mob con i due tubi ed il rapporto fra i due valori di Mob dà il "fattore di tubo".

Quanto detto vale per gli strumenti dotati di obbiettivi "a coniugata finita" (§ 3.1). Per quelli "a coniugata infinita", vedi il paragrafo seguente.

Per quanto riguarda la lunghezza meccanica degli obbiettivi (L_o), vedi il § 31.2.3.

[246] La taratura si può eseguire con un calibro se il tubo è diritto e semplice.

MUSEO DI UBICAZIONE:

SETTORE OTTICA

MICROSCOPIO Mono-obbiettivo □ Stereoscopico □ N° d'inventario:
Fabbricante: Nazione o Città: N° di catalogo :
Anno: Notazione: N° di matricola:

PARAMETRI OTTICI
Lunghezza meccanica del tubo: Lm (mm): Lunghezza meccanica degli obb.: Lo (mm):
Lente di tubo □ con focale f_t (mm): e con distanza dall'orlo super del tubo (mm):
Lente di campo □ con focale f_c (mm): " " " " " (mm):

PARAMETRI MECCANICI
Diametro per oculari (mm): Passo di vite per obb.: RMS □ Altri □
Altri tipi di attacco: Tipo di revolver: Numero posizioni: Estraibile □
Tipo di tubo: diritto □ a gomito □ monoculare □ bioculare □ simm. □ asimm. □ Fatt. di tubo:
Telescopico □ con lunghezza Lm variabile fra (mm): e Scorrevole nel braccio □
Regolaz. interpupill. tipo Siedentopf □ ; a slitta □ ; altro □ . Regolaz. tubi porta-ocul.: 1□ 2 □
Cambiatore d'ingrand. a N° posizioni: Altri sistemi intermedi:
Tipo di tavolino: Fisso □; Traslatore ortogon. □; Rotondo □; Girevole □; Centrabile □
Sovra-tavolino (guida-oggetti) □; Corsa X (mm) : Y (mm): Rotazione (°):
Manopole coassiali □; superiori □; inferiori □; orizzontali □; bilaterali □
Macrometrica □; agisce su: tubo □; tavolino □. A pignone e crem. □; altro □ Frizione regol. □
Velocità (mm/giro): Corsa (mm): Fine corsa inf. sufficiente per Lo = mm; regolabile □
Micrometrica □; agisce su: tubo □; tavolino □; obb. □; A vite semplice □; Altro □
Demoltiplica della macrom. □. Coassiale colla macrom. □. Manopola unica □
Velocità (mm/giro): Corsa (mm):
Attacco cond.: Cilindrico □ (mm) A c.d.r. circol. □. A slitta □. Altezza di battuta h (mm):
Regolazione in altezza □; a cremagliera □; a vite □ con corsa di mm: Estraibile di lato □
Centrabile □. Cambiatore di condens. a n° posizioni: Fondo chiaro □. Fondo scuro □
Diaframma d'apertura □ con diametro (mm) fra e Decentrabile (sist. Abbe) □
Porta-filtri n° Diametro filtri (mm): Lente a grande campo estraibile □. Centrabile □

Sistema illuminante ; con specchio □ piano □ piano-concavo □ Tipi speciali:
Diasc. □ FC □ FS □ Episc. □ Coassiale □ Obliquo □
Microlampada: fissata al piede □ incorporata □ Ampolla tipo : precentrata □
A tensione di rete □. A bassa tens. □: V W ; QI □
Ad arco □ Carbone □ Xe □ Hg □ tipo: ; potenza (W):
Porta-filtri N° diametro (mm): su revolver □.
Diafr. di campo □ con diametro min/max: / Vetro smerigliato □; fisso □; estraibile □

VERSIONE PARTICOLARE:
PARTI MANCANTI: Obb. □ Ocul. □ Cond. □ Specchio □ Illuminatore □ Tubo □ Tavol. □
DANNI SUBITI:

INTERVENTI ESEGUITI: Data: Operatore:
Pulizia e controllo □ Sostituzione lubrificanti □ Rilievo parametri □ Altri □

STATO ATTUALE DI CONSERVAZIONE :

PROVENIENZA: Data acquisizione:
CONDIZIONE GIURIDICA:

SCHEDARIO FOTOGRAFICO N°
BIBLIOGRAFIA:

NOTE:

31.1.2 - Lente di tubo

Quando gli obbiettivi sono "a coniugata infinita" (§ 3.2), vi è nel tubo una "lente di tubo" convergente, con una focale spesso di 250 mm.

La distanza fra obbiettivo e lente di tubo non è molto importante otticamente, poiché quello spazio è telecentrico (per ogni punto oggetto si forma ivi un fascio parallelo, coniugato a distanza infinita), e comunque è di solito misurabile con mezzi meccanici semplici.

La focale della lente di tubo si può misurare smontandola e misurando la distanza fra di essa e l'immagine da essa fornita del sole o di un oggetto a distanza elevata (almeno 30 m).

31.1.3 - Lente di campo

In strumenti molto antichi, può accadere che la lente di campo (§ 7.2) non faccia parte dell'oculare ma sia inserita stabilmente nel tubo. Normalmente il tubo sarà in questi casi diritto e semplice, per cui è facile misurare la posizione della lente.

La focale della lente si può misurare con la tecnica descritta sopra a proposito della lente di tubo. La focale va misurata rispetto al piano principale-immagine (§ 2.8) il quale, nel caso di lenti semplici e relativamente sottili come si verifica per le lenti di campo e di tubo, si può considerare all'interno della lente. In alternativa, occorre un banco ottico dotato di "piattaforma nodale".

31.1.4 - Passo di vite per obbiettivi (§ 19.1.1)

Il modo migliore di rilevarlo è di "provare" con una vite "maschio" (per es. con un obbiettivo) di passo noto.

Molto utile è un conta-filetti, che però è di difficile uso all'interno di un foro. Con un calibro, si può misurare il diametro interno del foro filettato, e da esso ricavare il diametro esterno: 19,4 mm per il passo RMS; 24 mm per il passo M 25 , ecc.

31.1.5 - Tipo di tubo

Nel caso di strumenti bioculari, la ripartizione dell'immagine intermedia in due immagini parziali può avvenire (come in tutti gli strumenti moderni) per mezzo di un semi-riflettente, che produce due immagini identiche, simmetricamente disposte rispetto all'asse ottico dell'obbiettivo.

In strumenti antichi, specialmente inglesi, una delle due immagini è ottenuta per obliterazione parziale della pupilla d'obbiettivo a mezzo di uno specchio ed uno dei canali è disposto lateralmente rispetto all'altro, che giace invece sull'asse ottico dell'obbiettivo. Si può così parlare di sistema **asimmetrico**. Questi strumenti sono riconoscibili perché il tubo bioculare ha la forma di una Y.

31.1.6 - Distanza interpupillare (§ 24.1.3)

La regolazione della distanza interpupillare può avvenire per movimento dei due tubi porta-oculari in un piano passante per l'asse ottico; i due tubi, rimanendo paralleli a se stessi, si allontanano o si avvicinano all'asse ottico, restando in quel piano.

Il movimento può essere in direzione perpendicolare all'asse, che è il caso più comune, utilizzato nei vecchi modelli Zeiss, PZO, ecc. oppure a 45° sull'asse, come si fa per compensare la variazione della lunghezza del tubo (Leitz, ecc.).

In altri casi, i due tubi porta-oculari sono incernierati attorno all'asse ottico dell'obbiettivo, come le due metà di un binocolo (schema di Siedentopf).

In rari casi si hanno altre soluzioni, come il tubo a Telan brevettato da Wild, in cui uno solo dei due tubi porta-oculari è mobile (in un piano passante per l'asse dell'obbiettivo).

31.1.7 - Macrometrica - fine corsa

Ci interessa qui il fine-corsa inferiore, quando è minima la distanza tubo-oggetto. Tale fine-corsa può essere tale che la distanza fra la battuta di fissaggio dell'obbiettivo ed il vetrino diventi minore della lunghezza dell'obbiettivo (L_O) (§ 19.1.2). È bene quindi misurarla.

Si smonta l'obbiettivo, si porta a fine-corsa il movimento sia macro- che micro-metrico, si introduce un compasso fra battuta d'obbiettivo e vetrino (vetrino di spessore normalizzato: 1 + 0,17 mm), e si fanno toccare le punte del compasso con le due superfici citate. Il compasso si riporta poi su un regolo millimetrato o un calibro.

31.1.8 - Condensatore: altezza di battuta (h) (vedi la voce analoga nella scheda "CONDENSATORE")

Per "altezza" del condensatore (§ 21.6) si intende la distanza assiale fra la battuta di riferimento del condensatore (orlo sporgente verso l'alto nel caso di attacco cilindrico, superficie di appoggio nel caso di attacco a coda di rondine, ecc.) e la superficie superiore del condensatore, della sua lente frontale o della sua montatura.

Il montaggio (fisso o mobile) del condensatore sullo stativo può consentire un'altezza diversa[247] del condensatore rispetto alla superficie superiore del tavolino e ciò va misurato ed annotato.

31.1.9 - Sistema illuminante

Oltre ai dati indicati sulla scheda, sono utili tutti i dati rilevabili:

-- Diametro massimo e minimo del diaframma di campo.

-- Presenza di lente a grande campo, ribaltabile o non.

---

[247] Per "altezza diversa" intendiamo qui: "diversa rispetto all'altezza di battuta del condensatore".

-- Presenza di meccanismi di focalizzazione per l'ampolla o il collettore.

-- Presenza di meccanismi di centratura per l'ampolla o il collettore o il diaframma di campo.

-- Presenza di superfici smerigliate sulle lenti.

-- Presenza di diaframmi di campo illuminato subito sotto il tavolino ("a cupola", a cilindretti intercambiabili, a disco-revolver con fori di diverso diametro).

-- Presenza di lenti condensatrici o prismi per l'episcopia obliqua unilaterale, loro diametro, focale, posizione.

-- Presenza di lenti condensatrici semplici per diascopia con o senza braccio decentrabile, loro diametro, focale e posizione.

-- Presenza di specchi concavi per l'episcopia (specchi di Lieberkühn) attorno agli obbiettivi.

31.1.10 - Note

Nella scheda è bene descrivere altri dettagli meccanici: se esistono frizioni regolabili nei movimenti del tavolino, del porta-condensatore, ecc., se esistono meccanismi per la ripresa dei giochi e comunque quale è lo stato dei giochi prima e dopo l'intervento, ecc.

È assai utile descrivere anche lo stato delle finiture (vernici, cromature, ossidazioni, ecc.).

Utilissimo è riportare tutte le scritte, le incisioni o le indicazioni sia del costruttore che del venditore, dei successivi possessori, ecc. conservando con cura i dati tecnici forniti dal costruttore, le tabelline, i manuali d'istruzione, i cataloghi, le "trade card", ecc.

MUSEO DI UBICAZIONE:

SETTORE : OTTICA

OBBIETTIVO da MICROSCOPIO N° d'inventario:

Fabbricante: Nazione o Città: N° di catalogo :
Anno: Notazione: N° di matricola:

PARAMETRI OTTICI

• Ingrandimento lineare trasversale Mob (con Lm = mm ed A_i[248]= mm) :1
• Lunghezza meccanica nominale del tubo Lm (mm) =
• Diametro nominale del campo immagine s' (mm) =

• Apertura numerica NA = n sen α =
• Spessore ottimale della lamella d (mm) =
• Lunghezza focale f_{ob} (mm) =

• Lunghezza meccanica dell'obb. Lo (mm) =
• Distanza libera di lavoro WD (mm) =
• Correzione: Acrom. □ Semiapo. □ Apocrom. □ CF □ Planare □

Residui di aberrazioni :

Sferica □□□□□ sottocorretta □ sovracorretta □
Coma □□□□□ centripeta □ centrifuga □
Astigmatismo (μ): □□□□□
Curvatura di campo : (% a fuoco del campo)
Distorsione (freccia) μ: (y'=5 mm); a cuscinetto □ a barilotto □
Cromatica long. Δa (μ):
Cromatica later. Δy' (μ): (per y' = 5 mm)
Seconda coniugata Finita □ Infinita □
Oculare consigliato : □ Acrom. □ Semicompens. □ Compens.
Ricetta:
A secco □ Ad immersione □ HI □ Ad acqua □ Altro □

PARAMETRI MECCANICI

Attacco : a vite □ RMS □ altro □ a slitta □ altro □ (M[249] …)
Montatura telescopica □ Camicia est. □
Anello di parfocalità regolabile □
Diafr. iride □ Collare di correzione □ Fori di centratura □

VERSIONI PARTICOLARI

Episcopia FC □ FS □ Radiaz. polarizz. □ Contrasto di fase Pos. □ Var. □ Neg. □ Altro □ Densità dell'anello di fase:
Catottrico □ Catadiottrico □ LWD □ Altro:

DANNI SUBITI :

INTERVENTI ESEGUITI : Pulizia e controllo □ Rilievo parametri □ Altri □
Data: Operatore:

STATO ATTUALE DI CONSERVAZIONE :

PROVENIENZA: Data acquisizione:

CONDIZIONE GIURIDICA :
SCHEDARIO FOTOGRAFICO : N°
BIBLIOGRAFIA :

NOTE :

DI CORREDO AL MICROSCOPIO : N° d'inventario

---

[248] A_i = distanza fra immagine intermedia e battuta dell'oculare.

[249] Indicare il diametro del filetto se di tipo metrico.

31.2 - SCHEDA "OBBIETTIVO"

31.2.1 - Ingrandimento lineare trasversale (Mob) (§ 12.2)

Tale parametro dipende da alcuni fattori, che vanno definiti prima della misura:

•• Lunghezza meccanica del tubo (L_m) (§ 10): si deve usare la lunghezza prevista dal costruttore. Se l'obbiettivo è montato ancora sullo strumento originale ed il tubo è fisso, non vi sono problemi; solo nel caso dei tubi bioculari a doppia guida, tipo Zeiss (vecchia versione), occorre regolare la distanza interpupillare su un valore medio (65 mm ad es.). Se uno solo dei tubi portaoculari è regolabile, la misura va fatta sul tubo fisso; se esistono due tubi regolabili, si regola il tubo su cui si esegue la misura sulla posizione di "0" o sulla posizione "65 mm" se esiste una graduazione in mm.

Se il tubo è telescopico, occorre conoscere la lunghezza di tubo prevista dal costruttore; in assenza di ciò si vada per similitudine con strumenti analoghi: il valore più diffuso è 160 mm, ma certi costruttori (come Leitz, Meopta), che modernamente hanno adottato il valore 160, in addietro usavano 170 mm o altro. I costruttori inglesi antichi usavano spesso valori "lunghi", fino a 250 mm.

Se l'obbiettivo non è montato sullo strumento originale, salvo il caso (moderno) che L_m sia indicata sulla montatura (§ 19.1.5), bisogna procedere per confronto.

Normalmente, se la misura di Mob fornisce un valore molto diverso dal nominale, si può rifare la misura con un altro valore di L_m , che sia giudicato possibile.

•• Altezza dell'immagine intermedia (A_i) (§ 20.2).

Si può così definire la distanza lungo l'asse fra l'immagine intermedia nominale e l'orlo del tubo. Tale altezza influisce sulla coniugata-immagine dell'obbiettivo (**a'**) e quindi su Mob. Per conoscere il valore previsto dal costruttore (in genere non dichiarato), si può misurare, col metodo indicato nel § 31.3.5, il valore di A_i nell'oculare di cui è corredato il microscopio, o nell'oculare di valore intermedio (10 ×, ad es.) se ve ne sono più di uno[250].

Se non si possiede l'oculare originale previsto dal costruttore, occorre procedere per confronto, oppure adottare uno dei valori standard (10 mm per le norme DIN, 13 mm per le norme TGL, assai di più, fino a 60 mm, per gli oculari deboli di vecchia data).

La misura di Mob va dunque eseguita con il valore corretto di L_m e di A_i . Occorre quindi, da un lato, lo stativo originale o un altro stativo con la stessa L_m o un tubo telescopico. Dall'altro lato, occorre un oculare micrometrico positivo, col valore corretto di A_i . Se l'oculare micrometrico che si ha a disposizione ha una A_i minore del richiesto, è inutilizzabile (a meno di poter accorciare la L_m con un tubo telescopico o con un tubo bioculare regolabile). Se l'oculare micrometrico ha una A_i eccessiva, lo si può sollevare di quel tanto che basta e fissarlo con un pezzo di nastro adesivo durante la misura di Mob .

Questa misura si esegue col metodo indicato nei §§ 12.1 e 12.2 . Si pone l'oculare micrometrico POSITIVO col valore sopra discusso di A_i in un tubo del valore corretto di L_m . Si mette a fuoco su un micrometro oggetto e si fa il rapporto fra un certo tratto del

---

[250] Si ricordi che molti microscopi del passato, o anche moderni se di modesta qualità, sono corredati di oculari con diverso valore di A_i .

micrometro oculare (i due terzi centrali, per es. dal mm 2 al 8, nel caso del solito reticolo 10 mm/100 parti), ed il tratto corrispondente del micrometro oggetto. Le lunghezze dei tratti corrispondenti sui due micrometri vanno ovviamente espresse usando la stessa unità di misura.

31.2.2 - Apertura numerica NA = n sen α

Per questo si può usare un apertometro, del tipo di Abbe o di Beck (§ 5.2.9).

Anche questa misura va eseguita con il valore corretto di L_m, ma questa volta le tolleranze sono molto più larghe.

Per osservare l'immagine della graduazione dell'apertometro che si forma nella pupilla d'uscita dell'obbiettivo, si può usare un microscopio ausiliario (§ 19.5.5) diaframmando però il più possibile l'obbiettivo di quest'ultimo (la lente inferiore), oppure una lente di Amici, se presente nello stativo.

Un apertometro di Beck si può autocostruire in questo modo: si dispone sul tavolino un regolo millimetrato (meglio sarebbe un regolo graduato con passo 0,5 o 0,1 mm) e lo si illumina intensamente (se è trasparente, lo si può illuminare da sotto tramite un vetro smerigliato, dopo tolto il condensatore).

Sul regolo si pongono due blocchetti distanziali identici dell'altezza di circa 10 mm, che lasciano libera una regione della graduazione di almeno 5 cm, centrata sull'asse ottico dell'obbiettivo. Se il regolo è illuminato da sotto, occorrerà verificare che il foro nel tavolino sia abbastanza grande da illuminare tutta la regione utile del regolo. Altrimenti, lo si illumini da sopra.

Sopra i blocchetti, in corrispondenza della graduazione, si poggia una lamella lunga almeno 50 mm: sulla superficie inferiore della lamella si depone qualche trattino sottile di china o qualche granello di polvere. Su questi trattini o granelli si focalizza l'obbiettivo in esame con un oculare qualunque. Poi si toglie l'oculare e col microscopio ausiliario si osserva la pupilla d'obbiettivo e l'immagine della graduazione che vi si forma. Chiamiamo 2ℓ la lunghezza della graduazione (espressa in mm) che è visibile all'interno dell'orlo della pupilla.

Sia **d** l'altezza dei distanziali, (si supponga il lato graduato del regolo rivolto verso l'alto). Allora **d** rappresenta la distanza fra graduazione e piano-oggetto dell'obbiettivo. La si esprima in mm, come pure ℓ.

Conoscendo ℓ e **d**, si calcola $\operatorname{tg}\alpha = \ell : d$ e da qui sen α, cioè la NA.

Se però l'obbiettivo è ad immersione, occorre che lo spazio fra lamella e graduazione sia riempito con un mezzo di indice n = 1,51 circa. Si può prendere un blocchetto di vetro a facce lucide, piane e parallele, di indice noto **n**. Su una faccia del blocchetto si incollerà il regolo (graduazione dal lato del blocchetto) e sull'altra faccia la lamella, con i trattini di china sempre dal lato del blocchetto. Come adesivo si può usare balsamo del Canadà.

In questo caso, il valore di NA ricavato da ℓ e da **d** col calcolo trigonometrico va moltiplicato per il valore di **n**.

31.2.3 - Lunghezza meccanica dell'obbiettivo Lo (§ 19.1.2)

Anche questo valore è legato alla lunghezza del tubo L_m ed alla posizione dell'immagine intermedia (A_i). Valgono quindi le considerazioni fatte nel § 31.2.1.

Ciò appurato, si focalizza su un vetrino qualunque (senza lamella se l'obbiettivo è

calcolato per d = 0, vedi il § 19.2.5); senza toccare la messa a fuoco, si smonta l'obbiettivo (magari dopo aver ruotato il revolver) e con un compasso si riprende la distanza fra vetrino ed orlo del foro di montaggio dell'obbiettivo ("battuta"). Il compasso si riporta poi su un regolo, come si è fatto per il rilevamento del fine-corsa (§ 31.1.7).

Per la lunghezza del tubo L_m vale quanto detto nei §§ 31.1.1 e 31.1.2.

31.2.4 - Spessore ottimale della lamella (d)

Questa misura serve a verificare la correttezza del valore nominale dichiarato dal costruttore (di solito d = 0 o 0,17 mm).

Si esegue la misura cercando lo spessore di lamella che fornisce il minimo residuo possibile per l'aberrazione sferica (§§ 13.2.3, 18.3, 18.4). Si pone davanti all'obbiettivo uno star test SCOPERTO; lo si osservi con un oculare forte e si pongano sullo star test delle lamelle di spessore crescente (e misurato punto per punto con un centesimale) fino a minimizzare la sferica (alterazioni della centrica il più possibile identiche sopra e sotto la posizione di miglior fuoco).

Si può anche usare uno star test coperto da una lamella normale (d = 0,17) di cui si conosca lo spessore con tolleranza di almeno ± 0,01 mm. Poi si minimizza la sferica variando la lunghezza del tubo L_m , supponendo di disporre di un tubo telescopico. Partendo da un valore nominale per L_m , la minimizzazione della sferica si avrà per una certa variazione Δ_L della lunghezza del tubo L_m e ciò corrisponde ad una variazione dello spessore della lamella (Δ_d) dello stesso senso: se occorre allungare il tubo significa che lo spessore nominale della lamella è insufficiente.

