

CONTROLLO DEI RESIDUI DI ABERRAZIONI NEL SISTEMA OTTICO DEL MICROSCOPIO A MEZZO DI RETICOLI-OGGETTO

Per “reticolo-oggetto” intendiamo un comune vetrino porta-oggetti ($25 \times 75 \times 1,1$ mm) su cui siano stati depositati strati opachi sottili secondo disegni di vario tipo. Gli strati sottili possono essere di tipo metallico o fotografico; questi ultimi però difficilmente danno bordi netti. In altri casi, il supporto in vetro viene inciso a mezzo di opportuni reagenti chimici, in grado di intaccare il vetro. Ne risultano dei microscopici solchi.

Reticoli adatti ai nostri scopi sono reperibili presso vari fornitori¹ oppure possono essere fabbricati “su misura” da industrie specializzate².

In molti casi, può bastare un normale “micrometro oggetto”, di quelli usati per la calibrazione delle misure di lunghezza al microscopio. Si tratta di un vetrino su cui è incisa una graduazione lunga da 1 a 5 mm, con intervalli normalmente di 10 μ .

Qualcosa si può confezionare con mezzi semplici: si prenda un normale porta-oggetti, lo si pulisca bene con alcool e lo si spalmi con uno straterello d'inchiostro di China; l'esperienza indicherà quale è lo spessore più opportuno dello strato d'inchiostro. Quando il tutto è ben secco, si traccino sottili solchi sul vetrino con una lametta da barba, solchi più paralleli e più ravvicinati possibile, su una superficie di almeno qualche mm². Si facilita questa operazione con l'aiuto di un righello che guidi la lametta.

Per l'uso con obiettivi normali, per diascopea, il reticolo, comunque realizzato, andrà coperto da una lamella (copri-oggetto) dello spessore normalmente previsto, pari a 0,17 mm. Si controlli lo spessore della lamella con un micrometro centesimale poiché lo spessore nominale soffre sempre di una forte tolleranza. Fra lamella e reticolo conviene mettere una goccia di resina (Balsamo del Canada naturale o artificiale), ponendo poi un piccolo peso sulla lamella per minimizzare lo spessore di resina. Il tempo di indurimento della resina va da qualche ora (resine artificiali) a molte settimane (Balsamo naturale).

I controlli sotto descritti si applicano sia al microscopio stereoscopico che mono-obiettivo. Salvo indicazione contraria, il reticolo-oggetto va posto sul tavolino ed osservato attraverso il sistema ottico completo del microscopio. In genere quindi si osserveranno residui di aberrazioni dovuti all'obiettivo, all'oculare, a eventuali prismi, filtri e lenti "di tubo", ai cambiatori d'ingrandimento eventuali, ecc. In certi casi, ha influenza anche la distanza interpupillare del tubo bioculare, quando essa altera la lunghezza ottica del tubo (vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 24.1.3).

ABERRAZIONI "DEL PIANO" (che interessano oggetti estesi)

Queste aberrazioni provocano una deformazione generale dell'immagine rispetto all'oggetto, quando questo occupa una porzione non trascurabile del campo visuale: oggetto ed immagine non sono geometricamente “simili”. Le aberrazioni del piano non interessano invece oggetti puntiformi.

¹ Per es. Graticules Ltd, Sovereign Way, Tonbridge, Kent (UK).

² Per es., SILO snc, Via Castelpulci 14/D, Scandicci (FI).

DISTORSIONE

Poiché questa aberrazione consiste in una variazione dell'ingrandimento al variare del campo (h), cioè della distanza di un punto immagine dall'asse, si tratta di osservare un reticolo-oggetto contenente righe diritte parallele e misurare la distanza fra le righe dell'immagine vicino all'asse e presso i bordi del campo; per questa misura, occorre naturalmente che il reticolo-oggetto possieda righe equidistanti (come un micrometro-oggetto) e che si confronti la sua immagine con un micrometro oculare (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 12.1 e 20.8).

Nel campo visuale, debbono essere visibili almeno una decina di righe; occorre quindi disporre di reticoli-oggetto di vario "passo", a seconda dell'ingrandimento dello strumento; occorre un "passo" di reticolo, cioè una distanza fra le righe, da circa $10\ \mu$ (obb. ad immersione) a circa $500\ \mu$ (stereoscopici). Per i piccolissimi ingrandimenti può essere sufficiente un doppio-decimetro.

Un apprezzamento della distorsione si può fare ad occhio, specialmente se le righe del reticolo-oggetto sono lunghe: la distorsione le rende curve. Per una misura precisa, ci si avvalga di un micrometro oculare e, per confronto fra i due reticoli, si misuri il passo apparente, cioè la distanza fra le righe nell'immagine, presso l'asse (P_1) e sui bordi (P_2). La misura della distorsione è:

$$D = (P_2 - P_1) / P_1$$

e si può esprimere in percento moltiplicando D per 100.