Esprimendo Δ_L in mm e Δ_d in centesimi, si ha la formula approssimata (vedi anche la formula senza numero in una nota del § 13.2.3.3) :

$$\Delta_d = \Delta_L \cdot 250 / Mob^2 \qquad (87)$$

31.2.5 - Distanza libera di lavoro WD (§ 19.1.3)

Ancora una volta, occorre lavorare con i valori nominali di L_m ed A_i .

Si metta a fuoco un vetrino contenente un oggetto sottile e ben contrastato, con un oculare medio ed un condensatore ben aperto. Il vetrino sia coperto da una lamella dello spessore nominale.

Poi si introducono fra obbiettivo e vetrino le lamelle di uno spessimetro, di spessore crescente fino a sentire un brusco aumento di attrito. Si eviti di forzare le lamelle nel caso di obbiettivi molleggiati, poiché questi si ritirano e si commette un errore in eccesso. Si avvolgano le lamelle con carta per non graffiare l'obbiettivo; allo spessore delle lamelle si sommi poi lo spessore (doppio) della carta, misurato al centesimale.

31.2.6 - Diametro utile / nominale s' del campo immagine

Se questo non è dichiarato dal costruttore, si osservi un reticolo (§§ 12.1 e 19.5.4) con l'obbiettivo in esame ed un oculare grandangolare moderno, di tipo acromatico positivo, con

s' $\geq$ 18 mm. È sempre bene rispettare il valore nominale di lunghezza del tubo.

Si osservino bene i bordi del campo visuale e si giudichi fin dove la definizione è accettabile. Se vi è molta cromatica laterale o CVD (§§ 13.2.2 e 19.3), è bene riprovare con qualche oculare compensatore di buona qualità; si evitino gli oculari dotati di compensazione per l'astigmatismo come i "fotografici" o "complanetici" di Wild, ecc.

Facendo le proporzioni col diametro noto del campo visuale dell'oculare in uso, si può valutare quale porzione di quel campo ha un'accettabile definizione ("diametro utile").

31.2.7 - Lunghezza focale f_{ob}

Si prenda un piccolo microscopio con tubo a gomito e lo si disponga con l'asse dell'obbiettivo orizzontale ed il tubo porta-oculare rivolto in alto.

Vi si montino tre o quattro obbiettivi di ingrandimento scaglionato, fra 2:1 e 50:1 (a secco). Vi si monti anche un oculare micrometrico e si misurino gli equivalenti micrometrici dei vari obbiettivi (§ 12.3).

Si smonti il condensatore e, con apposito raccordo da fabbricarsi ad hoc, si monti in suo luogo l'obbiettivo in esame con la frontale rivolta verso la frontale dell'altro obbiettivo, in modo tale che la distanza fra le due lenti frontali sia circa pari alla somma delle loro distanze di lavoro.

Lungo l'asse di questo sistema a due obbiettivi (e precisamente dal lato da cui proviene normalmente il fascio illuminante) si ponga alla distanza di 160 ± 1 cm un oggetto lungo 100 ± 0,5 mm (una strisciolina di carta bianca su fondo nero, ad es.) e ben illuminato. Tale oggetto va posto in un piano perpendicolare all'asse ottico degli obbiettivi; la cosa è facile se il piede del microscopio è forato o aperto sotto il condensatore; altrimenti occorre servirsi di uno specchietto sotto il condensatore o smontare il piede dello strumento.

La distanza di 160 cm va calcolata fra l'oggetto di 100 mm ed il fuoco superiore dell'obbiettivo in esame. Se, nella misura di f_{ob} , si accetta un errore di ± 1 %, la posizione di tale fuoco si può accettare con un errore superiore ad 1 cm. Possono quindi bastare le seguenti indicazioni: negli obbiettivi classici (non planari) di ingrandimento fino a 16:1, il fuoco superiore è molto vicino alla lente emergente; nei modelli medio-forti (formula di Amici, § 19.2.3.1) il fuoco superiore è qualche mm sotto la lente emergente. Nei tipi planari le cose sono più complicate: rimane sempre la possibilità di rivolgere la frontale dell'obbiettivo verso il sole e cercare di individuarne l'immagine.

A questo punto, l'obbiettivo in esame fornisce in prossimità del suo fuoco inferiore un'immagine impiccolita dell'oggetto lungo 100 mm. Focheggiando il microscopio micrometrico, si metta a fuoco questa immagine e se ne misuri la lunghezza in mm (y'). La misura di y' , almeno se l'obbiettivo di misura è forte ed è corretto per una lamella con d = 0,17 mm, va eseguita ponendo una lamella fra i due obbiettivi, perpendicolare all'asse[251].

La focale dell'obbiettivo in esame è data da : $f_{ob} = 16 \cdot y'$.

Se l'obbiettivo in esame è ad immersione, occorre depositare sulla sua frontale una piccola goccia di olio da immersione ed un frammento di lamella, o magari due o tre frammenti impilati[252]. L'aderenza dell'olio è sufficiente a trattenere i frammenti di lamella.

---

[251] Queste precauzioni servono ad evitare l'insorgenza di forti aberrazioni, ma la loro omissione non produce errori di misura.

[252] Vedi nota precedente.

31.2.8 - Tipo di correzione (§§ 13.2.1, 19.3 e 19.5)

Si tratta qui di valutare essenzialmente la correzione della cromatica longitudinale.

Con un oggetto a forte contrasto, come un reticolo, si focheggia su e giù; attraverso un oculare medio-forte del tipo previsto dal costruttore, si osservano gli aloni colorati AL CENTRO DEL CAMPO.

Se gli aloni passano dal blu al rosso, la correzione è molto scadente; se passano dal viola al verde, la correzione è buona, di tipo acromatico; se sono impercettibili, la correzione è ottima, acromatica, apocromatica o CF.

La distinzione ulteriore fra le varie categorie di obbiettivi si basa sul controllo della cromatica laterale, e qui si fa riferimento ai §§ 19.3 e 19.5 .

31.2.9 - Residui di aberrazioni

•• Sferica: vedi i §§ 13.2.3, 18.4, 19.3 e 19.5.3.

•• Coma : vedi i §§ 13.2.4, 18.4, 19.3 e 19.5.3. La coma è "centripeta" quando il punto più luminoso della figura di diffrazione è diretto verso la periferia del campo. Non è facile con l'osservazione dello star test dare una valutazione quantitativa della coma, ma con una certa esperienza si può comunque apprezzarla esprimendola con un certo numero di gradini, ad es. 5, come è previsto nella scheda.

•• Astigmatismo: vedi i §§ 13.2.5, ecc. Osservando lo star test con un oculare micrometrico, è possibile misurare la lunghezza massima delle focaline quando il fuoco è ottimizzato su una di esse (quando essa ha la larghezza minima), alla periferia del campo.

•• Curvatura di campo (§§ 13.1.1, 14, 19.2.3.2, 19.5.3 e 19.5.4). L'apprezzamento della porzione di campo "ancora a fuoco" o "appena fuori fuoco" è ovviamente soggettiva. La percentuale da indicare si riferisce al raggio, non alla superficie.

•• Distorsione (§§ 13.1.2, 19.5.3 e 19.5.4). Si osserva con un oculare positivo qualunque un reticolo-oggetto contenente almeno una linea diritta; si deve disporre nell'oculare un reticolo costituito da un quadrato di lato pari a 10 mm ed una graduazione al centro, con passo 50 o 100 μ. Si porta la linea diritta nell'oggetto a sfiorare quel lato del quadrato che è perpendicolare alla graduazione. Si può così evidenziare la freccia di curvatura dell'immagine, per confronto col lato del quadrato presente nell'oculare. La graduazione permette poi una misura della freccia. Naturalmente tale freccia si riferisce al piano dell'immagine intermedia.

•• Cromatica longitudinale (§§ 13.2.1 e 19.3). Con l'obbiettivo in esame ed un oculare acromatico, osservare un oggetto a forte contrasto. Usando la messa a fuoco come per la misura di spessori (§ 12.3), si misuri la distanza assiale (Δa, riferita allo spazio oggetto) fra le due posizioni di focalizzazione in cui appaiono più evidenti AL CENTRO DEL CAMPO gli aloni colorati di colore complementare: di solito rosso-blu oppure verde-viola.

Negli obbiettivi moderni gli aloni sono spesso così impercettibili che la misura è impossibile. Si annoterà sulla scheda: "residuo non rilevabile".

•• Cromatica laterale o CVD (§§ 13.2.2, 19.3, 19.5.3 e 19.5.4). Si osservi un reticolo con un oculare micrometrico positivo ACROMATICO . Si può allora misurare la larghezza degli aloni colorati ai bordi del campo (Δy', riferita al piano dell'immagine intermedia). La focalizzazione va ottimizzata ai bordi. La misura si può eseguire a 5 mm dall'asse, sempre nel piano dell'immagine intermedia (y' = 5 mm).

31.2.10 - Oculare consigliato (§ 19.3)

Durante l'osservazione di un reticolo oggetto, si cerca il tipo di oculare che minimizza la CVD ai bordi del campo. Focalizzare ai bordi. Occorre ovviamente disporre di una serie di oculari con caratteristiche diverse e ben note, dall'acromatico puro al compensatore forte.

31.2.11 - Errori di montaggio (§§ 18.3, 18.4, 19.5.2)

Si osservi, con l'obbiettivo in esame, uno star test nelle migliori condizioni di illuminazione e con un oculare forte (almeno 15 ×), possibilmente positivo.

Si studi la struttura della centrica AL CENTRO DEL CAMPO (§ 18.3). La presenza di coma sull'asse denota di solito un errore di centratura, probabilmente della lente flottante, ove presente (§§ 13.2.4 e 19.5.2). Astigmatismo in asse denota spesso l'inclinazione non corretta (disallineamento o "tilt") di qualche lente.

Si ricordi che una forte coma in asse maschera residui anche forti di sferica e di astigmatismo.

31.2.12 - Attacco a vite, ecc.

Un conta-filetti ed un calibro permettono di individuare con sicurezza il tipo di filetto. Il conta-filetti deve contenere tutti i passi inglesi, oltre quelli metrici.

Quando sono presenti l'anello di parfocalità regolabile (§ 19.1.2) ed i fori di centratura (§ 13.2.4), essi sono sempre nascosti all'interno della montatura e spesso sotto una "camicia" (§ 19.1) che andrà quindi smontata per una verifica. Si noti che certi costruttori fissano la camicia con adesivi del tipo del "loch-tite" e per ammorbidirli è spesso sufficiente l'alcool, in minima quantità per non alterare vernici o cementi delle lenti, lasciandolo agire per qualche ora.

31.2.13 - Versioni particolari

Molte informazioni si deducono dalle notazioni, dai cataloghi, dalla struttura dell'obbiettivo.

Gli obbiettivi episcopici saranno in genere indicati con d = 0 ; se per fondo scuro, sarà visibile il condensatore anulare. Gli obbiettivi diascopici per campo scuro, se con apertura superiore ad 1,0 (ad immersione), saranno dotati di un diaframma ad iride interno, comandabile da un anello esterno, oppure di "cilindretti limitatori" che fungono da diaframmi fissi, e si introducono nell'obbiettivo dall'alto. Le versioni catottriche saranno riconoscibili per la presenza di superfici speculari, per l'otturazione centrale, per le grandi dimensioni, ecc. Le versioni "Pol", ove non indicate dalle notazioni, andranno controllate, tramite una lente di Amici ed un condensatore Pol, fra Nicol incrociati: si deve vedere una "croce di Malta" scura, regolare, senza colori. Annotare le eventuali macchie chiare o colorate.

Le versioni "di fase" saranno riconoscibili dalla presenza di un anello di fase presso la lente emergente. Il tipo di contrasto si riconosce osservando un preparato di fase (fibre di vetro in olio di paraffina, peli di cotone in acqua, ecc.). La densità dell'anello di fase si misura con un metodo fotometrico, anche sfruttando un esposimetro fotografico; occorre fare il confronto con un altro obbiettivo non di fase con identica struttura (diaframma anulare inserito e centrato), oppure inserire fra obbiettivo e condensatore una lente sferica abbastanza forte da modificare le dimensioni dell'immagine del diaframma anulare in modo che essa non interferisca coll'anello di fase.[253] Si misura in quest'ultimo modo la trasparenza dell'obbiettivo fuori dell'anello di fase; in condizioni di lavoro, si ha invece la trasparenza CON anello. Il rapporto fra le due trasparenze fornisce la densità dell'anello.

[253] Può bastare spesso variare l'altezza del condensatore; sorvegliare con un microscopio ausiliario le variazioni di diametro dell'immagine del diaframma anulare.

MUSEO DI UBICAZIONE:

SETTORE : OTTICA

OCULARE da MICROSCOPIO N° d'inventario:

Fabbricante: Nazione o Città: N° di catalogo :
Anno: Notazione: N° di matricola:

PARAMETRI OTTICI

Ingrandimento visuale	Indice di campo	Campo angolare
V = ×	s' (mm) =	2 α (°) =
Lunghezza focale	Altezza dell'imm. interm.	Altezza della pupilla
f_{oc} (mm) =	rispetto alla battuta A_i (mm) =	A_p (mm) =
Ricetta :	Correzione della CVD[254] :	Residui di aberrazioni:
	□ Acromatica	
	□ Semi-compens.	
	□ Compensatrice	

Obbiettivi consigliati :
Prestazioni particolari : Positivo □ ; Negativo □ ; Divergente □ ; Proiettivo □ ; Micrometrico □ ; Altro □

PARAMETRI MECCANICI

Diametro esterno Ø (mm) =	Lunghezza *l* (mm) =	Diametro superiore $Ø_p$ (mm) =
Diametro del diaframma di	Sede per reticoli □	
campo visivo DV (mm) =	Ø (mm) =	Crocefilo □

Lente oculare regolabile □ Paraocchi integrato □

VERSIONI PARTICOLARI : Pol □; Indicatore □; Regolabile □; Altro □

DANNI SUBITI :

INTERVENTI ESEGUITI : Pulizia e controllo □; Rilievo parametri □; Altri □
Data: Operatore:

STATO ATTUALE DI CONSERVAZIONE :

PROVENIENZA : Data di acquisizione:

CONDIZIONE GIURIDICA :

SCHEDARIO FOTOGRAFICO: N°
BIBLIOGRAFIA :

NOTE :

DI CORREDO AL MICROSCOPIO : N° d'inventario:

[254] CVD = Chromatische Vergrosserung Differenz = Differenza cromatica d'ingrandimento = Aberr. Cromatica laterale

31.3 - SCHEDA " OCULARE"

31.3.1 - Ingrandimento visuale Vok (§§ 12.5 e 12.6)

I metodi di misura indicati nei capitoli citati qui sopra sono indiretti e sono legati a vari fattori, presupponendo fra l'altro la misura di Mob legato ad L_m , A_i , ecc.

Conviene quindi calcolare il valore di V_{ok} da quello di $\mathbf{f_{ok}}$ (vedi la formula (19) nel § 4.3) e quest'ultimo si misura come indicato sotto (§ 31.3.4), con buona precisione.

È facile e preciso misurare direttamente V_{ok} solo nel caso di oculari positivi: si misura il diametro del diaframma di campo visivo con un calibro, si proietta un'immagine di tale diaframma su uno schermo a 250 mm sopra il disco di Ramsden (§§ 4.4 e 5.2.7) e si misura il diametro dell'immagine. Il rapporto fra i due diametri fornisce V_{ok} .

31.3.2 - Indice di campo s' (§§ 7.2)

Si osservi un micrometro oggetto con un obbiettivo debole o medio, di cui si conosca esattamente l'ingrandimento; la misura di quest'ultimo deve essere stata fatta con un oculare che abbia la stessa posizione dell'immagine intermedia dell'oculare in esame (§ 31.3.5) e con un tubo della stessa lunghezza di quello su cui si misura **s'** .

Si legge quanta parte del micrometro oggetto corrisponde al diametro del campo visivo (misura in mm) e si moltiplica per Mob . Questo è **s'** .

Nel caso degli oculari positivi, basta un calibro poiché **s'** coincide col diametro del diaframma di campo visivo dell'oculare, che è accessibile da sotto.

31.3.3 - Campo angolare 2 α (§§ 7.1 e 20.1)

Si ponga uno schermo perpendicolare all'asse, sopra l'oculare, alla distanza **l** dal disco di Ramsden.

Con una forte illuminazione, si vedrà un'immagine del diaframma di campo visivo. Se ne misuri il diametro Ø . Verificare che non vi sia nulla che vignetta (diaframma di campo illuminato, lente frontale del condensatore, ecc.). Usare un obbiettivo medio. Il rapporto: $\frac{Ø}{2\,\mathbf{l}}$ dà la tangente di **α** .

31.3.4 - Lunghezza focale foc

Si usi lo stesso metodo indicato nel § 31.2.7 per f_{ob} . Occorrerà un altro raccordo per

montare l'oculare in luogo del condensatore. La lente oculare va rivolta verso l'obbiettivo del microscopio di misura.

Come posizione del primo fuoco dell'oculare si può assumere, con sufficiente precisione, quella del diaframma di campo visivo.

31.3.5 - Altezza dell'immagine intermedia Ai

Se l'oculare è positivo, l'immagine intermedia (ed in questo caso il primo fuoco dell'oculare) coincidono col piano del diaframma di campo visivo. Basta un calibro.

Se l'oculare è negativo, si procede per confronto. Si osservi un reticolo o un micrometro-oggetto con un obbiettivo da circa 10:1. Si monti l'oculare in esame e si focalizzi con cura. Senza alterare lo stato dello strumento, si tolga l'oculare in esame e lo si sostituisca con un oculare di cui si conosce la A_i . Si cerchi di nuovo il miglior fuoco con uno dei due mezzi :

•• alterare la lunghezza del tubo L_m , se il tubo è telescopico;

•• sollevare l'oculare; questo funziona se l'oculare di confronto ha una A_i maggiore dell'oculare in esame: conviene rivolgersi ad un oculare debole di vecchia fabbricazione.

La lunghezza di cui è stato spostato l'oculare di confronto va sommata algebricamente alla A_i di esso (sottrarre se l'oculare è stato sollevato).

31.3.6 - Altezza della pupilla (Ap) (§ 9)

Montare un obbiettivo medio e chiudere parzialmente il diaframma d'apertura. L'illuminazione deve essere intensa.

Sopra l'oculare in esame si pone un vetro smerigliato, perpendicolare all'asse, e lo si sposta assialmente fino a minimizzare la sezione del fascio. A questo punto, la distanza fra la superficie smerigliata e la lente oculare (superficie emergente) rappresenta il valore di A_p .

31.3.7 - Correzione della cromatica laterale (CVD)

Si osservi un reticolo attraverso un obbiettivo sicuramente acromatico (acromatico classico non superiore a 10:1 oppure sistema CF, § 19.3.2).

Coll'oculare in esame si osservino i margini delle righe del reticolo alla periferia del campo. Se non vi sono aloni colorati, l'oculare è acromatico. Se l'orlo delle righe scure rivolto verso l'asse è rosso-giallo, l'oculare è più o meno compensatore. Utile un confronto con altri oculari noti.

Da questo rilevamento risulta anche chiaro quale è il tipo di obbiettivo consigliato (vedi i §§ 19.3 a 19.3.2).

31.3.8 - Parametri meccanici

•• Lunghezza meccanica (ℓ): si intende qui la distanza fra l'orlo di appoggio (battuta) e l'orlo inferiore. Questo parametro determina la lunghezza della porzione interna libera

necessaria nella parte superiore del tubo e, se eccessivo, può determinare l'impossibilità di usare un certo oculare su un certo tubo e può aiutare a riconoscere la diversa provenienza delle due parti.

•• Diametro superiore (Øp): di solito è il diametro della montatura della lente oculare, comunque è il diametro sul quale vanno inseriti i paraocchi ed altri accessori.

MUSEO DI UBICAZIONE:

SETTORE : OTTICA

CONDENSATORE da MICROSCOPIO N° d'inventario:

Fabbricante: Nazione o Città: N° di catalogo :
Anno: Notazione: N° di matricola:

PARAMETRI OTTICI
Lunghezza focale f_k (mm) = Apertura numerica NA = n sen α = Distanza frontale in aria[255](mm) =
Ricetta : Correzione □ Acromatica □ Aplanatica □ Altro Residui di aberrazioni:
Versioni particolari □ A grande campo □ A lunga focale □ Per campo scuro
□ Per contr. di fase □ Per radiaz. polarizz. □ A due diaframmi (sec. Berek)
□ Pancratico □ Per DIC □ Altro

PARAMETRI MECCANICI
Altezza (battuta-superf. frontale) h (mm) = Attacco: □ Cilindrico; Ø (mm) = □ Coda di rondine circolare; $Ø_{est}$ (mm) = □ Coda di rondine lineare; largh. max (mm) =
Lente frontale □ ribaltabile □ ad innesto □ a vite □ fissa □
Revolver □ □ per diaframmi anulari □ per contrasto di fase: N° posizioni:
□ per campo scuro: N° posizioni:
□ per prismi di Wollaston (DIC) a N° posizioni:
□ revolver di condensatori a N° posizioni:
Dispositivi di centratura intrinseca □ : a viti □ a camme □ altro □
Porta-filtri N° Diametro filtri (mm) = Attacco molleggiato per filtri □
Diaframma d'apertura □ Diametro massimo-minimo (mm) = / Graduazione:
Comando: a leva □ ad anello esterno □ decentrabile □ con cremagliera (sec. Abbe) □

DANNI SUBITI :

INTERVENTI ESEGUITI : Pulizia e controllo □ Rilievo parametri □ Altri □
Data: Operatore:
STATO ATTUALE DI CONSERVAZIONE :

PROVENIENZA : Data di acquisizione:

CONDIZIONE GIURIDICA :

SCHEDARIO FOTOGRAFICO: N°

BIBLIOGRAFIA :

NOTE :

DI CORREDO AL MICROSCOPIO : N° d'inventario:

[255] Oltre un porta-oggetti di spessore = 1 mm.