D può essere maggiore o minore di 0 poiché P_2 può essere maggiore o minore di P_1 (distorsione positiva o negativa).

L'apertura del condensatore non ha influenza sulla distorsione. Questa aberrazione ha importanza solo quando si debbano misurare o fotografare oggetti di grandi dimensioni e di forma regolare.

CURVATURA DI CAMPO

Per costruzione, un reticolo-oggetto è piano entro tolleranze trascurabili. Per controllare la curvatura, è sufficiente che nel campo visuale siano distribuiti punti o linee, uniformemente su tutto il campo.

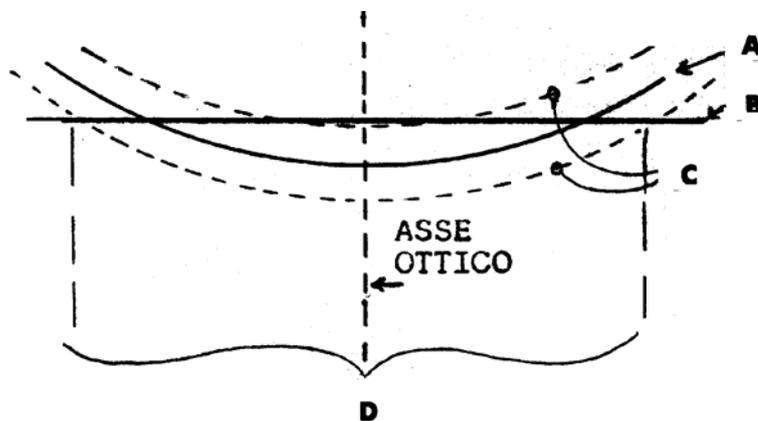


Fig. 1 – Schema di oggetto piano, per es. un reticolo-oggetto (B); (A) è la superficie di miglior fuoco dell'obiettivo (quella che corrisponde ad un'immagine intermedia piana); (C) sono i limiti superiore ed inferiore della penetrazione. (D) è la regione "ragionevolmente a fuoco" del campo dell'obiettivo.

Un obiettivo ideale, "planare" dovrebbe fornire all'oculare un'immagine intermedia piana per un oggetto piano, immagine che apparirebbe all'occhio tutta simultaneamente a

fuoco. All'inverso, un obiettivo planare dovrebbe possedere, all'interno dello spazio-oggetto, una "superficie di miglior fuoco" del tutto piana. In altre parole, la "superficie di miglior fuoco" è quella superficie contenuta nell'oggetto (supposto a tre dimensioni) capace di restituire un'immagine intermedia piana.

Un apprezzamento grossolano della curvatura si ha cercando di mettere a fuoco la massima porzione possibile del campo, che deve comprendere anche il centro; si tratta di sfruttare la "penetrazione" dell'obiettivo (cioè la profondità di fuoco), che permette di considerare "ragionevolmente" a fuoco anche parti dell'immagine esterne alla regione di miglior fuoco (fig. 1).

Si potrà dire, ad es., che la regione "ragionevolmente" a fuoco occupa i 2/3 o i 3/4 del campo. È evidente la soggettività, ma anche la praticità di questa valutazione.

Se la vite micrometrica ha un tamburo graduato, si può dare una misura obbiettiva della curvatura cercando il miglior fuoco prima in asse, poi sui bordi, e leggendo sulla micrometrica di quanti micron si è spostato l'obiettivo rispetto all'oggetto. Questa misura si può eseguire anche osservando un oggetto sottile qualunque (come uno striscio di sangue o di batteri).

Il valore così misurato della differenza di focalizzazione va rapportato però alle dimensioni del campo oggetto (s); infatti, gli obiettivi più deboli hanno un campo più grande e quindi, se la superficie di miglior fuoco è a forma di calotta sferica, aumentando il diametro della calotta, a parità di curvatura, aumenta anche la "freccia", che corrisponde alla differenza di focalizzazione citata sopra.

La curvatura non dipende dall'apertura dell'obiettivo o del condensatore; essa va misurata comunque col condensatore a piena apertura (circa 4/5 della pupilla d'obiettivo "riempita" dall'immagine del diaframma d'apertura - osservare con la lente di Amici-Bertrand) al fine di evitare un aumento della penetrazione dell'obiettivo che renderebbe più difficile valutare se una certa porzione dell'immagine non è più "ragionevolmente" a fuoco, o se si è raggiunto il miglior fuoco.

Il peso della curvatura di campo si fa sentire essenzialmente in fotografia: occorrerebbe in ogni caso che l'intero formato fotografico risultasse "ragionevolmente a fuoco", con tutta la soggettività di questa valutazione.

ABERRAZIONI "DEL PUNTO"

Esse non interessano oggetti estesi, ma alterano l'immagine di un oggetto "puntiforme" che, secondo l'ottica geometrica, dovrebbe rimanere puntiforme.

ABERRAZIONI "CROMATICHE"

Per definizione, le aberrazioni cromatiche sono dovute ad una variazione ("dispersione") dell'indice di rifrazione (n), e quindi della focale e dell'ingrandimento, al variare della lunghezza d'onda (λ); quindi esse non si presentano in radiazione monocromatica.

CROMATICA LONGITUDINALE o ASSIALE

Consiste nella dispersione della focale, e quindi della posizione dell'immagine, al variare di λ . Per evitare il sovrapporsi di analoghi effetti della cromatica laterale (vedi sotto), occorre osservare la cromatica longitudinale in asse (al centro del campo).

Negli obiettivi apocromatici o semi-apocromatici, essa è talmente corretta che non è praticamente osservabile.

Negli acromatici non recenti o di bassa qualità si possono osservare residui di cromatica longitudinale in questo modo: si usi un reticolo con righe opache e trasparenti alternate, con bordi netti anche se non rettilinei; ottimi i reticoli a deposito di cromo. Può servire anche un

micrometro-oggetto ma, al solito, sarebbe meglio disporre di reticoli con passo diverso (da 10 a 500 μ) per avere una decina di righe nel campo a qualunque ingrandimento. Si metta a fuoco con cura in centro al campo; sui bordi delle righe opache, dove il contrasto è massimo, si può notare una esilissima linea porpora. Alzando l'obbiettivo, si deve osservare una variazione di questo colore verso il viola; in senso opposto, verso il verde. La ragione di ciò sta nel fatto che negli obbiettivi acromatici, per definizione, si fanno coincidere le focali per la regione del rosso e del blu dello spettro ottico. Per la regione intermedia del verde, la focale è minore (dove un'immagine verde sfocata che deborda da quella nera) e per il viola è maggiore.

La cromatica longitudinale, espressa come diametro del “cerchio di confusione” (immagine confusa di un punto oggetto), è proporzionale all'apertura dell'obbiettivo; quindi il condensatore va usato a piena apertura durante il controllo. Come oculare, si usi quello consigliato dal costruttore poiché un oculare può dare un proprio contributo alla cromatica longitudinale dello strumento nel suo complesso.

CROMATICA LATERALE o DIFFERENZA CROMATICA d'INGRANDIMENTO

Consiste in una dispersione della focale, quindi della posizione e delle dimensioni dell'immagine al variare di λ .

Per definizione, questa aberrazione si presenta solo lontano dall'asse: per un punto oggetto fuori asse, si presenta una serie di punti immagine diversamente lontani dall'asse, di diverso colore, quindi un piccolo spettro.

La cromatica laterale può essere rilevante negli obbiettivi acromatici medi e forti, semi-apocromatici ed apocromatici tutti, se di formula classica. Con le tecniche tradizionali, infatti, non era possibile la correzione completa di questa aberrazione negli obbiettivi medio-forti. Per questi obbiettivi perciò non si potevano usare oculari acromatici, come i classici Huygens a due lenti semplici, ma occorrevano oculari “compensatori”, forniti di una cromatica laterale di pari grado e di segno opposto di quella dell'obbiettivo. Nelle moderne ricette, i migliori costruttori riducono questa aberrazione a residui trascurabili (sistemi CF o “chrome-free”), e quindi vanno usati in questo caso oculari acromatici (che saranno in genere più complessi degli Huygens classici poiché questi ultimi hanno pupilla d'uscita bassa, campo limitato e residui di altre aberrazioni)³.

Più delle altre aberrazioni, la cromatica laterale è legata a tutti i mezzi del sistema formatore d'immagine del microscopio: obbiettivo, oculare, e mezzi interposti (lenti, prismi, filtri). Il passaggio da un tubo bioculare ad uno monoculare o viceversa può bastare a creare residui sensibili di cromatica laterale.

Per la misura, si osservi un reticolo con righe opache e trasparenti alternate; si monti un oculare sicuramente acromatico (può bastare un oculare Huygens classico formato da due lenti semplici piano-convesse con la convessità in basso; diaframma di campo visivo a metà strada fra le due lenti). Si osserverà così la cromatica laterale del solo obbiettivo. Invece, con l'oculare consigliato dal costruttore, si misurerà l'aberrazione complessiva, che sarà modesta o nulla se l'oculare possiede il giusto grado di “compensazione”⁴.