31.4 - SCHEDA "CONDENSATORE"

31.4.1 - Lunghezza focale (f_k)

Il metodo di misura può essere il medesimo di quello indicato per f_{ob} (§ 31.2.7), ma con un vantaggio: il microscopio di misura può essere lo stesso su cui è montato il condensatore in esame. Occorrerà solo montarvi un oculare micrometrico e misurare il valore micrometrico degli obbiettivi deboli.

Il microscopio può essere disposto con l'asse verticale ed uno specchietto (piano !) sotto il condensatore può rinviare verso il condensatore stesso l'immagine dell'oggetto illuminato lungo 100 mm. Nel calcolo della distanza di 160 cm fra oggetto e condensatore occorre tener presente il ripiegamento del cammino ottico operato dallo specchietto.

Il primo fuoco del condensatore è in genere molto vicino al diaframma d'apertura, almeno con quelli a forte apertura. Altrimenti si può identificare il fuoco rivolgendo la frontale del condensatore verso un oggetto lontano qualche metro almeno e cercandone l'immagine creata dal condensatore stesso.

31.4.2 - Apertura numerica NA_k

Una volta ricavato il valore a secco si calcola il valore in immersione (ove previsto) moltiplicando per 1,51.

Per calcolare sen α si misura α con un metodo simile a quello usato per il campo angolare dell'oculare (§ 31.3.3). Si accende la microlampada incorporata (diaframma di campo mezzo chiuso) o si rivolge lo specchietto verso una forte lampada a filamento concentrato, lontana una ventina di centimetri. Si cerca con un vetro smerigliato la posizione del punto più stretto del fascio emergente dal condensatore. Alla distanza **l** da questo punto (un paio di cm) si pone ora il vetro smerigliato, perpendicolare all'asse, e si misura il diametro Ø del fascio; si può poggiare lo smerigliato sul tavolino ed abbassare il condensatore, nel caso che esista una focalizzazione per esso. Ancora una volta, il rapporto :

$$\frac{Ø}{2\,\mathbf{l}} \qquad \text{è pari a } \operatorname{tg}\alpha\,.$$

Spesso, l'orlo del fascio prodotto dal condensatore non è netto e la misura è difficile; d'altra parte, questa difficoltà corrisponde all'impossibilità di definire l'apertura di un sistema convergente affetto da troppe aberrazioni: questa condizione è significativa e va annotata.

31.4.3 - Distanza frontale in aria (§ 21.3) e distanza di lavoro

Si rivolge il condensatore verso una sorgente piccola, lontana almeno qualche metro (anche il sole). Diaframma d'apertura tutto aperto.

Si poggia sulla lente frontale un vetrino porta-oggetti di spessore 1 mm (eventualmente con lamella). Si cerca con un vetro smerigliato la posizione del fuoco.

La distanza fra il fuoco e la superficie superiore del vetrino è il valore cercato. Per misurare tale distanza si può procedere anche così: poggiare sul tavolino un vetrino qualunque, di spessore 1 mm; focalizzare l'obbiettivo sulla superficie superiore di esso; sempre guardando nell'oculare, minimizzare l'immagine della sorgente lontana focalizzando il condensatore. A questo punto, con un calibro, misurare la distanza fra la superficie superiore del vetrino e quella del condensatore.

Le misure descritte danno la "distanza frontale immagine" ideale, con oggetto a distanza infinita, tenuto conto della presenza del vetrino; la distanza di lavoro (WD) effettiva, con una microlampada "normale", si misura allo stesso modo: basta porre una qualunque lampadina accesa, con filamento concentrato se possibile, nel luogo dove si suppone sia prevista la sorgente nell'uso normale. Se la microlampada esiste già e se è fissata stabilmente allo strumento, o incorporata in esso, tutto è più semplice: basta accenderla e chiudere in parte il diaframma di campo.

31.4.4 - Correzione

Anche quando un condensatore è dichiarato "acromatico" e/o "aplanatico", la correzione è relativa. Occorre quindi una certa esperienza ed il confronto con altri condensatori per arrivare ad un giudizio fondato.

I "residui di aberrazioni" sono tutti quelli non corretti dalle versioni acromatiche e/o aplanatiche. Questa indicazione è complementare della precedente.

31.4.5 - Versioni particolari

Le si riconoscono in genere dalla notazione, dalla presenza di revolver per diaframmi, ecc.

Quelle per campo scuro possono somigliare a quelle per contrasto di fase con diaframma anulare unico. Se però il campo scuro è ad immersione, il fascio emergente dal condensatore risulta completamente obliterato (a causa della riflessione totale) quando si osserva il condensatore "a secco", cioè quando la sua lente frontale è a contatto con l'aria.

Le versioni "a grande campo" si riconoscono proprio per il fatto di fornire, con una normale microlampada, un campo illuminato di diametro superiore a 5 mm.

Le versioni "a lunga focale" debbono avere una distanza frontale (come sopra definita) superiore a 5 mm. Generalmente, si riconoscono per il fatto di presentare una lente frontale molto grande, di diametro superiore a 10 mm.

Le versioni per radiazione polarizzata vanno controllate osservandone l'immagine fra Nicol incrociati attraverso un obbiettivo forte (a secco o HI a seconda del tipo di condensatore) ed un microscopio ausiliario o una lente di Amici; diaframma di apertura tutto aperto e diaframma di campo quasi chiuso. Si deve osservare una croce di Malta regolare, con i quattro settori chiari uguali e senza colori. Se si notano chiazze chiare o colorate irregolari occorre verificare che non siano dovute all'obbiettivo: basta allentare la vite di fissaggio di quest'ultimo e ruotarlo attorno al suo asse.

31.5 - MICROSCOPI STEREOSCOPICI

Per molti aspetti (oculari, stativo, microlampada, ecc.), quanto è stato detto finora rimane valido anche per i microscopi stereoscopici, e del resto qualche spazio specifico è previsto nelle schede.

Per quanto riguarda lo stativo (§ 29.13), la struttura è più varia e certe particolarità andranno descritte volta per volta nello spazio riservato alle note. Per es.: "Stativo a braccio mobile , con colonna alta ..... con diametro ..... con braccio orizzontale lungo ..... ", ecc.

Oppure: "Sistema illuminante per episcopia e/o diascopia, per fondo chiaro (FC) o fondo scuro (FS) con fascio episcopico coassiale od obliquo", ecc.

Alla voce "Tavolino" si può descrivere, oltre al tavolino vero e proprio, che spesso coincide col piede dello strumento, la piastra di appoggio, di solito quadrata o circolare, amovibile, opaca o trasparente, spesso utilizzabile sulle due facce, ecc.

31.5.1 - Misura della focale dell'obbiettivo (f_{ob})

Il metodo da usare può essere lo stesso descritto al § 31.2.7. Problemi particolari possono essere:

◊◊ l'attacco dell'obbiettivo stereoscopico, salvo rarissime eccezioni, sarà diverso da quello degli obbiettivi normali. Inoltre, nei sistemi Greenough (§ 29.5) gli obbiettivi sono rigidamente fissati, a coppie, su uno stesso supporto, a volte due o più coppie, ancora su un supporto comune, che può fungere da revolver. I due obbiettivi di ogni coppia sono inoltre convergenti. Vi sarà quindi il problema, puramente meccanico, di sostenere l'obbiettivo in esame nella posizione corretta, di fronte all'obbiettivo del microscopio micrometrico;

◊◊ la distanza di 160 cm fra l' "oggetto lungo 100 mm" e l'obbiettivo in esame va ovviamente misurata dal fuoco superiore dell'obbiettivo stesso. Data però l'elevata focale degli obbiettivi stereoscopici, occorre definire bene la posizione del fuoco: si rivolga l'obbiettivo in esame col lato oggetto verso un oggetto lontano almeno qualche decina di metri; si identifichi l'immagine di tale oggetto e se ne misuri la distanza da un punto facilmente accessibile (orlo della montatura, ad es.);

◊◊ data l'elevata focale degli obbiettivi stereoscopici l'immagine dell'oggetto lungo 100 mm può essere troppo grande per un microscopio micrometrico. Si può usare al suo posto un oculare micrometrico POSITIVO o una lente d'ingrandimento munita di graduazione millimetrata, del tipo dei "contafili".

31.5.2 - Misura dell'apertura numerica (NA)

Data la lunga focale degli obbiettivi stereoscopici ed i bassi valori della loro NA (spesso inferiori a 0,1), il metodo dell'apertometro (§ 31.2.2) può non essere applicabile: discorso valido anche nel caso degli obbiettivi normali di ingrandimento inferiore a 10.

È molto pratico il seguente metodo.

Mettere a fuoco correttamente il microscopio per i vari ingrandimenti. Misurare la distanza libera di lavoro (WD) fra la superficie esterna della lente frontale di ogni obbiettivo e l'oggetto. Togliere l'oculare ed in suo luogo porre una lampadina elettrica con filamento concentrato, del tipo usato normalmente nelle microlampade. Poggiare sulla lente frontale dell'obbiettivo un doppio decimetro o (meglio) un micrometro oculare, per es. 10 mm/100 parti, ricoperto di carta lucida. Con una lente d'ingrandimento si può misurare il diametro Ø del fascio emergente dall'obbiettivo, cioè del cerchietto illuminato sulla carta lucida. Il rapporto $\frac{Ø}{2\ WD}$ ci dà tg α , da cui si può calcolare sen α = NA .

31.5.3 - Aberrazioni (§ 29.10)

Nel valutare le aberrazioni di un obbiettivo stereoscopico si tengano presenti i seguenti fatti:

◊◊ gli obbiettivi dei sistemi Greenough (§ 29.5) lavorano con l'asse non perpendicolare al piano del tavolino. Nell'uso di un reticolo od altri oggetti piani, occorre quindi valutare le aberrazioni solo su un diametro sagittale (parallelo al piano mediano dello strumento). Anche la misura dell'ingrandimento o dell'indice di campo, la parcentralità fra i due obbiettivi (§ 29.4.1), ecc. vanno valutate sul diametro sagittale, mettendo a fuoco su di esso;

◊◊ gli obbiettivi parziali nei sistemi CMO (§ 29.7) sono dati da regioni eccentriche di un obbiettivo unico. Pertanto, al centro del campo visuale, è normale la presenza di coma, astigmatismo e cromatica laterale (CVD). Occorre però, per concludere che l'allineamento è corretto, che le figure allungate date da queste aberrazioni (coda della coma, focaline astigmatiche, ecc.) siamo parallele o perpendicolari al piano mediano e simmetriche rispetto al piano stesso; ciò si controlla confrontando le immagini nei due oculari.

31.5.4 - Obbiettivi "zoom" (§ 29.9)

Se gli obbiettivi stereoscopici sono pancratici, i valori di Mob , NA, ecc. si possono misurare ai due estremi della corsa dello zoom.

La misura va comunque ripetuta per ogni posizione del cambiatore d'ingrandimento, se presente (§§ 29.5.3 e 29.7.3).

Se vi sono lenti addizionali (§ 29.8), tutte le misure vanno ripetute prima e dopo l'inserzione della lente. Le aberrazioni al centro del campo normalmente peggiorano molto dopo l'aggiunta di tali lenti.

31.5.5 - Lente di tubo

Molti stereo-microscopi, specie del tipo CMO, possiedono una lente di tubo (§ 29.7).

Per misurarne la focale f_t , vedi il § 31.1.2 .

32 - COLLAUDI TECNICO - COMMERCIALI

Nel § 31 che precede ("Il Rilevamento dei Parametri") si è descritto un possibile metodo di schedatura di microscopi e loro accessori, schedatura intesa al rilevamento delle principali caratteristiche tecniche di ogni pezzo ed alla sua catalogazione in vista di un inventario, di una raccolta, di un museo.

Dai dati riportati sulle schede dovrebbe risultare chiaro in quale punto dell'evoluzione tecnica della microscopia vada situato un dato strumento, a quale costruttore (nel caso sia anonimo) esso sia da attribuire, quali siano le compatibilità e le intercambiabilità di un singolo pezzo con altri, quale sia la probabile composizione originaria di un corredo di accessori più o meno disperso, ecc.

L'approccio del capitolo precedente è quindi essenzialmente tecnico-storico-museale.

Nel presente capitolo invece si affronta lo stesso argomento, ma dal punto di vista tecnico-commerciale, e cioè si cerca di misurare i parametri tecnici di uno strumento o di una sua parte in vista di una valutazione commerciale. In particolare, si cercherà di rilevare il valore tecnico di ogni pezzo, e cioè:

1) i suoi difetti o pregi **individuali** (difetti o pregi di fabbricazione di ogni singolo pezzo, così come giunge dal distributore);

2) i suoi difetti o pregi **generali** (dati di progetto di un'intera serie di pezzi nominalmente uguali).

Dall'analisi di questi dati sarà possibile definire la qualità tecnica del progetto di uno strumento o di una sua parte, l'impegno del costruttore (qualità dei materiali, tolleranze di fabbricazione, ecc.) e la percentuale di pezzi difettosi (e quindi l'accuratezza dei controlli di qualità).

In linea di massima, il collaudo tecnico-commerciale si rivolge a strumenti nuovi, appena usciti dagli scaffali del produttore. Pertanto non verranno esaminati i difetti legati all'usura (es., aumento dei giochi in un movimento, indurimento del medesimo per solidificazione dei lubrificanti, appannature delle lenti per deposito di aerosol o di polvere, ecc.) ma piuttosto quelli legati al trasporto (urti, ecc.).

Le schede descritte nel § 31 rappresentano una base di partenza per il collaudo tecnico di un microscopio e ad esse si farà spesso riferimento, proprio per gli elementi tecnici in esse contenuti e per i metodi di rilevamento relativi. Inoltre, per tutto lo sviluppo teorico retrostante, si farà riferimento ai precedenti capitoli del manuale.

Anche questa volta, si è avuta cura di indicare per il rilevamento dei vari parametri la tecnica più semplice, eseguibile con materiali facilmente reperibili.

32.1 - TUBI PORTA - OCULARI (§§ 24 e 25)

COLLAUDI MECCANICI

32.1.1 - Distanza inter-pupillare (§ 24.1.3) **- Movimento di regolazione**

Occorre verificare la presenza di giochi, durezze, ecc. (§ 32.2); la eventuale perdita della centratura reciproca fra i due campi visuali quando si muove un oculare rispetto all'altro rientra fra i collaudi ottici (vedi il § 32.1.11) e rientra nei parametri da contestare.

32.1.2 - Meccanismo di fissaggio

Quando il tubo è intercambiabile, controllare che il suo meccanismo di fissaggio sia pratico, rigido e repetibile. La repetibilità si verifica portando al centro del campo visivo un punto ben riconoscibile di un vetrino; si smonti e si rimonti il tubo più volte e si verifichi che il punto prescelto ritorni dov'era prima. Il controllo è più facile con un oculare micrometrico, portando il punto prescelto a coincidere con qualche tratto della graduazione.

32.1.3 - Gioco

Parliamo del gioco fra l'oculare e la sua sede, dovuto a differenza di diametro Tale differenza non dovrebbe superare 0,1 mm e comunque va annotata. Per la misura, può bastare un normale calibro a cursore.

È da considerare un pregio particolare (poco diffuso, purtroppo) la presenza di tagli o di altri accorgimenti che permettono all'oculare di entrare nel tubo "a sfregamento dolce", cioè con una frizione sufficiente a non farlo uscire per gravità. Ciò evita una caduta quando il tubo viene smontato e rovesciato.

32.1.4 - Sede

Controllare che tutti gli oculari del corredo penetrino a fondo nella porzione superiore del tubo, specialmente certi oculari speciali (da disegno, spettroscopici, ecc.).

32.1.5 - Centratura

Parliamo della centratura delle sedi degli oculari rispetto all'obbiettivo. Si monti in una o in entrambe le sedi degli oculari un cannocchiale di centramento: può bastare un "microscopio ausiliario", di quelli usati per la centratura dei diaframmi anulari del contrasto di fase, purché munito di un reticolo a crocefilo centrato, e purché si tenga conto degli eventuali giochi fra esso ed il tubo, come si rivelano muovendo a mano il microscopio ausiliario stesso in varie direzioni perpendicolari all'asse ottico.

Ci si assicuri che la pupilla dell'obbiettivo, interamente illuminata da un vetro smerigliato o da un pezzo di carta sottile sistemato in luogo del vetrino, sia centrata rispetto al crocefilo. Gli scarti da questa centratura siano misurati ed annotati. Occorre ripetere a questo punto la misura almeno quattro volte, ruotando di 45 o di 90° il tubo nella sua sede, ogni volta

allentando e stringendo la vite che lo blocca. Si ripeta il controllo per tutti gli obbiettivi montati sul revolver, e si annotino le differenze riscontrate fra i vari obbiettivi.

La tolleranza ammessa in questa centratura è di 0,1 mm Occorrerà calibrare il cannocchiale usato per il controllo: se esso contiene un reticolo graduato, si osservi con esso una graduazione fine (per es. un micrometro oculare) posta ad una distanza pari alla lunghezza meccanica del tubo e si faccia il solito rapporto fra le due graduazioni, al fine di calcolare l' "equivalente micrometrico" del microscopio ausiliario o del cannocchiale.

32.1.6 - Parallelismo

Occorre controllare se la superficie di appoggio del tubo (per es. l'orlo della coda di rondine), ricavata sul braccio, è parallela al tavolino.

Si può usare un buon calibro o, meglio ancora, un auto-collimatore poggiato sulla superficie di appoggio stessa. Lo specchio del collimatore andrà poggiato sul tavolino. Se lo specchio è "di superficie", si suppone che la superficie speculare sia parallela a quella posteriore (verificare con un micrometro). Un eventuale errore in questo parallelismo si neutralizza eseguendo quattro misure con quattro posizioni diverse dello specchio ottenute ruotandolo nel suo piano (perpendicolare all'asse) di 90° gradi ogni volta. Attenzione all'aderenza dello specchio al tavolino: basta un granello di polvere per simulare errori di costruzione inaccettabili.

La tolleranza ammessa in questo controllo è di 5' ; questa è superata con un granello di 0,03 mm sotto l'orlo di uno specchio di 2 cm di diametro (errore doppio se il granello è al centro).

Un metodo alternativo, che non richiede l'auto-collimatore, è descritto in questo sito, nell'art. n° 27.

32.1.7 - Rigidità

Il tubo, o il braccio che lo porta, possono risultare troppo flessibili (e quindi portare ad una apprezzabile perdita di fuoco o ad uno spostamento dell'immagine) in seguito all'applicazione di una forza parallela o perpendicolare al tubo stesso. Si misuri il valore di questa forza capace di produrre effetti sensibili se applicata in vari punti; sarà di solito più sensibile l'estremità superiore del tubo.

Tale forza non deve essere inferiore a 100 g .

COLLAUDI OTTICI

32.1.8 - Parcentratura e parfocalità

Se lo strumento è corredato di due o più tubi intercambiabili, occorre controllare che la centratura (32.1.5) sia la stessa per tutti. Si osservi a tal fine un punto ben definito di un oggetto a forte contrasto, come un micrometro oggetto; il punto osservato sia al centro del campo e lo si osservi con un oculare micrometrico. Annotare le eventuali differenze che si riscontrano fra un tubo e l'altro. La tolleranza è ancora di 0,1 mm nel piano dell'immagine intermedia, cioè del micrometro oculare (di solito una tacca).

Cambiando tubo, supponendo di fare la prova con tutti gli oculari di corredo[256], non deve

[256] La lunghezza ottica del tubo dipende anche dalla posizione dell'immagine intermedia, che è legata alla struttura dell'oculare. Oculari non previsti dal costruttore daranno facilmente una perdita di fuoco e di parfocalità.

variare il fuoco dall'uno all'altro. Misurare le eventuali differenze leggendo la posizione della manopola micrometrica nelle posizioni di miglior fuoco corrispondenti ai vari tubi. Usare un obbiettivo di ingrandimento medio (da annotare). Come per gli obbiettivi, si considera accettabile la parfocalità che consente di identificare l'immagine dopo il cambio del solo tubo.

È bene ripetere il controllo della parfocalità fra i tubi con ognuno degli obbiettivi di corredo, senza però fare un confronto fra i vari obbiettivi, poiché ciò ricade nel caso del § 32.3.4, sotto descritto. C'è da dire però che il miglior modo di giudicare se un errore di parfocalità fra i tubi è accettabile, è proprio di verificare se qualcuno dei tubi fa perdere la parfocalità fra gli obbiettivi.

32.1.9 - Aberrazioni

Si osservi un reticolo[257] con un obbiettivo debole ed un oculare col massimo indice di campo possibile. Da un tubo all'altro si possono osservare piccole differenze nelle aberrazioni extra-assiali, soprattutto cromatica laterale. Prendere nota (vedi il § 31.2.9).

32.1.10 - Trattamenti (vedi anche i §§ 17.1.2 e 19.5.1)

Anche senza un fotometro, è possibile apprezzare la qualità degli eventuali trattamenti anti-riflettenti presenti sulle superfici di lenti e prismi tramite un confronto con elementi di caratteristiche note e con elementi privi di trattamento (per es. un porta-oggetto). Si ricordi che l'intensità dei riflessi è tanto maggiore quanto più forte è l'angolo d'incidenza[258] e quanto maggiore è l'indice del vetro. Inoltre, un buon trattamento deve avere un colore tendenziale viola-porpora, cioè il minimo di riflessione nella regione "verde" dello spettro ottico (vedi anche il § 32.6.3). Trattamenti di altro colore, frequenti in prodotti orientali, sono da contestare.

32.1.11 - Riflessi interni

Anche la luce riflessa dalle superfici interne del tubo o delle montature delle lenti o prismi, o dalle superfici laterali degli stessi componenti ottici, può contribuire alla perdita di contrasto.

Si disponga il sistema illuminante come per una normale osservazione, ma con la massima luminosità possibile (eliminare tutti i filtri, aprire tutti i diaframmi, tensione di lampada al massimo, ecc.). Si guardi nel tubo (dopo tolto l'oculare), osservando soprattutto le superfici laterali. Si noterà come anche una superficie nera "opaca" o "satinata" può dare riflessi apprezzabili quando la luce è radente, come avviene spesso all'interno di un tubo. Si noterà anche come molti riflessi scompaiono chiudendo i diaframmi, ma questo è appunto indice di poca cura da parte del costruttore: i "riflessi" vanno previsti in tutte le possibili condizioni d'uso.

32.1.12 - Congruenza

Nei tubi bi- o tri-oculari si controlli la congruenza, cioè la centratura reciproca delle due o tre immagini: un punto al centro del campo visuale di un oculare deve rimanere centrato negli altri. Si effettua meglio questo controllo con un oculare micrometrico.

Si tollera in genere un errore massimo pari ad 1 / 50 del diametro del campo visivo. Si

---

[257] formato da righe opache e trasparenti alternate, con passo da 20 a 100 μ (vedi il § 19.5.4).

[258] quindi alla periferia delle lenti più ricurve, di maggior potenza.

controlli la costanza della congruenza mentre si regola la distanza pupillare. Inoltre, occorre ruotare ogni oculare nella sua sede, attorno al suo asse, per rivelare eventuali errori di centratura intrinseci negli oculari. Con questo test si controllano anche gli effetti dei giochi fra oculari e loro sedi (spingere lateralmente in due direzioni ortogonali fra loro).

Ripetere il controllo durante la rotazione delle eventuali ghiere che muovono assialmente gli oculari (per la compensazione delle anisometropie, ecc.).

La tolleranza ammessa in ogni caso dovrebbe essere quella appena citata.

32.1.13 - Stato delle superfici ottiche

Si osservino, puntando il tubo privo di oculari verso una lampada, eventuali tracce di polvere, sudiciume, distacchi di superfici incollate, incrinature, corpi estranei, patine da deposito di aerosol, ecc. Questi difetti possono presentarsi a carico di tutte le superfici di lenti e prismi contenuti nel tubo, ma è bene osservare anche le superfici meccaniche (eccessi di grasso, detriti, ecc.)(§§ 17.1.4, 19.5.1 e 27.6). Entro certi limiti, si può eseguire questo esame col tubo montato sul microscopio: obbiettivo debole, diaframma d'apertura piuttosto chiuso e ben illuminato, un microscopio ausiliario in luogo dell'oculare oppure osservazione diretta, senza oculare.

32.1.14 - Vignettature

Si deve controllare, con tutte le previste combinazioni obbiettivo - tubo - oculare , che non vi siano ombreggiature da qualche parte dell'orlo del campo visuale. Tale fenomeno dipende da un cattivo dimensionamento dei prismi, lenti o diaframmi, o da gravi errori di allineamento. Esso risulta più avvertibile con gli obbiettivi forti.

Questo difetto va sempre contestato.

32.2 - MOVIMENTI MACRO - e MICROMETRICI (§ 27.2.2)

La maggioranza dei controlli seguenti si applica sia al movimento macrometrico che al micrometrico, sia nel caso che la parte mobile sia rappresentata dal tubo o dal braccio (strumenti di meno recente costruzione) o, più spesso, dal tavolino o da entrambe.

Inoltre, gli stessi controlli si applicano anche ad altri movimenti: traslazioni o rotazioni del tavolino, messa a fuoco del condensatore, regolazione della distanza inter-pupillare, regolazioni nella micro-lampada, ecc.

32.2.1 - Risoluzione o velocità (vedi il § 26.5.6)

Si indica con uno di quei termini l'ampiezza di spostamento (espresso in μ , mm, gradi, ecc.) causata da una rotazione della manopola di comando pari ad un giro completo..

Per la micrometrica si richiede un valore non superiore a 200 μ / giro. Per la macrometrica, non vi sono regole, ma spesso questo movimento è troppo veloce: una demoltiplica è augurabile.

32.2.2 - Fine corsa (vedi il § 26.5.5)

La maggioranza dei movimenti, specie di quelli lineari, ha una ampiezza limitata e qualcosa deve impedire che questi limiti vengano superati. Verificare che questi dispositivi di fine corsa siano:

— positivi (che non si deformino col normale azionamento della manopola);

— regolabili, almeno in certi casi, in modo da evitare urti fra parti che non debbono toccarsi (obbiettivo-vetrino / condensatore-vetrino / guidaoggetti-obbiettivo, ecc.). Se non sono regolabili, controllare quali sono gli urti possibili, e quindi se la posizione dei fine corsa è tale da evitare questi urti (annotare); spesso, è regolabile il fine-corsa inferiore della macrometrica (distanza minima vetrino-obbiettivo); la mancanza di questa regolazione va considerata un difetto;

— sensibili, e cioè se l'utilizzatore viene immediatamente avvertito circa il raggiungimento del fine corsa da un brusco aumento della resistenza;

— sicuri, e cioè se, una volta raggiunti, una normale azione della manopola non è in grado di provocare danni; eventualmente, verificare la presenza di frizioni capaci di assorbire il movimento della manopola al di là dei limiti utili: il movimento allora "slitta" senza scaricare lo sforzo sul fine corsa (§ 26.5.4).

32.2.3 - Isteresi (vedi il § 26.5.3)

Consiste in un ritardo nell'attuazione di un movimento rispetto all'applicazione del comando (rotazione della manopola, leva, ecc.), che si presenta specialmente al momento dell'inversione del comando. Si distingue l'isteresi dal semplice ritardo (vedi il § 32.2.6) per la diversa causa, che risiede nei giochi (§ 26.5.2) nel caso dell'isteresi e nella flessibilità, nel caso del ritardo. Inoltre, un movimento con isteresi inizia in ritardo ma cessa al cessare dell'azionamento; un movimento con "ritardo" inizia E CESSA con un certo ritardo rispetto all'azionamento.

Si constata l'isteresi invertendo ripetutamente il movimento della manopola ed osservando se si inverte simultaneamente la messa a fuoco, il movimento dell'oggetto (in un tavolino traslatore), la focalizzazione del diaframma di campo (in un condensatore), ecc. L'isteresi si esprime come movimento di rotazione massimo che occorre imprimere ad una manopola al seguito di un'inversione del senso di rotazione, prima di ottenere l'inversione del movimento relativo.

Si deve pretendere che l'isteresi non sia percettibile. Verificare anche che il costruttore non abbia previsto un qualche meccanismo di ripresa dei giochi a disposizione dell'utente non esperto; spesso tali meccanismi sono accessibili solo smontando lo strumento.

32.2.4 - Durezza (vedi il § 26.5.4)

Questo termine indica lo sforzo richiesto per attuare un movimento. Deve essere assai piccolo, specie per i movimenti più fini (micrometrica, tavolino), ma non si creda che debba essere più piccolo possibile. Infatti, un movimento troppo scorrevole ("allentato") si sposta al minimo urto involontario o per opera di normali vibrazioni o della semplice gravità: ciò è importante nel caso della messa a fuoco (tubo, tavolino, condensatore, ecc.) poiché questi movimenti sono in genere verticali e sono stabilmente sollecitati dalla gravità. È bene, una volta messo a fuoco un oggetto, abbandonare lo strumento per un'ora, senza toccarlo, e poi verificare che nulla si sia mosso.

D'altra parte, un movimento troppo duro, oltre ad essere scomodo, sollecita

maggiormente alcune parti meccaniche ed accelera l'usura.

Con un poco d'esperienza, si impara a valutare il miglior compromesso; dopo aver messo a fuoco un preparato con un obbiettivo medio, si picchietti con le dita su varie parti dello stativo (tubo, revolver, tavolino, condensatore, ecc.) e si controlli che nulla si sposta.

Spesso la durezza è regolabile a mezzo di frizioni variabili ("freno progressivo")(§ 26.5.4), a volte accessibili facilmente da parte dell'utilizzatore inesperto, a volte accessibili solo dopo smontaggio. Si controlli la loro funzionalità, anche in base alle indicazioni del costruttore.

32.2.5 - Rigidità (vedi anche il § 26.5.1 e 32.1.7)

Quando un pezzo mobile dello stativo si sposta permanentemente sotto l'influenza di normali fattori esterni (la pressione di un dito ecc.), può trattarsi di insufficiente "durezza" di un movimento (vedi sopra), di giochi nelle guide, ecc.

Se invece lo spostamento è elastico, cioè reversibile al cessare della pressione esercitata, può trattarsi di eccessiva flessibilità, o insufficiente rigidità, di certe parti dello stativo.

Le deviazioni elastiche debbono essere sempre modeste, ma sono inevitabili; quelle permanenti, supposto che non siano eliminabili con una regolazione delle eventuali frizioni, vanno invece considerate come difetto inaccettabile.

Si possono valutare quantitativamente le deviazioni elastiche applicando alla parte in esame (tubo, tavolino, condensatore, ecc.) una forza crescente finché si percepisce (con un obbiettivo medio) una variazione del fuoco, o della posizione dell'immagine, o del condensatore, ecc. Tale forza non dovrebbe essere inferiore a 50 g.

Lo stesso limite si può accettare per le deformazioni permanenti.

Si può anche applicare (in vari punti ed in varie direzioni) una forza di 100 g all'organo in esame e misurare di quanti gradi occorre ruotare la manopola corrispondente per annullare l'effetto della deformazione.

32.2.6 - Incoerenza o ritardo (§§ 26.5.3 e 32.2.3)

Si tratta di un prolungamento o ritardo del movimento al cessare dell'azionamento della manopola, ed eventualmente anche di un ritardo all'inizio del movimento.

Si tratta di un fenomeno raro dovuto ad elasticità di qualche parte meccanica che risulta magari frenata dalla vischiosità dei lubrificanti.

Se è facilmente percepibile, questo difetto va considerato comunque inaccettabile. Si verifichi come al solito con un obbiettivo medio (40:1, ad es.) e per tutti i movimenti esistenti.

32.2.7 - Repetibilità (§ 26.5.3)

Il movimento deve ricalcare senza ritardi e senza deviazioni il comando: se si aziona una certa manopola avanti ed indietro della stessa ampiezza, tutto deve tornare come prima. Le deviazioni facilmente percettibili sono inaccettabili.

Si può quantizzare il difetto misurando l'angolo di cui occorre ruotare una manopola per ritornare nelle condizioni iniziali dopo aver eseguito due azionamenti identici ma di segno opposto.

Da notare che il difetto di repetibilità può "propagarsi", cioè accrescersi ogni volta che la manopola è ruotata avanti ed indietro dello stesso angolo: ciò avviene spesso nei movimenti a frizione (rotolamento di sfere, ecc.), senza ingranaggi.

Solo l'esperienza può dire fin quando questa propagazione è accettabile.

32.2.8 - Deviazioni laterali

Si chiamano così i movimenti indesiderati in direzione diversa (in genere perpendicolare) rispetto a quello desiderato. Si osservano spesso quando si inverte il senso di rotazione di una manopola.

Per es., mentre si focalizza, l'immagine si può spostare lateralmente oppure, mentre si aziona un tavolino traslatore, si può perdere il fuoco.

Questi difetti sono dovuti a gravi difetti di lavorazione meccanica, ma si possono tollerare finché non diventano fastidiosi. Si controlli soprattutto la perdita di messa a fuoco durante i movimenti del tavolino: se per un movimento in direzione X (trasversale) o Y (sagittale) di circa 20 mm, che è la larghezza utile di un porta-oggetti, si richiede un sensibile ritocco di messa a fuoco, si deve considerare un difetto inaccettabile. Si ripeta più volte il movimento in un senso o nell'altro, curando però che il vetrino aderisca bene al tavolino (basta un granello di polvere).

Può essere poi che il vetrino non abbia facce parallele. Ciò si rivela invertendo l'orientamento del vetrino e verificando se anche il difetto si inverte.

32.2.9 - Attriti di distacco (§ 26.5.4)

Si tratta di una durezza di un movimento che si abbassa bruscamente dopo l'inizio del movimento stesso. La causa è un attrito radente di distacco, che si presenta generalmente solo in movimenti a slitta. Può presentarsi a causa di un lubrificante troppo fluido (evitare gli olii !).

Tale difetto deve sempre essere denunciato, appena risulta percettibile.

32.2.10 - Ampiezza

L'ampiezza di ogni movimento deve essere sempre adeguata al bisogno. Per la micrometrica: almeno 2 mm; per la macrometrica, almeno 20 mm. Per il tavolino, almeno 20 × 40 mm; per il condensatore almeno 10 mm (deve sempre essere focalizzabile il diaframma di campo dell'illuminatore di corredo, con porta-oggetti di spessore fino a 1,5 mm).

32.3 - REVOLVER

Per il revolver si possono richiamare i concetti di gioco, repetibilità, durezza, ecc. discussi sopra (§ 32.2). Altri problemi sono invece specifici del revolver.

32.3.1 - Orientamento (§ 27.2.3)

Il revolver può essere rivolto dalla parte della colonna o dalla parte opposta. La prima disposizione è assai preferibile poiché rende più accessibile il preparato.

Può essere preferibile anche un revolver intercambiabile, purché ciò non crei problemi di ulteriori giochi, parcentrature insufficienti (vedi sotto), ecc.

32.3.2 - Allineamento

Gli obbiettivi debbono essere orientati in modo che il loro asse ottico coincida con l'asse del tubo e dell'oculare.

Un errore in questo senso si rivela con la presenza, al centro del campo visuale, di aberrazioni extra-assiali (§ 13.2) ed inoltre con un difetto di parcentratura (§ 19.1.4): se, passando dall'obbiettivo più debole al più forte, il punto centrale del campo si sposta gradualmente, sempre più dalla stessa parte, è probabile che ciò dipenda da un errato orientamento del revolver.

Nei casi più gravi, si vedrà anche che, fra due punti diametralmente opposti sull'orlo del campo, il fuoco è diverso.

Un tale difetto va sempre contestato.

Con il metodo indicato nel § 32.1.6, si può avere una misura dell'orientamento del revolver rispetto alla superficie di appoggio del tubo: il collimatore va poggiato su quest'ultima superficie, lo specchio (del tipo "di superficie") va poggiato sull'orlo dei fori di fissaggio degli obbiettivi. La tolleranza è la stessa del caso di cui al § 32.1.6. Un giudizio approssimato si può dare anche col semplice metodo descritto nell'art. n° 27.

32.3.3 - Parcentratura (§ 19.1.4)

Si deve pretendere che, passando, da un qualunque obbiettivo a qualunque altro, il centro del campo non esca dal campo stesso del nuovo obbiettivo. In pratica, è bene essere anche più esigenti.

Questo può dipendere anche dagli obbiettivi: se un obbiettivo particolarmente carente mostra la stessa mancanza di parcentratura rispetto agli altri spostandolo da un foro all'altro del revolver, la colpa è sua; se il difetto cambia sostanzialmente di entità, e risulta legato ad un dato foro del revolver, la colpa è di quest'ultimo.

32.3.4 - Parfocalità (§ 19.1.2)

Si deve pretendere che, dopo qualunque cambio di obbiettivo, si riconosca la struttura dell'oggetto e sia sufficiente un ritocco della micrometrica. Va scartato quello strumento che, dopo il cambio dell'obbiettivo, mostra un'immagine senza struttura ed impone una nuova messa a fuoco a casaccio.

Anche questo difetto può dipendere dall'obbiettivo e, con lo stesso metodo indicato per la parcentratura, si può distinguere se la causa risiede nell'obbiettivo o nel revolver.

32.4 - TAVOLINO (§ 26)

Anche per i tavolini, si ripresentano i problemi generali di tutti i movimenti (§ 32.3). Altri aspetti specifici sono i seguenti.

32.4.1 - Pinza ferma-vetrino

È un organo delicato, sorgente di molte difficoltà. Ecco le principali.

— Non dovrebbe mai urtare coll'obbiettivo[259] per tutta l'ampiezza della sua corsa e per qualunque rotazione del revolver. Questa condizione è raramente soddisfatta.

— Deve far aderire il vetrino al piano del tavolino; un errore in questo senso si rivela con una perdita di fuoco durante i movimenti del tavolino, ma tale difetto può dipendere anche dal tavolino, cioè dall'orientamento delle sue guide rispetto al piano d'appoggio del vetrino. Si controlli che fa vetrino e tavolino non si trovi qualche granello di polvere. Se la perdita di fuoco non risulta eliminabile ed è apprezzabile, il difetto va segnalato.

— Deve essere esplorabile almeno una zona di 20×40 mm all'interno di un vetrino normale, senza urti con l'obbiettivo.

— Il braccio mobile ricurvo del ferma-vetrino ("zampa di ragno") è spesso sottile (meno di un millimetro) in modo da evitare che gli obbiettivi lo urtino durante la rotazione del revolver; esso però è anche flessibile e si possono presentare due casi: 1) il braccio scavalca l'orlo del vetrino e scorre sopra di esso, sollevandosi: il vetrino non è ben serrato ed il braccio può toccare gli obbiettivi; 2) il braccio si incunea fra vetrino e tavolino e solleva il vetrino contro l'obbiettivo. Simili evenienze sono da contestare.

— I due bracci della pinza non tengono il vetrino aderente al tavolino. Ciò si rivela con una perdita di fuoco durante i movimenti del tavolino. Eseguire ripetute prove, ogni volta aprendo e richiudendo la pinza. Descrivere i risultati.

32.4.2 - La superficie

Il piano di appoggio è tanto più pregevole quanto più è duro. In ordine crescente di durezza si possono elencare: materie plastiche, vernici, superfici metalliche nude (caso raro), superfici anodizzate (le più diffuse), i materiali ceramici. Prendere nota dello stato esistente.

32.4.3 - Le dimensioni

Un tavolino è tanto più comodo quanto più è grande, ma si controlli che questo non vada a scapito dell'accessibilità al condensatore od ai relativi accessori. Inoltre, maggiori le dimensioni, maggiore il peso, maggiori le sollecitazioni agli organi di movimento, maggiore l'usura.

32.4.4 - Posizione delle manopole

Si dia un maggior punteggio ai comandi ribassati, che non richiedono un sollevamento del braccio, ed a quelli coassiali, che richiedono i minimi spostamenti della mano per passare dall'uno all'altro.

[259] si faccia la prova con un obbiettivo forte.

32.5 - CONDENSATORE
(§ 21)

I criteri già descritti a proposito della focalizzazione dell'oggetto (§ 32.3) si applicano alla focalizzazione del condensatore, al movimento della lente frontale eventualmente estraibile, alle viti di centratura, ai movimenti del diaframma, ecc.

32.5.1 - Focalizzazione

Prima di tutto si abbassi il condensatore; si monti un normale preparato ben poggiato sul tavolino e lo si focalizzi con un obbiettivo medio; poi si muova il condensatore per tutta la sua corsa e si controlli che, presso il limite superiore, non avvenga una perdita di fuoco: ciò significa che il vetrino è stato sollevato dalla lente frontale del condensatore (supposto che sia stata inserita, nel caso che essa sia estraibile).

Se ciò avviene, azionare la eventuale vite che regola il fine corsa superiore del condensatore ed accertarsi che il contatto col vetrino sia stato eliminato (prima, abbassare il condensatore, spingere il vetrino contro il tavolino, rifocalizzare, risollevare il condensatore).

Se il contatto col vetrino non può essere eliminato, o se manca la vite di regolazione, si verifichi ancora che la lente frontale sia correttamente inserita o avvitata a fondo. Se neppure qui si trova un rimedio, lo strumento va respinto. Se invece il difetto è stato eliminato, si passi al controllo seguente.

Con un porta-oggetti di spessore fra 1 ed 1,5 mm deve essere possibile focalizzare il diaframma di campo dell'eventuale illuminatore previsto dal costruttore o di una micro-lampada esterna alla distanza di 10 - 20 cm. Una carenza in questo senso è ancora una volta motivo per scartare lo strumento.

Quando si estrae o si svita la lente frontale è molto probabile che non sia più possibile focalizzare il diaframma di campo. Questo invece va accettato.

Per quanto riguarda il fine corsa inferiore del condensatore, generalmente non regolabile, si verifichi che esso non interferisca con lo specchio, con la base del microscopio o con eventuali accessori ivi fissati (porta-filtri, ecc.).

Ulteriore controllo: si metta a fuoco un preparato sottile (striscio, reticolo) con un obbiettivo forte; si focalizzi su e giù il condensatore, invertendo più volte il senso del movimento; si verifichi che il fuoco dell'oggetto non vada perduto. Nello stesso momento, sarà possibile verificare i difetti meccanici sopra citati (durezza, isteresi, giochi, ecc).

32.5.2 - Diaframma d'apertura (§ 21.1)

Si verifichi: che le lamelle siano prive di segni di deformazioni e di ossidazione;
che il movimento sia scorrevole;
che eventuali resistenze non siano dovute a tracce di lubrificante sulle lamelle le quali tenderanno ad incollarsi fra loro ed incurvarsi, formando una cupola;
che in posizione "tutto chiuso" le lamelle non si incurvino in prossimità del foro (il movimento si indurisce improvvisamente poco prima del fine corsa).

32.5.3 - Aberrazioni (§ 21.7)

In un condensatore "acromatico-aplanatico" le aberrazioni, almeno quelle assiali, dovrebbero essere abbastanza corrette perché l'alone che circonda l'immagine del diaframma di campo abbia una larghezza assai minore del diametro dell'immagine stessa. Il controllo va fatto con un obbiettivo medio-forte, col condensatore focalizzato e col diaframma di campo tutto chiuso. Se ciò non avviene, le correzioni di quel condensatore sono da giudicare insufficienti.

Se il condensatore è dato per "normale" o "di Abbe" bisognerebbe almeno pretendere che, focalizzando il condensatore, il campo illuminato non cambi apprezzabilmente di colore (variazione di temperatura di colore!).

È bene comunque verificare l'aberrazione sferica di un condensatore, anche se non aplanatico: si tenga il diaframma di campo chiuso, il diaframma d'apertura aperto, la frontale del condensatore inserita, ed il condensatore focalizzato come richiesto dai principi di Köhler (immagine nitida del diaframma di campo); obbiettivo con NA maggiore di 0,8 , focalizzato su un vetrino piuttosto trasparente; microscopio ausiliario in luogo dell'oculare. La pupilla dell'obbiettivo deve risultare uniformemente illuminata, soprattutto se il condensatore è dato per aplanatico. È bene inserire l'immersione semplice o doppia, a seconda di quanto previsto dall'obbiettivo e dal condensatore.

Se, in queste condizioni, la pupilla d'obbiettivo mostra una o due zone scure e/o fortemente colorate, va denunciato un residuo di sferica e/o cromatica, accettabile solo in un condensatore di Abbe di modesta qualità (fig. 89, § 21.7).

32.5.4 - Sostituzione

Quando il condensatore è sostituibile con altri, si curi la repetibilità della posizione[260], la sicurezza degli incastri, ecc.

32.5.5 - Porta-filtri

Si controlli che l'inserzione dei filtri sia facile ma stabile, in modo che essi non possano mai venir espulsi da movimenti normali delle mani sotto al tavolino; si verifichi che i porta-filtri estratti non interferiscano con altri organi, che quelli inseriti non urtino al fine corsa inferiore con gli organi sottostanti, che la loro posizione sia ben definita da qualche meccanismo di "fermo".

Se esiste un porta-polarizzatore girevole, controllare i soliti parametri: isteresi, durezza, fine-corsa, giochi, ecc. È importante che, una volta raggiunta l'estinzione a Nicol incrociati, tale condizione non venga perduta in seguito a qualunque manovra che non interessi direttamente il polarizzatore stesso.

32.5.6 - Centratura

Si chiuda il diaframma di campo e se ne osservi l'immagine con un obbiettivo debole, senza vetrino. Gli aloni dovuti alle aberrazioni debbono possedere simmetria circolare attorno al centro del campo. Se ciò non avviene, può trattarsi di:

— errore intrinseco del condensatore; se è così, ruotando il condensatore sul proprio asse, deve ruotare l'asimmetria degli aloni; particolarmente sensibile è l'asimmetria di colore:

[260] rivelabile dalla centratura e dalla focalizzazione dell'immagine del diaframma di campo.

focheggiando il condensatore, gli aloni possono assumere colore diverso in due punti diametralmente opposti; tali colori mutano variando l'altezza del condensatore;

— errore di allineamento: se la microlampada (o qualcuno degli specchi intermedi) è fuori dell'asse del condensatore, l'immagine del diaframma di campo apparirà spostata in senso opposto e, per riportarla in centro al campo, l'osservatore sarà portato a decentrare il condensatore; questo errore assai frequente può essere corretto a volte spostando la microlampada o qualcuno degli specchi associati;

— errore di centratura dell'ampolla: l'immagine del filamento sarà decentrata rispetto al diaframma d'apertura; verificare visivamente (primo capoverso del § 32.8.2). Ciò può accadere anche con ampolle "precentrate"; provare a sostituire l'ampolla; annotare i risultati.

Questi errori di allineamento dovrebbero essere inammissibili ma, purtroppo, si verificano anche in strumenti di alto pregio.

Può anche essere che il condensatore non sia centrabile; a questo punto diviene più critica la centratura del sistema illuminante ed i controlli relativi (vedi sotto) dovranno essere più stringenti.

Altro utile controllo si può eseguire sulla centratura del diaframma d'apertura: si osservi la pupilla dell'obbiettivo con un microscopio ausiliario; si inserisca un obbiettivo forte e la lente frontale del condensatore; manovrando il diaframma d'apertura, si controlli la centratura della sua immagine rispetto alla pupilla stessa; focheggiando il condensatore, questo test può divenire assai sensibile. Potrà accadere che, anche in seguito ad una buona centratura del diaframma di campo (cioè della sua immagine), risulti decentrato il diaframma d'apertura; non è quindi possibile centrare quest'ultimo muovendo il condensatore poiché questo significherebbe decentrare l'immagine del diaframma di campo. Contestare questa situazione che l'utente non può in genere rimediare.

32.6 - OBBIETTIVO (§§ 3, 13, 16, 18.4 e 19)

Per prima cosa occorre verificare il passo della vite, che è bene sia quello standard detto "inglese" o RMS (§§ 19.1.1, 31.1.4 e 31.2.12), le eventuali durezze o i giochi che si riscontrano mentre l'obbiettivo si avvita nel revolver, i segni di urti e cadute, ecc.

Poi si verifichi la lunghezza meccanica dell'obbiettivo (§§ 19.1.2 e 31.2.3) che è bene sia quella a norme DIN (45 mm).

È bene anche verificare (osservazione con microscopio stereoscopico) che la superficie esterna della lente frontale sia sempre leggermente rientrante rispetto all'orlo della montatura metallica, che sia esente da graffi, sporcizia, ecc. Controllare l'assenza di graffi anche sulla punta della montatura metallica, il che denuncerebbe un uso improrio dell'obbiettivo nel passato.

32.6.1 - Riflessi interni (§ 17.1.2, 17.1.3, 19.5.5 e 32.1.10)

Si osservi l'interno dell'obbiettivo a mezzo di un microscopio ausiliario; si suppone il microscopio correttamente messo a punto su un preparato piuttosto trasparente. Con il diaframma d'apertura tutto aperto (pupilla tutta illuminata) è possibile rivelare i riflessi sulle superfici interne e sulle montature delle lenti. Una valutazione quantitativa di tali riflessi non è facile poiché presuppone una misura fotometrica sulle varie zone del campo visibile nel microscopio ausiliario. Globalmente, i riflessi al di fuori della pupilla dell'obbiettivo

dovrebbero contenere un flusso totale non superiore a 1 % del flusso che attraversa la pupilla.

Un poco di esperienza ed un confronto con analoghi obbiettivi di altri costruttori possono consentire una valutazione utile.

Con lo stesso mezzo si possono eseguire altri controlli. Si chiuda il diaframma d'apertura e/o il diaframma di campo in modo da illuminare solo una piccola parte della pupilla; se è possibile, spostando qualche specchio nel sistema illuminante o la microlampada, si porti la regione illuminata sui bordi della pupilla.

Si possono così rivelare alcuni difetti costruttivi (bolle d'aria nel vetro, scollature, incrinature, corpi estranei, cattiva pulizia delle lenti, ecc.). Si veda anche l'art. n° 18 e 41.

32.6.2 - Tensioni interne (§ 19.5.5 ed articoli n° 7 e "Microscopia polarizzante")

Si ripeta l'osservazione descritta nel punto precedente con la pupilla tutta illuminata (con un condensatore di apertura non inferiore a quella dell'obb. in esame), ma in radiazione polarizzata. Per questo, si monti un filtro polarizzatore sotto il condensatore o nell'illuminatore, ed un altro sopra l'obbiettivo (possibilmente subito sopra di esso, evitando altre parti interposte). Ruotando uno dei filtri attorno all'asse ottico, si cerchi la migliore estinzione (minima luminosità del campo).

Le tensioni interne si rivelano come chiazze sfumate irregolari più chiare all'interno delle lenti; se esse sono colorate, l'obbiettivo va scartato. Se le chiazze sono grigie, si possono tollerare, specie negli obbiettivi apocromatici e planari; esse invece non possono essere tollerate negli obbiettivi destinati all'uso in radiazione polarizzata, in contrasto interferenziale differenziale (DIC) o altre tecniche di contrasto che fanno uso di filtri polarizzanti.

Naturalmente, si tenga conto che la classica "croce di Malta" (una croce scura centrata con bracci che si allargano verso la periferia della pupilla) è normale e quasi ineliminabile; i migliori costruttori la rendono più pallida possibile curando i trattamenti anti-riflettenti.

32.6.3 - Trattamenti anti-riflettenti (§§ 17.1.2, 19.5.1 e 32.1.9)

Con un po' d'esperienza, o confrontando lenti di varia provenienza, è possibile valutare l'efficacia dei trattamenti di un obbiettivo. Si osservi l'obbiettivo, in genere dal lato della lente emergente, attraverso un microscopio stereoscopico con illuminazione coassiale.

La lente frontale non viene in genere trattata essendo soggetta a frequenti pulizie.

Il colore dei trattamenti deve essere blu-viola. Altri colori sono da denunciare, tranne in casi speciali (obbiettivi per UV, per fluorescenza, ecc.).

Una lente non trattata si rivela con un riflesso vivo e del tutto acromatico.

32.6.4 - Controlli meccanici (§ 19.5.1)

È facile verificare la regolarità e la scorrevolezza di certi movimenti interni all'obbiettivo, che possono essere alterati da urti, grassi induriti, ecc.:

— movimento molleggiato ("a pompa" o "telescopico") degli obbiettivi medio-forti (§ 19.1)

— viti o anelli di centratura negli obbiettivi per radiazione polarizzata (§ 19.1.4.1)

— anelli di correzione della sferica negli obbiettivi a secco forti "a correzione" (§ 13.2.3.2)

— diaframma ad iride negli obbiettivi ad immersione per campo scuro (§ 19.2.6).

32.6.5 - Controlli ottici (§§ 19 e 31.2 ed art. n° 11 e 18)

Per dare una valutazione di un obbiettivo da microscopio dal punto di vista ottico, occorre conoscere bene tutta la teoria sull'ottica geometrica (§ 13 e 19) e sull'ottica ondulatoria (§ 18). Occorre anche, in certi casi, molta esperienza e la possibilità di fare confronti con sistemi noti di caratteristiche conosciute.

Inoltre, l'obbiettivo va giudicato come parte di un sistema integrato: illuminatore, condensatore, obbiettivo, tubo, oculare; ed ogni controllo va eseguito in tutte le combinazioni possibili fra le parti elencate, almeno in quelle previste dal costruttore. Alcuni caratteri dell'immagine finale sono legati in prevalenza alle prestazioni dell'obbiettivo, ma in genere i controlli debbono essere globali.

32.6.5.1 - Contrasto (§ 17 e 18.10)

Una valutazione obbiettiva va eseguita con un reticolo (§ 19.5.4) ed un micro-fotometro. In assenza di quest'ultimo, si può fare un confronto con sistemi noti.

Si ricordi che il miglior contrasto si ha con i sistemi più semplici (acromatici) e che su esso, almeno sul microcontrasto (§ 17.2), influiscono i residui di aberrazioni del punto (§ 13.2). L'esame col microscopio ausiliario (§§ 19.5.5 e 32.6.1) può spiegare un cattivo contrasto dovuto a sudiciume sulle lenti o alterazione delle superfici (certi vetri ottici sono chimicamente instabili), alterazione dei cementi, scheggiature, ecc. oppure a luce diffusa per riflessi interni (vedi sopra, §§ 32.1.11 e 32.6.1, art. n° 41).

32.6.5.2 - Aberrazioni (§§ 13, 19.3, 19.5, 31.2.8 e 31.2.9)

— difetti di progetto (§ 19.5.3):

Tenuto conto dei residui ammessi dai vari tipi di correzione (§§ 19.2 e 19.3), si devono denunciare:

• residui di cromatica laterale, coma ed astigmatismo (aberrazioni extra-assiali, simmetriche) in obbiettivi apocromatici o semi-apocromatici;

• residui sensibili di cromatica longitudinale in obbiettivi acromatici[261] (nelle altre classi di obbiettivi tali residui debbono essere sempre impercettibili)

• planeità di campo in una zona della superficie del campo inferiore al 60% negli obbiettivi normali, 80 % negli obbiettivi semi-planari, inferiore al 95 % nei planari.

Tutti controlli da eseguire con reticolo a passo 10 - 50 μ o con star test (per la coma e l'astigmatismo) e con tutti gli oculari di corredo.

— difetti di montaggio (§§ 19.5.1 e 19.5.2) da denunciare:

• coma sull'asse (errore di centratura)

• astigmatismo sull'asse (errore di allineamento)

• sferica sull'asse (§§ 13.2.3 e 18.4)(errore nella distanza fra le lenti).

Tutti controlli da eseguire con star test (vedi l'art. n° 11 e 21).

32.6.5.3 - Distorsione (§§ 13.1.2 e 31.2.9)

Nei sistemi moderni, la distorsione è in genere ridottissima. È bene comunque valutarla

[261] Almeno si deve pretendere che gli eventuali aloni presenti sull'asse, dovuti a cromatica longitudinale, risultino impercettibili nella condizione di miglior fuoco.

col metodo indicato nel § 31.2.9 . La tolleranza ammissibile dipenderà dall'uso cui è destinato il microscopio: per es., in un analizzatore d'immagine destinato a misure geometriche sull'oggetto, occorrerà fare i conti con i risultati che ci si aspetta dall'analisi.

32.7 - OCULARE
(art. n° 22)

Per quanto detto nel § 32.6.5, i controlli ottici sul microscopio vanno eseguiti sul complesso condensatore - obbiettivo - tubo - oculare ed i collaudi descritti nel § 32.6.5 coinvolgono anche l'oculare.

Si può valutare però qualche parametro specifico.

32.7.1 - Altezza della pupilla d'uscita (Ap)(§§ 20.10 e 31.3.6)

Andrebbe scartato un oculare con Ap minore di 12 mm, a meno che il corredo comprenda **anche** oculari "per portatori d'occhiali" (notati, per es., col simbolo di un occhiale o con "Br") con $Ap > 15$ mm.

32.7.2 - Campo angolare (§§ 20.1 e 31.3.3)

Non si creda che il campo dell'oculare è tanto più apprezzabile quanto più è grande. Non si dovrebbe superare il valore di 50 - 55° né scendere al di sotto di 35°. Comunque, si misurino e si annotino i valori di campo per tutti gli oculari di corredo. Quelli venduti per "grandangolari" debbono mostrare un campo (2α) superiore a 40° .

32.7.3 - Parfocalità (§ 20.2)

Sostituendo l'uno con l'altro tutti gli oculari previsti dal costruttore e rimettendo a fuoco ogni volta, si può ammettere solo un piccolo ritocco di micrometrica. Uno spostamento più forte della messa a fuoco comporta una perdita della parfocalità fra gli obbiettivi. In caso di dubbi, si controlli la parfocalità fra gli obbiettivi con ognuno degli oculari previsti e si annotino i risultati.

32.7.4 - Trattamenti antiriflettenti

Vale quanto detto nel § 32.6.3. La cura nell'esecuzione dei trattamenti influisce in genere sul contrasto e sul fenomeno delle cata-diottriche, descritto qui sotto.

32.7.5 - Immagini catadiottriche

Si chiamano così quelle macchie più luminose che si formano in un'immagine come risultato delle riflessioni indesiderate sulle superfici del sistema ottico.

Si tratta delle immagini della sorgente, che si formano a fuoco assieme a quella dell'oggetto; la sorgente può essere il diaframma d'apertura o la pupilla dell'obbiettivo.

Occorre verificare l'assenza di tali catadiottriche con <u>tutte</u> le possibili combinazioni oculare - tubo - obbiettivo. Va esteso il controllo ai dispositivi per la fotografia; meglio di tutto eseguire una foto di prova con un oggetto poco contrastato.

32.8 - MICROLAMPADA e SISTEMA ILLUMINANTE (§§ 8 e 22)

Per il sistema illuminante, è difficile dare indicazioni generali, data l'estrema varietà delle soluzioni adottate dai vari costruttori e nei vari modelli.

Per quanto riguarda i vari movimenti (centratura e focalizzazione di ampolle, lenti, specchi o diaframmi), si può ripetere quanto detto per la messa a fuoco (§ 32.2). È importante la rigidità e la stabilità del sistema, che si può verificare centrando il tutto, picchiettando con le dita su ognuna delle parti, e controllando poi se qualcosa si è mosso.

Si tenga poi presente che, nella o presso la microlampada, si possono raggiungere temperature elevate e certi materiali si deformano o si ossidano. Il risultato può essere l'indurimento o il blocco di viti di centratura, lamelle di diaframma ad iride, messe a fuoco ecc. Purtroppo, questi difetti si presentano dopo periodi di utilizzo medio-lunghi, e possono sfuggire all'esame su uno strumento nuovo. Occorrerebbe tenere accesa la microlampada alla massima tensione per circa un giorno, in continuazione. Poi, riverificare tutto il sistema illuminante.

Dal punto di vista ottico, si eseguano i seguenti controlli:

32.8.1 - Uniformità dell'illuminazione del piano oggetto

Non ci si basi su un apprezzamento ad occhio: le emulsioni fotografiche sono assai meno tolleranti dell'occhio alle differenze di quella illuminazione; in mancanza di un micro-fotometro[262], è bene eseguire qualche fotografia di prova con un vetrino vuoto, specialmente con gli obbiettivi più deboli.

Per le cause di questo difetto, vedi subito sotto.

32.8.2 - Collettore

— Immagine del filamento

Si chiuda il diaframma d'apertura; su di esso (osservandolo da sotto) si deve proiettare un'immagine[263] del filamento incandescente. Si può anche, invece del diaframma d'apertura, osservare la pupilla dell'obbiettivo (con un microscopio ausiliario o una lente di Amici, se disponibile); in questo caso, si usi l'obbiettivo con la massima apertura numerica, il diaframma d'apertura tutto aperto ed un vetrino vuoto, con eventuale immersione, semplice o doppia (§§ 16 e 21.5).

Ebbene, tutta la superficie del diaframma d'apertura o della pupilla dell'obbiettivo deve risultare uniformemente illuminata. Se ciò non avviene, non è possibile sfruttare tutta l'apertura dell'obbiettivo ed inoltre può essere poco luminosa l'immagine in campo scuro o in contrasto di fase (con obbiettivi forti). Un difetto del genere si può constatare anche in strumenti di alto livello e va segnalato senza indugio.

Si ricordi anche quanto si è detto nel § 32.5.3 riguardo i residui di sferica nel condensatore: una irregolare illuminazione della pupilla d'obbiettivo può dipendere anche dal

---

[262] come tolleranza, si può accettare una variazione di illuminazione non superiore a 3 % .

[263] a volte molto sfumata, data la presenza di vetri smerigliati, aberrazioni, ecc.

condensatore.

— Aberrazioni

Interessa essenzialmente la sferica, la quale può provocare una non uniforme illuminazione del diaframma di campo e quindi del campo oggetto.

Si chiuda il diaframma d'apertura; si usi un obbiettivo debole (meno di 10 : 1), si apra il diaframma di campo, riducendo il più possibile la tensione di lampada ed eventualmente inserendo un filtro neutro. Si escludano gli eventuali filtri smerigliati.

L'immagine del diaframma di campo, osservata negli oculari, deve apparire uniformemente illuminata. Come si è detto, le emulsioni fotografiche sono assai più esigenti dell'occhio, ed una foto di prova può mostrare un fondo non uniforme dove l'occhio non aveva rilevato nulla di anormale (§ 22.2.3).

32.8.3 - Allineamenti (§§ 8, e da 22.7 a 22.9)

Una serie di organi debbono essere centrabili o precentrati sullo stesso asse: filamento (o arco, nelle lampade ad arco per fluorescenza e per proiezione) - collettore - diaframma di campo - condensatore - obbiettivo. Le verifiche da eseguire riguardano la precentratura, o la possibilità di centrare manualmente, le varie parti.

— Filamento: la sua immagine deve cadere al centro del diaframma d'apertura. In caso affermativo, occorre verificare che collettore e filamento si trovino sull'asse del condensatore; ciò non è facile per queste ultime due parti poiché un errore nella centratura di una parte può essere compensata da un errore nell'altra. Si può limitarsi a verificare che l'immagine del filamento (poggiare un pezzo di carta sul diaframma d'apertura) non risulti circondata da aloni asimmetrici. Durante questo controllo, chiudere in parte il diaframma di campo.

— Collettore: poiché esso forma l'immagine del filamento, una sua errata centratura può essere compensata da un errore di posizione del filamento, come già detto. Normalmente, una sola delle due parti è centrabile o precentrata o si suppone centrata "di fabbrica", per cui ci si deve limitare alla verifica descritta sopra, annotando i risultati.

— Specchi intermedi: qui è più facile riscontrare errori di allineamento; per compensare questi ultimi, di solito l'utilizzatore decentra il condensatore col risultato descritto nel § 32.5.6 . È quindi bene essere molto attenti durante la verifica descritta nel paragrafo citato.

In ogni caso, si controlli che tutte le eventuali centrature previste consentano di ottenere, verso il centro della loro corsa, un'immagine centrata e senza aloni asimmetrici per questi oggetti:

• filamento, proiettato sul diaframma d'apertura (vedi sopra);

• diaframma di campo, come è visibile attraverso un obbiettivo debole nel piano dell'oggetto;

• diaframma d'apertura, come è visibile nella pupilla d'obbiettivo attraverso un microscopio ausiliario.

32.8.4 - Specchio mobile

Negli strumenti privi di illuminatore incorporato, è spesso fissato al piede uno specchio articolato su una forcella girevole, in grado di ruotare attorno a due diversi assi; si tratta di una specie di giunto cardanico.

Il difetto principale di queste montature è l'instabilità, ma questo dispositivo è così diffuso da rendere impossibile un suo rifiuto generalizzato.

Si può comunque verificare che i due assi di rotazione non siano troppo "laschi" e non presentino giochi apprezzabili.

Si osservi inoltre lo stato della superficie riflettente: quando si tratta di specchi argentati, una sua alterazione non è rara.

Se si tratta di specchi di superficie (del tipo “freddo” o altro), verificare l’assenza di danni, graffi, ecc. Inoltre, gli specchi “freddi” debbono apparire color porpora se osservati per trasparenza, con incidenza di circa 45° .

Negli illuminatori incorporati nel piede, vi è almeno uno specchio, ma queste superfici sono protette dalla polvere con opportune finestre in vetro e quindi, in uno strumento nuovo, non dovrebbero presentare difetti sensibili. Si controlli almeno, guardando attraverso le finestrelle mentre la lampada è accesa ed i diaframmi tutti aperti, lo stato delle superfici riflettenti.

BIBLIOGRAFIA RAGIONATA

La letteratura in lingua italiana circa gli aspetti tecnici della microscopia ottica generale è assai scarsa, ed ancora più rari sono i testi ancora reperibili in commercio. Per uso didattico sono utili:

H. DIETLE - Il microscopio nella scuola - Ed. La Scuola, Brescia, 1977 . 236 pagg. 178 figg.
W. NACHTIGALL – Esplorare ed apprendere con il MICROSCOPIO – Il Castello, Milano, 1997.
M. ROLAND - Le meraviglie del microscopio - B.U.R., Milano, 1950 . 188 pagg.
E. SÉGUY - Initiation à la microscopie - Ed. Boubée et Cie, PARIS, 1970 . 240 pagg, 100 figg.
Manuali tecnici pubblicati dai fabbricanti più noti, da richiedersi ai rispettivi rappresentanti.

Come atlanti del mondo microscopico, ricchi di tavole su vari aspetti del mondo visibile al microscopio ottico, sono da citare:

H. STREBLE e D. KRAUTER - Atlante dei microrganismi acquatici - Ed. F. Muzzio & C., Padova, 1984 . 334 pagg. 52 foto, 1700 disegni (ottimo).
E. SÉGUY - Le microscope - Emploi et applications - Ed. P. Lechevalier, PARIS, 1949 . 816 pagg., 202 tavv., 311 figg.
G. DEFLANDRE - Microscopie pratique - Ed. P. Lechevalier, PARIS, 1947 - 426 pagg., 130 tavv.
L.J. LAPORTE - Le monde microscopique - Ed. P. Lechevalier, PARIS, 1946 - 301 pagg., 300 figg.

Per una prima introduzione agli aspetti tecnici, esistono in italiano solo testi assai incompleti; per es.:
P. CASTANO e S. ROSSI - La fotografia al microscopio - Ed. Il Castello, Milano, 1984 . 163 pagg., 104 figg.
G. MAZZOLANI - Il microscopio - Ed. dell'Ateneo, ROMA, 1966 - 422 pagg.

Un testo esauriente, forse unico nel suo genere, è invece, purtroppo in lingua tedesca:

H. BEYER e H. RIESENBERG - Handbuch der Mikroskopie - Veb Verlag Technik, Berlin, 1988 . 455 pagg.

Raccomandiamo vivamente questo testo per il suo rigore e la sua chiarezza. Esso tratta anche le tecniche speciali e talune applicazioni. Data la bibliografia ricca ed aggiornata che esso contiene, divisa per argomento e facile da consultare, considerato che la maggior parte della letteratura tecnica nel campo dell'ottica e della microscopia è in tedesco, rimandiamo a quel testo il lettore che desideri approfondire il nostro argomento.

Per un'introduzione alla microscopia interferenziale:

G.P. SINI - Microscopia interferenziale - Fondazione "Giorgio Ronchi", XI; Baccini & Chiappi, Firenze, 1968. 87 pagg. (in questo sito, come art. n° 17)

Per il microscopio polarizzatore:

G.P. SINI - Introduzione alla microscopia in Radiazione Polarizzata - 45 pagg. (in questo sito).

INDIRIZZI UTILI

Non è difficile reperire, nelle maggiori città, i rappresentanti o concessionari dei principali costruttori di microscopi ottici e dei loro accessori (tutti stranieri: non esiste una produzione nazionale).

Non ha molto senso elencarli poiché ragioni commerciali portano a cambiamenti frequenti nella loro ragione sociale, nome ed indirizzo. L'elenco del telefono può rappresentare una guida continuamente aggiornata.

Il mercato dell'usato è assai limitato, e va cercato con pazienza, per es. nelle fiere sull'elettronica, astronomia, ecc. e su e-bay, naturalmente con tutti i rischi del materiale usato (grassi induriti, appannatura spontanea delle superfici ottiche, alterazione degli adesivi, penetrazione di olio negli obbiettivi ad immersione, formazione di colonie di miceti inferiori al minimo segno di umidità, ecc.).

Per reticoli di controllo a righe parallele (il tipo più utile è quello con passo 40 μ), star - test (vetrini alluminati, non quarzati) o reticoli particolari, è specializzata la ditta:

GRATICULES Ltd, Sovereign Way, The Botany, TONBRIDGE, KENT, UK ,
ppure:
EDMUND Optics – europe (www.edmundoptics.eu) / EDMUND Optics Ltd, 1, Opus Avenue, York, Y026 6BL, UK
oppure la ditta SILO, qui sotto:

Per progettazione e realizzazione di sistemi ottici semplici o complessi, riparazioni o rifacimenti di prismi, lenti o specchi:
Ditta SILO s.n.c., Via Castelpulci 14/D , 50018 Scandicci (FIRENZE), Tel. 055 - 722 13 67.

Naturalmente, attraverso la rete Internet è possibile oggi identificare e raggiungere una grande quantità di fornitori in ogni campo.

Per chi sia interessato agli aspetti storici della microscopia ottica, ricordiamo il Museo di Storia della Scienza di Firenze ed il Museo dell'Istituto di Fisica dell'Università di Bologna (attualmente, 2004, non visitabile).

INDICE DELLE FORMULE

Numero	FORMULA	ARGOMENTO	Capitolo
1	$E = E_o \sin (2 \pi f t)$	Ampiezza dell'onda	1.1
2	$\lambda = c / f$	Lunghezza d'onda	1.1
3	$T = 1 / f$	Periodo di un'onda	1.1
4	$\text{sen } \alpha = c_2 / i$	Seno di un angolo	2.2.1
5	$\text{tg } \alpha = c_2 / c_1$	Tangente di un angolo	2.2.2
6	$\text{sen } i / \text{sen } r = n$	Indice di rifrazione	2.3
7	$\text{sen } r = 1 / n = \text{sen } \theta$	Angolo limite (riflessione totale)	2.3.2
N. n.	$P = 1 / f$	Potenza ottica	2.6.1
8	$a' = f' + x'$	Coniugata immagine	2.6.1
9	$a = f + x$	Coniugata oggetto	2.6.1
10	$1 / f = 1 / a' + 1 / a$	Focale in funzione delle coniugate	2.6.2.2
11	$f^2 = x x'$	Id. (formula di Newton)	2.6.2.2
12	$M = y' / y$	Ingrandimento lineare trasversale (imm. reali)	2.6.2.2
13	$M = a' / a$	Id.	2.6.2.2
14	$M = x' / f$	Id.	2.6.2.2
15	$M = f / x$	Id.	2.6.2.2
16	$A = [(n - 1) / n] d$	Avanzamento dell'immagine	3.2
17	$M = 250 / f_{ob}$	Ingrandimento lineare di obb. a coniugata ∞	3.2.3
18	$V = \alpha' / \alpha$	Ingrandimento visuale (imm. virtuali)	4.3
19	$V = 250 / f$	Id.	4.3
20	$f_{\#} = f / d$	Numero d'apertura (relativa)	5.2.4
21	$NA = n \text{ sen } \alpha$	Apertura numerica	5.2.5
22	$NA = 1 / 2 f_{\#}$	Rapporto fra apertura numerica e relativa	5.2.5
23	$NA / NA' = M$	Rapporto fra apertura numerica ed ingrandimento lineare	5.2.5
N.n.	$s = s' / Mob$	Campo oggetto dell'obbiettivo	7
24	$\text{tg } \alpha = r / f$	Campo angolare dell'oculare	7.1
N.n.	$\text{tg } \alpha' = s' \cdot V_{ok} / 500$	Id.	7.1
25	$M_D = f_{ob} / f_k$	Ingrand. nell'immagine del diaframma d'apertura	9
26	$\varnothing P = 500 NA / V_M$	Diametro della pupilla d'oculare	9
27	$Z = Z' (n / n')$	Misura di profondità di un oggetto immerso	12.3
28	$m = M^2 = A'B' / A B$	Ingrandimento longitudinale o assiale	12.4
29	$M_{ok} = 250 / f_{ok}$	Ingrand. lineare di un oculare per x' = 250 mm	12.6
30	$M_{ok} = V_{ok}$	Id.	12.6
31	$V_M = Mob \cdot V_{ok} \cdot F_t$	Ingrandimento visuale del microscopio	12.7.1
32	$M_M = Mob \cdot M_{ok} \cdot F_t$	Ingrandimento lineare del microscopio	12.7.1
N.n.	$\Delta_\tau = \Delta_d \, . \, Mob^2 / 250$	Variazione della lunghezza del tubo in compensazione di un errore nello spessore della lamella	13.2.3.3
33	$c = f / 1 \cdot 000$	Diametro tollerabile del cerchio di confusione	14
34	$P = c \cdot f_{\#} = c / 2 NA$	Profondità di fuoco	14

35	$OPD = (n P \text{ sen}^2\alpha) / 2$	Optical Path Difference	14
36	$P' = n \lambda / 2 NA^2$	Profondità di fuoco	14
37	$P' = 2 \lambda f^2$	Id.	14
38	$P_f = P'_f / M^2$	Profondità di fuoco fotografica	14.1
39	$P_t = P_f + P_r + P_a$	Profondità di fuoco visuale totale	14.1
40	$P_r = 0{,}34 n / NA \cdot V$	Profond. di fuoco visuale per i limiti dell'occhio	14.1
41	$P_a = 250 n / V^2$	Profond. di fuoco visuale per l'accomodazione	14.1
42	$d = 0{,}12 \lambda / NA$	Limite di percezione per oggetto discoidale	15
43	$L = 0{,}01 \lambda / NA$	Limite di percezione per oggetto lineare	15
44	$n_1 \text{ sen } i = n_2 \text{ sen } r$	Costanza della NA a seguito della rifrazione	16
45	$C = (Imax - Imin) / (Imax + Imin)$	Contrasto	17
46	$A = C' / C$	Funzione di trasferimento del contrasto	17
47	$\nu = 1 / d$	Frequenza di un reticolo	17.2
48	$\nu_o = 2 NA / \lambda$	Frequenza massima di un reticolo (per contrasto nullo)	17.2
49	$d_o = \lambda / 2 NA$	Passo minimo di un reticolo (per contrasto nullo)	17.2
50	$r = 0{,}61 \lambda / NA$	Raggio del disco di Airy	18.3
51	$d = AC / \text{sen } \alpha$	Passo del reticolo per il "massimo" di inclinazione α	18.5
52	$d \geq 0{,}5 \lambda / NA$	Limite di risoluzione per oggetti lineari	18.6
53	$d = \lambda / (NA_k + NA_o)$	Limite di risoluzione in relazione all'apertura del condensatore	18.10
54	$\varepsilon = 1{,}2 \lambda / D$	Potere risolutivo angolare del cannocchiale	18.11
55	$500 NA < Vu < 1'000 NA$	Ingrandimento utile totale del microscopio	18.12
56	$V_{ok} = V_u / Mob$	Ingrandimento utile dell'oculare	18.12
57	$100 NA < M_f < 500 NA$	Ingrandimento utile fotografico	18.12
58	$f_{ok} = 250 / V_{ok}$	Focale dell'oculare	18.12
59	$M_{ok} = V_{ok} \cdot (x' / 250)$	Ingrandimento lineare dell'oculare	18.12
60	$V_m = 500 NA$	Ingradimento utile del microscopio	18.12
61	$\Phi/S = E = \pi t B NA^2 / M_M^2$	Illuminazione nell'immagine finale	19.2.1
62	$a = \{ (n' + n) / n \} \cdot r$	Coniugata oggetto del diottro per il "caso aplanatico"	19.2.3
63	$NA' = NA / n^2$	Apertura del diottro	19.2.3
64	$r = n f$	Raggio di curvatura della superficie di miglior fuoco	19.2.3.2
65	$r = f$	Id. per lenti spesse	19.2.3.2
66	$d \geq [n (r' - r'')] / [n - 1]$	Spessore del menisco "spesso" richiesto per una potenza positiva	19.2.3.2
67	$s = s' / Mob$	Diametro del campo oggetto	19.2.4
68	$y' / y = n \text{ sen } \alpha / n' \text{ sen } \alpha'$	"Condizione dei seni" di Abbe	19.3.1
69	$P = 1 / f$	Potenza di una lente	20.10
N. n.	$D = 1'000 s / f_{oc}^2$	Potenza corrispondente ad uno spostamento assiale dell'oculare	20.10
70	$Ci = Co \cdot M_k$	Diametro del campo illuminato	21.1

71	$Q' = Q (x' / f_c)$	Diametro dell'imm. del filamento data dal collettore	22.2
72	$Q \cdot NA_c = s \cdot NA_k$	Campo illuminato in funzione delle aperture di condensatore e collettore	22.2.2
73	$E = (\pi t B NA_c^2) / M_c^2$	Illuminazione nell'immagine del filamento	22.2.2
74	$V' / V'' = (T' / T'')^{2,7}$	Tensione e temperatura del filamento	22.6.1
75	$O\ \% = [(Jmax – Jmin)/(Jmax + Jmin)] \cdot 100$	Ondulazione di filamenti a tungsteno	22.6.1
76	$W = \sigma T^4$	Legge di Stefan-Boltzmann	22.6.4
77	$T = E / I$	Trasmissione di un filtro ottico	23
78	$\tau = e / i$	Trasmissione pura di un filtro ottico	23
79	$T = R \cdot \tau$	Trasmissione in funzione del fattore di riflessione R	23
80	$\tau = \tau_o^d$	Trasmissione pura in funzione dello spessore d	23
81	$\tau = e^{-ad}$	Id. in espressione esponenziale	23
82	$a = – \log_e \tau_o$	Coefficiente di assorbimento	23
83	$D = Log (1 / \tau)$	Densità ottica	23
84	$x = 1 – \log \log 1/\tau = 1 – \log a – \log d$	Curve doppio-logaritmiche di trasmissione dei filtri	23
85	$Mired = (1/T'' – 1/T') \cdot 10^6$	Valore Mired dei filtri	23.2
86	$Mired = 10^6 / TC$	Valore Mired di una sorgente	23.2
87	$\Delta_d = (\Delta_L \cdot 250) / Mob^2$	Variazione dello spessore di lamella richiesta da un errore nella lunghezza del tubo	31.2.4

INDICE DELLE TABELLE

Numero	ARGOMENTO	Capitolo
I	Profondità di fuoco in funzione dell'apertura dell'obbiettivo	14
II	Diametro delle varie zone della centrica in funzione dell'apertura	18.3
III	Energia contenuta nelle varie zone della centrica	18.3
IV	Passo delle striature o delle perle in frustoli di varie specie di Diatomee	18.11
V	Densità ottica D in funzione della trasmissione pura τ	23
VI	Variazione della lunghezza d'onda di massima trasmissione in un filtro interferenziale in funzione dell'angolo di incidenza	23.1

INDICE DELLE FIGURE

Numero	DESCRIZIONE DELLA FIGURA	Capitolo
	NB: con CS verranno indicate le figure in bianco e nero con chiaro-scuro (foto); con COL le figure a colori; le altre sono disegni a tratto.	
1	Schema di onda trasversale elettro-magnetica	1.1
2	Schema per il calcolo delle funzioni trigonometriche	2.1
3	Rifrazione	2.3.1
4	Duplice rifrazione in una lamina plan-parallela	2.3
5	Riflessione totale	2.3
6	Rifrazione e deviazione in un prisma	2.4
7	Rifrazione in una lente sferica	2.5
8	Sezioni di lenti convergenti e divergenti	2.5
9	Funzionamento di una lente divergente con fascio incidente parallelo	2.5
10	Formazione dell'immagine reale con oggetto all'infinito ed ingrandimento = 0	2.6.2
11	Id. con ingrandimento minore di 1	2.6.2
12	Id. con ingrandimento = 1	2.6.2
13	Id. con ingrandimento maggiore di 1	2.6.2
14	Id. con ingrandimento infinito	2.6.2
15	Formazione dell'immagine virtuale in una lente convergente	2.7
16	I piani principali	2.8
17	Schema di sistema Telan	3.2.2
18	Schema di obbiettivo con seconda coniugata infinita e lente di tubo	3.2
19	Lente d'ingrandimento e formazione dell'immagine virtuale	4.1
20	Schema di microscopio composto	4.4
21	Schema di oculare positivo	4.4
22	Diaframmi di campo e d'apertura	5
23	Apertura di un cono	5.2.3
24	Obbiettivo telecentrico	5.2.8
25	Vignettature	6.1
26	Campi oggetto ed immagine	7
27	Oculare negativo	7.2
28	Illuminazione diascopica in luce diffusa	8.4
29	Id. con condensatore	8.5
30	Illuminazione critica	8.6
31	Id. con collettore	8.7
32	Illuminazione sec. Köhler - Schema generale - Piani coniugati dell'oggetto e della sorgente	8.8
33	Campo angolare dell'oculare limitato dalla posizione scorretta dell'occhio	8.8
34	Tre tipi di prismi usati in microscopia	11
35	Schema di curvatura di campo	13.1.1
36	Rapporti fra profondità di fuoco e curvatura di campo	13.1.1
37	Schema di distorsione	13.1.2

38	Schema di risoluzione per punti (e cerchi di confusione) vicini	13.2
39	Schema di aberrazione cromatica in una lente convergente	13.2.1
40	Curve dell'aberrazione cromatica senza e con correzione acromatica ed apocromatica	13.2.1
41	Schema di aberrazione sferica trasversale e longitudinale	13.2.3
42	Effetto della lamella sulla sferica	13.2.3
43	Schema di coma	13.2.4
44	Schema di astigmatismo	13.2.5
45	Schema di nappe astigmatiche con superficie di Petzval	13.2.5
46	Schema di valutazione della profondità di fuoco variando l'apertura del sistema	14
47	Sfocatura e curvatura dell'onda convergente	14
48	Schema di obbiettivo a secco	16
49	Id. ad immersione	16.1
50	Curva di MTF (Modulation Transfer Function) in funzione del passo del reticolo	17.2
51	Ombra di un orlo diritto con frange di diffrazione	18.1
52	Immagine di un oggetto puntiforme con diffrazione	18.3
53	CS Foto di centrica semplice (da Ronchi)	18.3
54	Profilo fotometrico di centrica (id.)	18.3
55	CS Foto di due centriche al limite della risoluzione (id.)	18.3
56	Profilo fotometrico delle centriche di cui sopra (id.)	18.3
57	CS Foto di centriche con aberrazione sferica, sopra e sotto il miglior fuoco	18.4
58	Formazione dei fasci diffratti in un reticolo	18.5
59	Formazione dei massimi di diffrazione	18.5
60	Immagine primaria di Abbe nell'osservazione di un reticolo (da Wild)	18.5
61	*PLEUROSIGMA ANGULATUM* (COL)	18.8
62	Id. in conoscopia id.	18.8
63	*TRICERATIUM FAVUS* id.	18.8
64	Id. in conoscopia id.	18.8
65	Schema di pupilla d'obb. con due massimi diffratti e diaframma più o meno chiuso	18.9
66	Illuminazione obliqua unilaterale	18.9
67	Schema di pupilla d'obbiettivo con illuminazione obliqua	18.9
68	CS Foto di obbiettivo con barilotti smontati	19.1
69	CS Id. con barilotto generale	19.1
70	CS Foto di obbiettivo molleggiato	19.1
71	Schema di fissaggio d'obbiettivo con battuta	19.1.2
72	Schema di osservazione di un punto a fuoco e sfocato	19.2.2
73	Sezioni di quattro obbiettivi classici di vario ingrandimento (da Leitz)	19.2.3.1
74	Sezioni di obbiettivi ad immersione classico e planare (da Claussen - Leitz)	19.2.3.2
75	Schema di obbiettivo catottrico	19.3.4
76	MICROFOTO DI RETICOLO CON OBBIETTIVO AFFETTO DA CROMATICA LATERALE (COL)	19.5.4
77	CS Foto di oculare positivo intero e smontato	20.3
78	CS Foto di oculare negativo diritto e rovesciato	20.3

79	Sezioni di oculari Huygens acromatico e compensatore (da Leitz)	20.4.2
80	Schema di oculare divergente	20.6
81	IMMAGINE DEL DIAFRAMMA DI CAMPO NEL PIANO OGGETTO	21.1
82	Schemi di condensatori a grande campo (5 schemi)	21.1.3
83	CS Foto di condensatore di Abbe con frontale smontata	21.1.3
84	CS Foto di condensatore a frontale scamottabile	21.1.3
85	Schema di obbiettivo - oggetto - condensatore	21.3
86	Schema di focalizzazione corretta e non del condensatore	21.4
87	CS Foto di sotto-tavolino e porta-condensatore (Galileo)	21.6
88	Schema di condensatore affetto da sferica	21.7
89	FOTO DI PUPILLA D'OBBIETTIVO CON CONDENSATORE AFFETTO DA SFERICA E CROMATICA (COL)	21.7
90	Diaframmi anulari e schema di condensatore per fondo scuro e contrasto di fase	21.8
91	Schema di riflessione multipla in uno specchio "posteriore"	22.1.1
92	FOTO DI COLLETTORE AFFETTO DA SFERICA (COL)	22.2.3
93	Curve del tungsteno incandescente (flusso, resistenza, rendimento, potenza, corrente, in funzione della tensione applicata)	22.6.1
94	Curva di emissione delle lampade ad arco in xeno (da Wild)	22.6.2
95	Id. per lampada ad arco ad altissima pressione in vapori di mercurio (da Wild)	22.6.2
96	CS Foto di stativo inclinabile a tubo monoculare diritto (Meopta)	24
97	CS FOTO DI STATIVO FISSO A TUBO MONOCULARE A GOMITO (Leica HM- LUX 3)	24
98	Schema ottico di tubo bioculare	24.1
99	CS Foto di tubo bioculare a slitte (PZO MND 9)	24.1.3
100	CS Foto di tubo bioculare grandangolare sistema Siedentopf (Jena)	24.1.3
101	FOTO DI TUBO TRIOCULARE (PZO)(COL)	24.2.2
102	CS Foto di stativo privato di tubo, revolver, tavol, cond., lampada (Wild M 20)	26
103	CS Foto di guida-oggetti con manopole orizzontali (Galileo)	26.2
104	CS Foto di tavolino rotondo, girevole e centrabile (Reichert)	26.3
105	CS Foto di tavolino traslatore ortogonale a manopole orizzontali (Meopta)	26.4
106	FOTO DI STATIVO DI ROUTINE A COLONNA (Nikon Labophot 2)(COL)	27.1.3
107	FOTO DI STATIVO DA RICERCA A COLONNA (Nikon Microphot)(COL)	27.1.4
108	FOTO DI STATIVO ROVESCIATO PER DIASCOPIA (Nikon TMD)(COL)	27.1.5
109	Schema di tubo per due osservatori ad oculare laterale	27.7.1
110	Schema di camera lucida di Abbe per il disegno al microscopio	27.7.1
111	Schema di base di stereomicroscopio	29
112	Schema di quattro tipi di prismi usati per il raddrizzamento dell'immagine	29.2
113	Schema di illuminazione episcopica obliqua (stereomicroscopi)	29.3
114	Schema degli effetti della sfocatura sulla parcentratura trasversale delle due immagini in uno stereo-microscopio	29.4.1
115	Schema di microscopio stereoscopico sec. Greenough (da A.O.)	29.5
116	Microscopio stereoscopico su stativo a braccio mobile (Koristka) (Incisione)	29.5
117	Schema di revolver d'obbiettivi per microscopio stereoscopico	29.5.3

118	Schema di microscopio stereosc. con obbiettivo unico a pupilla divisa (sec. Abbe)	29.6
119	Schema di microscopio stereoscopico sistema CMO (Zeiss Stereo II)	29.7
120	Schema di illuminazione episcopica verticale con semi-riflettente unico (stereomicr.)	29.11.3
121	Schema dei limiti del campo illuminato nell'illuminazione episcopica coassiale (stereomicroscopio)	29.11.3
122	Schema di microscopio episcopico	30.1
123	Illuminazione episcopica con prisma	30.1
124	Illuminazione episcopica in fondo scuro	30.1
125	Condensatore cardioide per diascopia in fondo scuro a secco	30.2
126	Schema di contrasto di fase	30.2
127	Banda passante di filtri per fluorescenza	30.6
128	Schema di microscopio polarizzatore	30.7
129	Schema di sistema foto-micrografico	30.8
130	Messa a fuoco col sistema della parallasse in foto-micrografia	30.8.3

ELENCO di **ACRONIMI** USATI in MICROSCOPIA

A	Allgemein (di uso universale, detto di obbiettivi); OPPURE: Apertur (apertura numerica); OPPURE: Auflicht (episcopia)
ACE	Analog Contrast Enhancement
Achro	Obbiettivo acromatico
ADF	Annular Dark Field = Campo scuro omnilaterale
ADL	Apodized Dark-Light (obbiettivi apodizzati {con filtro neutro a densità graduata nella zona marginale} a media densità)
AFM	Atomic Force Microscope (microscopio non ottico)
ANSI = AMO	American National Standard Institute
Apl	Aplanatico (corretto di aberrazione sferica)
Apo	Obbiettivo apocromatico
APS	Active Pixel Sensor (sensori televisi amplificati in tecnologia CMOS)
BD = B/D	Bright and Dark field (per campo chiaro e scuro)
BF	Back Focal Distance (Distanza frontale, lato immagine) oppure: Bright Field = Campo chiaro
BFP	Back Focal Plane = Piano focale posteriore
BP	Band Pass (filtro passabanda)
BPF	Band Pass Filter (filtro passa-banda)
Br	Brillen (oculari adatti per portatori d'occhiali, a pupilla alta almeno 15 mm)
BSP	Beamsplitter (specchio semiriflettente)
BW	BandWidth (larghezza di banda)
B&W	Black and White = Bianco e nero
C	Compensatore (oculare); OPPURE: Obbiettivo con ghiera di correzione per lo spessore della lamella; OPPURE: Riga spettrale C a 656 nm; OPPURE: obbiettivo da usare con oculare compensatore
CARS	Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (osservazione della fluorescenza Raman con effetti ottici non lineari ed eccitazione a multifotoni)
CCD	Charge Coupled Device (sensori televisivi digitali a stato solido)
CDF	Centered Dark Field = Campo scuro centrato (omnilaterale)
C – DIC	DIC con radiazione polarizzata circolarmente (Zeiss)
CET	Contrast Enhancing Techniques (Tecniche di contrasto)
CF	Color (Chrome) Free (libero da aberrazione cromatica d'ingrandimento o cromatica laterale)
CFI	Color Free Infinity (come sopra + seconda coniugata infinita)
CID	Contrasto Interferenziale Differenziale
CIR	Contrast Improvement Ratio (Rapporto di aumento del contrasto)
CMO	Common Main Objective = Obbiettivo principlale comune (stereomicroscopi)
Corr	Correzione (Obbiettivo con ghiera di correzione per lo spessore della lamella)
CRT	Cathode Ray Tube (monitor con tubo a raggi catodici)
CLSM o CSLM	Confocal Scanning Laser Microscope (microscopio confocale a scansione)
CTF	Contrast Transfer Function (Funzione di trasferimento del contrasto in un'immagine rispetto ad un oggetto, in funzione della frequenza spaziale dell'oggetto)
CVD	Cromatische Vergrosserung Differenz (differenza cromatica d'ingrandim. = aberr. cromatica laterale)
D !	Deckglas (di obbiettivi che richiedono l'uso di un coprioggetto di spessore 0,17± 0,01 mm)
D	Deckglas (di obbiettivi che richiedono l'uso di un coprioggetto di spessore 0,17± 0,05 mm) OPPURE: Dunkelfeld = Dark field (sistemi per campo scuro, generalmente in episcopia); OPPURE: Durchlicht (diascopia, per trasparenza); OPPURE: Riga spettrale D a 589 nm (vapori di sodio)
d	Dicke = Spessore della lamella, espressa in mm
DF	Dunkelfeld (campo scuro, specialmente in episcopia, in tedesco) = Dark Field (inglese)
DI	Differential Interference
DIC	Differential Interference Contrast (contrasto interferenziale differenziale sec. Nomarsky)
DIK	Differential Interferenz Kontrast (contrasto interferenziale differenziale sec. Nomarsky)
DIN	Deutsches Institut für Normung = Sistema tedesco delle norme di standardizzzione dei prodotti industriali

DL	Contrasto di fase
DM	Contrasto di fase
DO	Deckglas und Ohne (da usare con o senza lamella, detto di obbiettivi)
DP	Diffraction Pattern = Figura di diffrazione
DPC	Differential Phase Contrast
EC	Enhanced Contrast (trattamenti antiriflessi molto curati, per ridurre la radiazione diffusa)
EF	Extended Field (obbiettivi a grande campo); OPPURE: Obbiettivo planare (a ridotta curvatura di campo)
EFL	Effective focal lenght
ELWD	Extra Long Working Distance (distanza di lavoro molto elevata)
F	Riga spettrale F a 486 nm
FAA	freier Arbeitsabstand = Distanza libera di lavoro (= WD)
FF	Front Focal Distance (Distanza frontale, lato oggetto)
Fl	Fluorite (obbiettivi semi-apocromatici con lenti in fluorite)
Fluor/Fluar	Fluorite (obbiettivi semi-apocromatici con lenti in fluorite)
Fluotar	Fluorite (obbiettivi semi-apocromatici con lenti in fluorite)
FN	Field Number (s' = indice di campo = campo oggetto dell'oculare)
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
FWHM	Full Width Half Maximum (larghezza a metà altezza, detto di banda passante di un filtro)
g	gehärtet (temprato, detto di vetri ottici e filtri); OPPURE: Riga spettrale g a 423 nm
G	Grossissement (ingrandimento, in francese)
GC	Grande Campo (per oculari con s' > 18 mm)
GF	Grossfeld (a grande campo)(per oculari con s' > 18 mm od obbiettivi con s' > 30 mm)
Glyz	Glyzerin = Obbiettivi ad immersione in glicerina
GW	A grande campo (per oculari con s' > 18 mm)
H (DIC)	(obbiettivi DIC a forte ingrandimento che richiedono un prisma di Wollaston speciale)
H	Alta pupilla d'uscita (oculari adatti all'uso di occhiali); OPPURE: Heiz (= calore)(detto di tavolino riscaldante od obbiettivi per uso con tale tavolino); OPPURE: Hellfeld (sistemi per campo chiaro, generalmente in episcopia); OPPURE: Huygens (oculare)
HAADF	High-Angle Annular Dark Field = Campo scuro a forte apertura
HD	Hellfeld und Dunkelfeld (sistemi per campo chiaro e scuro, generalmente per episcopia)
HE	High Eyepoint (oculari ad alta pupilla d'uscita, adatti all'uso di occhiali)
HF	Hellfeld (campo chiaro, specialmente in episcopia)
HI	Homogeneous Immersion (immersione omogenea degli obbiettivi)
HMC	Hoffmann Modulation Contrast = Contrasto d'ampiezza sec. Hoffmann
HW	HalbWerts (= a metà altezza = larghezza a metà altezza, detto di banda passante di un filtro)
HWB	HalbWerts Breite (= larghezza a metà altezza, detto di banda passante di un filtro)
ICCD	Intensified CCD (sensori televisivi digitali intensificati)
ICS	Infinity Color (Corrected) System (Obbiettivi {corretti di CVD} a seconda coniugata infinita)
Imm	Immersione in olio
ISIT	Intensified Silicon Intensified Target (sensori televisivi speciali)
K	Kompensator (oculare compensatore)
Kond	Kondensor (condensatore)
Korr	Obbiettivo con ghiera di correzione per lo spessore della lamella
KP	Kurz Pass (filtro passa-alto)
KSR	Katoden Strahl Rohr (tubo a raggi catodici o CRT)
L / LD / LL	Long Working Distance (Sistema a distanza di lavoro ("frontale") elevata)
L	Laser (sistema da usare con laser o LSM); OPPURE: Long = Sistema a distanza di lavoro ("frontale") elevata
LM	Light Microscopy (= Microscopia ottica) oppure: Low Magnification (= basso ingrandimento)
LP	Lang Pass (filtro passa-basso con la massima trasparenza per elevate lunghezze d'onda)
LRM	Licht Raster Mikroskops (sinonimo di confocale)
LSM	Laser Scan Microscope (sinonimo di confocale)
LWD	Long Working Distance (Sistema a distanza di lavoro ("frontale") elevata)
LWP	Long Wave Pass (filtro passa-basso con la massima trasparenza per elevate lunghezze d'onda)
M	Magnification (Ingrandimento lineare trasversale); OPPURE: Metallografico (da usare senza copri-oggetto)
MI	Multiple beam Interference (sistema interferenziale sec. Tolanski)
Micr	Micrometrico (detto di oculare)
Mired	Micro reciprocal degree (grado milionesimo inverso, una espressione della temperatrura di colore di una sorgente o di una radiazione)

MM	Macro/Micro (condensatore a campo grande e normale)
MP	Magnification Power (Ingrandimento visuale)
MPM	Microscope PhotoMetry
MTF	Modulation Transfer Function (Funzione di trasferimento della modulazione in un'immagine rispetto ad un oggetto, in funzione della frequenza spaziale dell'oggetto)
N	Obbiettivo a campo normale (non a grande campo)
NA	Numerical Aperture
NC	No Coverglass (da usare senza lamella)
NCG	No Cover Glass (da usare senza lamella)
NPL	Sistema planare, a curvatura di campo ridotta, con campo normale (non a grande campo)
O	Ortoscopico (oculare) OPPURE: "ohne" (senza coprioggetto)
oD/OD	Ohne Deckglas (da usare senza lamella, detto di obbiettivi) oppure: Optical Density
Oel	Olio (in tedesco) = Immersione in olio
Oil	Olio (in inglese) = Immersione in olio
Öl = Ol	Oel (= olio = Immersione in olio)
ON = o.n.	Ouverture Numerique (apertura numerica, in francese)
OPD	Optical Path Difference (differenza di cammino ottico)
OPL	Optical Pathlengh = Lunghezza del cammino ottico
OTF	Optical Transfer Function (composizione della MTF e della PTF, q.v.)
P	Planare (sistemi a campo spianato); OPPURE: Sistemi che è possibile usare in luce polarizzata
PALM	Photoactivated Localization Microscopy (fluorescenza attivata su singole molecole)
PApo	Obbiettivo plan-apocromatico
PC	Phase Contrast (per contrasto di fase)
Ph	Contrasto di fase
Phaco	Contrasto di fase
PhV	Contrasto di fase variabile
Pl	Sistema planare, a curvatura di campo ridotta
Plan / Plano	Sistema planare, a curvatura di campo ridotta
Pol	Sistemi che è possibile usare in luce polarizzata
PSF	Point Spread Function (diagramma che mostra la distribuzione fotometrica nell'immagine di un punto oggetto prodotta da un dato sistema ottico)
PTF	Phase Transfer Function (Funzione di trasferimento della fase in un'immagine rispetto ad un oggetto, in funzione della frequenza spaziale dell'oggetto)
Q	Quarz (sistema con elementi in silice fusa, da usare in UV)
RMS	Royal Microscopy Society (Società di Microscopia Londinese, che ha stabilito molti degli standard meccanici ed ottici dei microscopi, ancora in uso)
S	Segmenti (obbiettivo per "segmenti") = semisfere in vetro fra cui racchiudere il vetrino quando si usa il tavolino universale in radiazione polarizzata
S	Sistema "semiplanare", a curvatura di campo contenuta
s	Diametro del campo oggetto
s'	Diametro del campo immagine dell'obbiettivo (= Indice di campo dell'oculare)
SF	Strain Free (sistemi ottici esenti da tensioni interne e da birifrangenza intrinseca, adatti per Pol)
SI	Silicon Immersion (per fluorescenza, Olympus); OPPURE: System Integration (costruzione modulare di uno strumento, per facilitare la sostituzione delle varie parti ed accessori)
SIM	Superresolution Microscopy
SIT	Silicon Intensified Target (sensori televisivi digitali)
S/N	Signal to Noise = Segnale – Rumore (elettrico)
SOM	Scanning Optical Microscope (microscopio ottico a scansione)
SPIM	Metodo di illuminazione laterale di un oggetto, immerso in liquido, a mezzo di un fascio laminare perpendicolare all'asse ottico
SPL	Sistema "semiplanare", a curvatura di campo contenuta
S - Pl	Oculari fotografici Zeiss
S Plan	Sistema "semiplanare", a curvatura di campo contenuta
SPM	Scanning Probe Microscope (di solito, comprende il STM e l'AFM {vedi})
SSB	Single Side Band edge enhancement (obbiettivo in cui viene soppressa la radiazione diffratta dall'oggetto solo da un lato al fine di aumentare il contrasto: corrisponde ad un'illuminazione obliqua)
STED	Stimulated Emission Depletion (fluoresenza eccitata e soppressa da due stimoli laser successivi)
STM	Scanning Tunneling Microscope (microscopio non ottico, a scansione, che sfrutta l'effetto tunnel)
SWH	Wide Field High eyepoint (oculari a grande campo e pupilla alta)

SWP Short Wave Pass (passa-alto, detto di filtro con massima trasparenza per le minori lunghezze d'onda)
THETA La tecnica SPIM (q.v.) applicata alla fluorescenza
TI Tolanski Interferometry (per interferometri a fascio multiplo sec. Fabry-Pérot)
TIC Total Interference Contrast (DIC sofisticato, in episcopia)
TIDF Tilted Illumination Dark Field = Illuminazione obliqua in campo scuro
TIRF e TIRFM Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy = Osservazione da sotto di un oggetto aderente ad un substrato in condizioni di riflessione totale, sfruttando l'onda che penetra al di là della superficie riflettente per la "profondità di penetrazione" (con un minimo di 50 nm); in fluorescenza.
TL Transmitted Light (per diascopia)
TPI Threads per Inch (filetti per pollice, detto di passo di vite)
TS Teil Spiegel (specchio semiriflettente)
TSM Tandem Scanning reflected light Microscope
U Obb. per Pol da usare con segmenti (semisfere) e tavolino universale
UIS Universal Infinity System (Obiettivi a seconda coniugata infinita, correzione totale della cromatica laterale) (Olympus)
UT Universal Tisch = Obb. per Pol da usare con segmenti (semisfere) e tavolino universale
UW Ultra Wide viewfield (oculari a grande campo)
V Vergrosserung (Ingrandimento visuale, in tedesco)
VEM Video Enhanced Microscope
VI Variable Immersion (obbiettivi deboli, da usare con un liquido d'immersione qualsiasi)
VIM Video Intensification Microscope
W Wasser (= acqua) (Obbiettivi ad immersione in acqua); OPPURE: Wide field (grande campo)
Wasser Wasser (= acqua) (Obbiettivi ad immersione in acqua)
WF Wide Field (a grande campo)
WH Wide Field High eyepoint (oculari a grande campo e pupilla alta)
WI Wasser Immersion (Obbiettivi ad immersione in acqua)
Δ Lunghezza ottica del tubo = distanza fra fuoco imm. dell'obbiettivo e fuoco oggetto dell'oculare

INDICE ALFABETICO

— A —

avanzamento; 44
Abbe; 61; 78; 117; 136; 161; 165; 166; 205; 207; 209; 244; 265; 364; 379; 390; 391; 415; 469; 496
aberrazione cromatica; 122
aberrazione cromatica assiale; 206
aberrazione d'onda; 121; 126
aberrazione sferica; 122; 136; 223; 238
aberrazioni assiali; 120
aberrazioni extra-assiali; 120
accomodazione; 50; 94; 314; 375; 383; 437
accoppiamento "cinematico"; 359
acromatismo; 110
aerosol; 219
afocale; 45, 323
AGC; 447; 452
Agfachrome; 441
Ahrens; 325
Airy; 151; 214
allineamento; 221; 358
alogeni; 287
alta risoluzione; 448
altezza del condensatore; 265
altezza della pupilla; 230; 236
ametropia; 94, 245; 363; 382; 437
Amici; 136; 211; 324; 348; 379; 402; 432; 471
Amici-Bertrand; 324
ampolle "precentrate"; 497
analisi stereologiche; 243
analizzatore; 430
anastigmatico; 119
anelli di Newton; 220
anello di fase; 420
angolo di campo; 65; 66
angolo di stereo; 376
angolo limite; 27
angolo solido; 292
angolo visuale; 51
anisometropia; 246; 313; 314; 383
anodizzazione; 332
apertometro; 61; 469; 482
apertura angolare; 57
apertura numerica; 261
apertura relativa; 229
aplanatico; 113
apocromatico; 111
arco elettrico; 287
artefatti; 372
Askania; 389
asse ottico; 30
assi visuali; 375
astigmatismo; 53; 122; 221; 223; 230; 238; 245
astigmatismo in asse; 158
attacchi "cinematici"; 310
attacco C; 451
attrito; 340; 492
Auer; 290
avanzamento; 309; 317

— B —

ballast; 287; 288; 289
balsamo Canadà; 133; 203; 218
banda soppressa; 303
barilotto; 181
base; 343; 352
basi illuminanti; 368
bassa tensione; 286
battuta; 89; 186; 233; 265
beam splitter; 319
Beck; 469
Berek; 256
Berkovich; 366
Bertrand; 224
Boeghehold; 199
Bouguer - Lambert; 300
braccio; 343; 346
brillanza; 85; 284; 291
burning; 453

— C —

camera lucida; 244; 364
camere a gas; 367
camere di conteggio; 259
camicia; 183; 191; 221; 473
cammino ottico; 372; 422
Campani; 236
campo angolare; 65; 66; 69; 218; 229; 236; 266; 318
campo chiaro; 249
campo grande; 202
campo illuminato; 249; 250; 256; 410
campo immagine; 65
campo lineare; 66
campo nominale; 202
campo oggetto; 65
campo oggetto illuminato; 249
campo scuro; 72; 249; 269
campo scuro unilaterale; 269
cannocchiale; 383; 487
cannocchiale di Galileo; 323
cardioide; 416
Cartesio; 25
caso aplanatico; 136; 198; 201
cassette; 367
catadiottriche; 212; 240; 270; 500
catrame; 361
caustica; 113
CCD; 445
centratura; 220; 274; 358; 486
centrica; 153; 156; 164; 214; 221
cercatori inglesi; 366
cerchio di confusione; 30; 108; 113; 120; 121; 123; 132; 141; 145; 153; 195; 222
cerchio di minima confus.; 113
cerchio di Ramsden; 88
Chatelier; 414
Chevalier; 136
chiave; 235; 245
cicloforìa; 385
cilindretti limitatori; 205; 417; 473
CMO; 46; 483
coda di rondine; 260; 264; 310; 315; 332; 347; 487
codificatori; 367
coefficiente di assorbimento; 300
collare di correzione; 116
collegamento diretto; 286
collettore; 76; 78; 81; 249; 281
collimatore; 487; 493
colonna; 343; 346; 352
colorazione; 414; 419
colori d'interferenza; 423; 430
colori di sottrazione"; 430
colori fondamentali; 446
colorimetri; 291
colposcopi; 405
coma; 122; 220; 223
coma in asse; 156; 158
compatibilità; 47
compensatori; 431
compensazione; 238
composizione spettrale; 290
concordanza di fase; 160
condensatore; 78; 84
condensatore "a grande campo"; 255
condensatore a due diaframmi; 256
condensatore ad immersione; 262
condensatore di Abbe; 265; 267
condensatore di Heine; 256
condensatori "acromatici"; 266
condensatori "aplanatici"; 267
condensatori "cardioidi"; 401
condensatori a lunga focale; 259
condizione dei seni; 117
congruenza; 488
coniugata finita; 43; 46; 185
coniugata infinita; 45; 185; 319; 323; 392
coniugate; 33
conoscopia; 324; 402; 431
contrasto; 195
contrasto d'ampiezza; 419
contrasto di fase; 227; 268; 269; 271
contrasto interferenziale; 422; 424
convergenza; 314; 375
convertitori d'immagine; 212
copri-oggetti; 115; 258
corpo luminoso; 284
corpo nero; 284
cremagliera; 260
cristalli liquidi; 445
criterio di Lord Rayleigh; 126
criterio di Sparrow; 153
criterio di Strehl; 126
croce di Malta; 498
cromatica assiale; 109

cromatica later./trasv.; 112; 122; 223
cromatica longitudinale; 223; 266
Crown; 110; 236; 237
CRT; 454
curva di trasmissione; 299
curvatura di campo; 122; 222; 238; 266
CVD; 208; 223; 236; 238; 483

— D —

Dawes; 175
daylight; 285; 291; 304; 442; 446
decade; 102
deciBel; 452
definizione; 109; 142; 195; 305
densità ottica; 300
deviazione; 29
diaframma ad iride; 55; 205; 271; 417
diaframma anulare; 256; 265; 266; 268; 415; 420
diaframma d'apertura; 73; 76; 80; 85; 143; 252
diaframma di campo; 80; 270; 281; 410
diaframma di campo illuminato; 76; 84; 249
diaframma di campo visivo; 56; 80; 202; 229; 231
diascopia; 72; 204; 205; 249
diatomee; 165; 174
DIC; 326; 356; 368; 422; 498
dicroismo; 326
dicromatici; 326; 428
differenza cromatica d'ingrandimento; 208
diffraction limited; 121; 146; 193; 207; 211
diffrazione; 121; 149; 222
diffusore; 259; 273
DIN; 101; 102; 232; 234; 323; 468; 497
diottrìa; 33
direzione previlegiata; 430
disco di Airy; 153; 156; 220; 420
disco di Ramsden; 54; 60; 69; 82; 83; 99; 100; 225; 229; 231; 235; 241; 390; 437; 476
disco oculare; 54
dispersione; 25; 29; 109
display; 444
distanza di lavoro; 189; 259; 260; 377
distanza extrafocale; 33
distanza focale; 33
distanza frontale; 189; 278
distanza inter-pupillare; 96
distanza iperfocale; 127
distanza libera di lavoro; 260
distanza pupillare; 314; 316
distorsione; 122; 222; 238; 266; 396
dominante; 266; 284; 291; 297
doppia immersione; 262; 263
doppietto; 111
Dujardin; 265
Duplexfront; 198
durezza; 491

— E —

effetto "mosso"; 351
effetto del tubo; 50; 94; 314
effetto direzionale; 418
effetto duomo; 396
effetto neve; 447; 452; 456
effetto Schwarzschild; 439
emmetrope; 94; 245
episcopia; 137; 205; 249; 326; 408
equipollenza; 318
equivalente micrometrico; 96; 310
Erfle; 237
esposimetro; 235; 439
estinzione; 227; 430

— F —

Fabry e Pérot; 276; 301
fattore di camera; 177
fattore di filtro; 300
fattore di tubo; 101; 177; 202; 317; 319; 323; 428; 462
figura di diffrazione; 121; 151
figure d'interferenza; 431
filamento; 292
filtri "anticalorifici; 302; 443
filtri "di compensazione"; 285; 288; 291; 305; 443
filtri "diurni; 291; 305
filtri a riflessione; 299
filtri ad assorbimento; 299
filtri anticalorifici; 306
filtri dicromatici; 446
filtri grigi; 305
filtri in gelatina; 443
filtri interferenziali; 276; 302
filtri neutri; 305
filtri policromatici; 307
filtro anti-UV; 306
filtro di arresto; 306; 426
filtro di eccitazione; 426
filtro didimo; 306
filtro smerigliato; 298
filtro verde; 122
fine corsa; 260; 340; 353; 490
finestrella; 56
fissazione; 414; 419
flash; 368
flicker; 285
flint; 110; 236
fluocromi; 326; 425
fluorescenza; 271; 326; 403; 424
fluorescenza Raman; 427
fluorite; 111; 207
flusso; 291
focalina; 118
focalizzazione; 329; 495
fondo chiaro; 72; 268; 412
fondo scuro; 72; 171; 205; 256; 268; 271; 380; 413; 415
formato Leica; 441
fosforescenza; 424
freno progressivo; 491
frequenza spaziale; 141
Fresnel; 142; 363
frizione; 261; 340; 490; 491
frontale; 252
frontale estraibile; 267
frustoli; 165
fungicida; 361
funzione di trasferimento; 141
fuoco; 31; 33
fuoco virtuale; 31

— G —

Galileo; 40; 264; 394
Gauss; 31
giochi; 97; 338
gomito; 89; 91
grandangolare; 231
grande campo; 203
Greenough; 386; 388; 396; 482; 483
guida-oggetti; 332; 403
guide; 338

— H —

Hartnack; 136
Hoffman; 419
Homal; 91; 106
Hund; 416
Huygens; 153; 236

— I —

Ilford; 301
illuminazione incidente; 407
illuminazione critica; 257; 273
illuminazione diffusa; 273
illuminazione obliqua; 169; 171; 269; 415
illuminazione verticale; 204
immagine aerea; 436
immagine finale; 53; 101
immagine intermedia; 43; 47; 53; 80; 89; 99; 229; 232; 240
immagine reale; 38
immagine virtuale; 51
immagini catadiottriche; 441
immersione "quasi omogenea"; 205
immersione omogenea; 204
immersione quasi-omogenea; 135
incoerenza; 339
indagini granulometriche; 243
indice di campo; 65; 67; 69; 202; 231; 435
indice di rifrazione; 25
ingrandimento; 36; 44
ingrandimento assiale; 97
ingrandimento lineare; 51
ingrandimento longitudinale; 281
ingrandimento nominale; 101
ingrandimento utile; 19; 176; 230; 318; 324; 376; 378
ingrandimento visuale; 51; 100; 176; 241
intercambiabilità; 264
interferenza costruttiva; 160

interferenza negativa; 160
interferenze; 452
interferogramma; 423
Interphako; 269
invecchiamento; 86
ioduro di metile; 137
ipermetropia; 245
iride; 251; 263
isotropo; 24
isteresi; 97; 339; 354; 490

— J —

Jena; 255; 269; 365; 412; 435

— K —

Kellner; 237
Knoop; 366
Kodachrome; 439; 441
Kodak; 301
Köhler; 78; 142; 187; 249; 256; 260; 273; 282; 283; 296; 306; 408; 421; 424; 496
Koristka; 111; 207; 387

— L —

laccatura; 204
lag; 453; 457
Lambert; 305
lamella; 93; 115; 116; 137; 204
lardone; 339
larghezza a metà altezza; 303
larghezza di banda; 303
LCD; 454
LED; 445
legge di reciprocità; 58; 439
Leica; 332
Leitz; 45; 89; 256; 259; 264; 316; 389; 435; 465; 468
lente a grande campo; 80; 84; 255; 264
lente d'ingrandimento 18; 50; 98; 229
lente di Amici; 85; 224; 261; 270; 422; 431; 501
lente di camera; 433
lente di campo; 56; 68; 229; 235; 247; 464
lente di Klein; 225
lente di tubo; 45; 185; 324; 389; 392; 393; 464; 483
lente emergente; 183; 218
lente flottante; 118; 220
lente frontale; 134; 138; 184; 190; 218; 265
lente oculare; 68; 233; 235; 247
lente-relé; 37; 325; 363; 409
lenti asferiche 91; 267
lenti azzurrate; 143
lenti convergenti; 31
lenti divergenti; 31
lenti sottili; 31; 103
light baffle; 233
limite di Dawes; 175
linea di Becke; 372
linee TV; 448
long distance; 214; 259
luce artificiale; 291; 442; 446
luce bianca; 109
luce diffusa; 137; 142; 200; 325
luce diurna; 291; 442; 443; 446
luce riflessa; 249; 407
luce trasmessa; 204; 249
luminanza; 85; 291
luminescenza; 424
luminosità; 85
lunghezza d'onda; 16
lunghezza del tubo; 96; 188; 189
lunghezza focale; 31
lunghezza meccanica; 89; 182; 187; 309; 384
lunghezza ottica; 47; 89

— M —

Mach-Zender; 424
macro-fotografia; 432
magenta; 143; 431
marcatori; 366
massimo; 160
menischi; 30
menischi spessi; 201
Meopta; 468
mercurio; 289
Merz; 243
messa a fuoco; 50
mezzo di montaggio; 97; 203
mica; 431
microcamera; 311
microcontrasto; 108; 113; 142; 145; 147; 222
micro-durimetri; 366
micro-interferometro; 422
microlampada; 81; 273; 282; 396; 497
micrometro; 97
micrometro oculare; 94; 95; 96; 98
micrometro oggetto; 93; 95; 96; 99
micron; 17
micro-proiezione; 345
microscopi operatòri; 405
microscopi polarizzatori; 228; 269
microscopi rovesciati; 351
microscopio ausiliario; 85; 225; 270; 317; 422; 487; 489; 497; 499
microscopio composto; 19
microscopio semplice; 18
miopia; 245
mired; 443
Mired; 304
misura "spot"; 438
misura integrale; 438
modulation transfer function = MTF; 146
modulazione; 146
modulazione d'ampiezza; 419
Mohs; 332
mollette; 331; 334
monitor; 444
monobromonaftalene; 137
montaggio; 133; 203
montatura telescopica; 183
mosche volanti; 88
movimenti Browniani; 373
movimento telescopico; 191

— N —

Nachet; 390
nappe; 119; 238
Neper; 300
Newvicon; 445
Nicol; 303; 325; 429; 496
Nikon; 138; 289
nitidezza; 194
Nobert; 172
Nomarsky; 326; 422
nonii; 332
numero di Abbe; 110

— O —

obbiettivi "apocromatici"; 207
obbiettivi a correzione; 115; 116; 122
obbiettivi a diaframma; 417
obbiettivi a secco; 134
obbiettivi acromatici; 206
obbiettivi ad immersione; 198; 226
obbiettivi catottrici; 189
obbiettivi CF; 211
obbiettivi planari; 119
obbiettivi semi-apocromatici; 207
obbiettivo a secco; 137
obbiettivo ad immersione; 134; 137
oculare a spirale; 244
oculare a tamburo; 243
oculare di Ehrlich; 243
oculare divergente; 40; 240
oculare fotometrico; 244
oculare indicatore; 244
oculare negativo; 68; 236
oculare ortoscopico; 237
oculare positivo; 69
oculare spettroscopico; 244
oculari a diaframma esterno; 235
oculari a revolver; 243
oculari acromatici; 209; 211; 216; 239
oculari compensatori; 209; 211; 216
oculari da disegno; 244; 364; 402
oculari fotografici; 244
oculari grandangolari; 67
oculari integratori; 243
oculari micrometrici; 94; 234; 242
oculari per due osservatori; 363
oculari regolabili; 242
oggetti di ampiezza 371; 419
oggetti di fase; 372; 419
Olympus; 365; 435
omocentriche; 31
ondulazione; 285
opale; 74; 305
opposizione di fase; 160
Optical Path Difference; 125
ora serrata; 56
Orticon; 445
OSRAM; 288; 289

ottica parassiale; 31; 33; 103
otticamente perfetto; 121; 155; 156; 222
otturatore; 440

— P —

Palmer; 116
palpatore; 97
pancratico; 230; 395; 404
paraboloide; 416
parallasse; 438
para-occhi; 233
parcentratura; 191; 320; 323; 324; 357; 382; 389; 395; 401; 493
parfocalità; 44; 90; 139; 182; 187; 188; 232; 239; 265; 313; 318; 320; 323; 324; 384; 389; 395; 401; 436
parfocalità degli oculari; 232
passa-alto; 303
passa-banda; 305; 306
passa-basso; 303
passo; 93; 146; 159; 164; 448
passo inglese o RMS; 185
PCB; 135
Peltier; 367
penetrazione; 123; 127; 129; 196; 377
Petri; 349
Petzval; 104; 119; 200
piani principali; 61
piano focale; 34
piano immagine; 34
piano principale; 41
piattaforma nodale; 464
pignone; 260
pinza; 333; 337
pixel; 445; 448
Planck; 292
planètico; 119
Plössl; 237
polarizzatore; 429
polarizzazione; 17
Polaroid; 303; 326; 429; 432
porpora; 143; 276; 488
Porro; 379
porta-filtri; 264; 297
portante; 456
porta-oggetti; 93; 115; 204; 258
potenza; 33
potere di accomodazione; 127
potere risolutivo; 19; 164
precentratura; 286
presbiopìa; 49; 51; 245
prisma “a tetto”; 379
prisma di Porro; 379
prisma di Wollaston; 423
profilo fotometrico; 145
profondità di campo; 196
profondità di fuoco; 106; 122; 123; 330
proiettivo; 240; 241; 362; 433; 450
proiettore; 282
proiezione; 362
punti coniugati; 33
punti principali; 41; 95
punto prossimo; 49
pupilla d’ingresso; 98
pupilla d’obbiettivo; 225; 390
pupilla d’uscita; 54; 224; 229; 246; 408
pupilla dell’occhio; 83
pupilla estratta; 230; 235
PZO; 403; 465

— Q —

quarzatura; 92; 275

— R —

radiazione monocromatica; 103
radiazione ottica; 17
radiazione polarizzata; 271
raggio; 15; 24; 25
raggio principale; 53; 63
Raman; 427
Ramsden; 237; 390
rapporto “segnale/rumore”; 452
raster; 445; 448
Rayleigh; 153
refocusing stage; 330
Reichert; 45
reiezione; 302
rendimento fotometrico; 85; 257
repetibilità; 486
reticella Auer; 290
reticolo; 146; 158; 164; 222; 242; 245; 247; 472
revolver; 186; 297; 309; 493
RGB; 456
ribaditura; 181
riflessione totale; 27; 92; 379
rigidità; 351; 491
ripresa dei giochi; 338
risoluzione; 195; 376;489
risoluzione assiale; 123
risolvere; 19
ritardo; 490
RMS; 464; 497
roof; 379
rosso di 1° ordine; 431
rosso residuo; 426
rotula; 403
rumore; 447; 451; 456

— S —

salta-punti; 335
saturazione; 447
Schmidt; 379; 392
Schott; 207; 301; 303
segmenti; 215; 367
segnale “video”; 445
selenite; 431
semi-campo; 66
semi-riflettente; 91
serie R; 102
sezione ottica; 129; 217
sferica zonale; 198
sferocromatismo; 113; 206
sfocatura; 147
sfregamento dolce; 486
sfregamento grasso; 342
shutter; 453
Siedentopf; 316; 385; 465
silice fusa; 116; 213; 266; 293; 428
sincronismo; 445
sistema afocale; 393
sistema formatore d’imm. 71; 80
sistema illuminante; 71; 80
sistema telecentrico; 61
sistemi CF; 211; 238
sistemi di tubo; 203
sistemi galileiani; 393; 401
skylight; 304
Snell; 25
snodo “cardanico”; 276
soppressione del rosso residuo; 426
sorgente; 72
specchi di Lieberkühn; 466
specchi di superficie; 92; 274
specchi freddi; 276; 302
specchi posteriori; 274
specchio concavo; 74
spessimetro; 470
spettro di emissione; 283
spettro ottico; 18; 109
spettro primario; 109; 110
spettro secondario; 110; 207
spettro terziario; 111; 207
spine; 359
splitter; 92; 408; 411; 434
spot; 438
stampaggio; 453; 457
star test; 109; 222; 470; 473; 499
stativi integrati; 360
stativo modulare; 360
Stefan - Boltzmann; 291
Stephenson; 136
steradiante; 291
stilb; 291
Stokes; 426
strati sottili; 276
strobe; 453
sublimazione; 286
superficie di miglior fuoco; 104; 106; 199
superficie di Petzval; 119
superficie semiriflettente; 408

— T —

tavolini raffreddanti; 367
tavolini riscaldanti; 116; 367
tavolino “universale”; 367
tecniche di contrasto; 249
Telan; 45; 91; 318; 319; 323; 465
telecentrico; 39, 45; 73; 323; 392; 393
tele-microscopi; 18; 404
temperatura assoluta; 284
temperatura di colore; 284; 290; 304; 398; 443; 446
tempo di esposizione; 58
tempra; 293
tensione di alimentazione; 292
tensione superficiale; 374

testata; 312
TGL; 468
tilt; 158; 473
tinta sensibile; 431
tiraggio; 33; 89; 114; 241
Tolles e Spencer; 198
trade card; 466
traslatore ortogonale; 336
trasmissione; 299
trasmissione pura; 299
trasparenza; 86
trattamenti; 85; 143; 219; 233; 247; 301, 498
tubi “ergonomici”; 404
tubi a gomito; 309; 345
tubi da disegno; 92; 365; 402
tubi di confronto; 365; 402
tubi per due osservatori; 365
tubo da dimostrazione; 362
tubo intermedio; 323
tungsteno; 285

— U —

Ultrafluar; 213
ultra-microscopia; 415

— V —

valor medio; 292
valore di picco; 292
valore efficace; 292
valore micrometrico; 95; 96; 98; 315; 346
variatori d’ingrandimento; 91; 324
vernieri; 332
vetro smerigliato; 75; 76; 78; 82; 84; 281; 286; 305; 363
vibrazioni; 358
Vickers; 366
Vidicon; 445; 447
vignettatura; 64; 230;489
visore; 362
vite macrometrica; 353
vite micrometrica; 97; 353

— W —

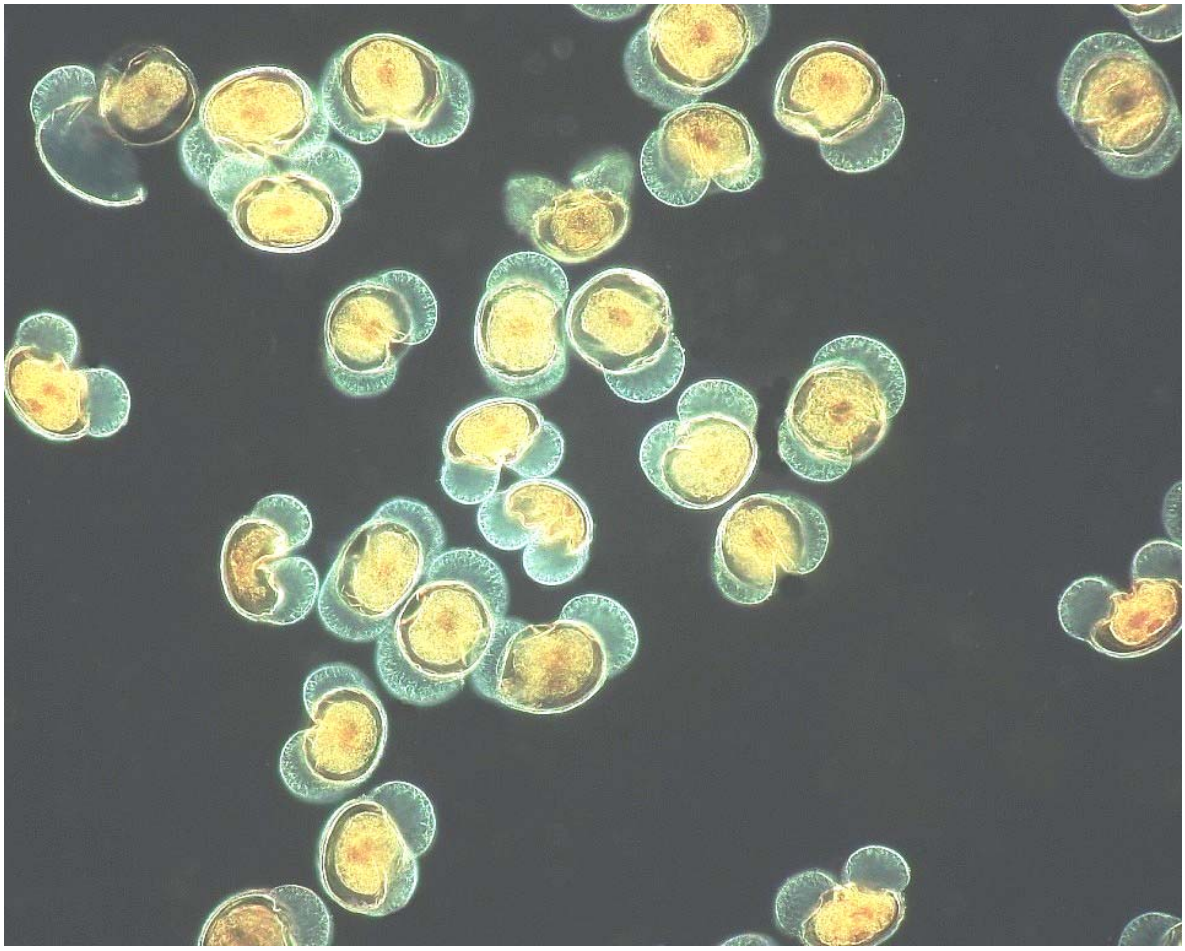
Weibel; 243
Wild; 255; 289; 290; 360; 402; 403; 422; 465; 471
Wollaston; 326; 423
Wratten; 291; 301; 304; 442
Wright; 324; 432

— X —

xeno; 288
xilolo; 138

— Z —

zampa di ragno; 333; 494
Zeiss; 45; 101; 111; 136; 138; 183; 187; 199; 213; 255; 264; 315; 316; 356; 386; 391; 394; 400; 421; 424; 435; 465; 468
zero assoluto; 284
zirconio; 288
zoom; 215; 230; 256; 324; 384; 388; 401; 483



Polline di *Pinus sylvestris* (Conifere)
Fondo scuro − Obb. 20:1