NB : Gli oculari acromatici negativi, come lo Huygens (col diaframma di campo visivo fra le due lenti) mostrano un orlo blu ai confini del diaframma; quelli positivi (diaframma di campo visivo al di sotto delle lenti) mostrano un confine senza colori; quelli compensatori mostrano in genere un orlo rossastro.

Si porti ora il bordo di una linea opaca verso i margini del campo, tangenzialmente rispetto ai margini stessi (supponiamo che la parte opaca sia rivolta all'esterno).

³ Vedi il manuale “Problemi tecnici della microscopia...”, Cap. 19.3.

⁴ La “compensazione” non è un “si-no”, un “tutto o nulla”, poiché il valore massimo dell'aberrazione (ai bordi del campo) non è sempre lo stesso. Inoltre, la cromatica laterale dell'obbiettivo ha un andamento non lineare in funzione del campo e quella dell'oculare dovrebbe seguire la stessa legge, ma in genere non ci riesce. Ecco perché i sistemi CF sono in genere più corretti su tutto il campo.

Ebbene, quando si adopera un obiettivo medio-forte classico con un oculare acromatico, dove dovrebbe essere il passaggio netto bianco-nero, come dovrebbe apparire da un reticolo a deposito metallico, si noterà che la regione nera è invasa da un orlo colorato, che rappresenta una immagine di maggiori dimensioni (l'orlo colorato si spinge verso l'esterno) rispetto all'immagine bianca. Al colore di quell'orlo corrisponde dunque un maggiore ingrandimento, quindi una focale minore. Se il colore è blu, la minor focale si ha con le lunghezze d'onda minori dello spettro; questo è il caso normale, e corrisponde ad una aberrazione sottocorretta; nelle formule classiche di obiettivi, secondo lo schema di Amici, questo residuo dipende dalla presenza, negli obiettivi medi e forti, di una lente frontale semplice la cui cromatica laterale non può essere corretta dalle lenti successive, che si trovano troppo lontane da essa. Ecco perché E. Abbe, alla fine dell'800, progettò gli oculari compensatori.

Solo dal 1975 circa è stato possibile calcolare i sistemi complessi citati sopra (CF), in cui questa cromatica laterale sottocorretta è sostanzialmente eliminata. Questi obiettivi vanno sotto vari nomi commerciali e vanno usati naturalmente con oculari acromatici. Come accennato sopra, la cromatica laterale dipende, più di altre aberrazioni, dall'accoppiamento obiettivo-oculare.

Una misura della cromatica laterale può essere ottenuta misurando la larghezza dell'orlo colorato con un oculare micrometrico, ed esprimendola come percentuale del raggio del campo visivo o come larghezza assoluta nel piano dell'immagine intermedia.

La cromatica laterale non dipende dall'apertura, ma è bene non chiudere troppo il diaframma del condensatore per non suscitare fenomeni di diffrazione che renderebbero l'orlo colorato meno visibile.

ABERRAZIONI "DEL PUNTO" ACROMATICHE (Sferica, Coma, Astigmatismo)

Sono dipendenti dalla lunghezza d'onda λ , nel senso che λ influenza le dimensioni dell'immagine di un oggetto puntiforme, ma si presentano anche in radiazione monocromatica. Da qui il loro nome.

Più che le altre aberrazioni del punto (quelle cromatiche), le aberrazioni acromatiche mostrano chiara una alterazione dell'immagine di diffrazione e pertanto i due effetti vanno studiati assieme; crediamo allora opportuno chiarire alcuni punti.

— L'OGGETTO "PUNTIFORME" e la DIFFRAZIONE (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 18)

Sia dato un sistema ottico ideale, privo di qualsiasi aberrazione, che produce un'immagine reale di un oggetto "puntiforme" teorico, cioè privo di dimensioni. Considerando solamente i fenomeni dell'ottica geometrica, l'immagine dell'oggetto citato deve essere ancora puntiforme, con qualunque valore dell'ingrandimento (un punto senza dimensioni non si può ingrandire). Ma in realtà la diffrazione altera le cose; se si tiene conto dell'ottica ondulatoria, cioè della natura ondulatoria della luce, si deve dire che l'onda sferica generata dall'oggetto diverge fino ad incontrare la lente, poi, al di là della lente, converge, restando sferica, verso un punto-immagine che è il centro di questa seconda sfera; ma l'onda generata dall'oggetto viene diaframmata dalla lente, se non altro dalla sua montatura, dai suoi orli; lungo i confini di questo diaframma, la diffrazione altera la forma dell'onda la quale non produce più un punto immagine, bensì una figura caratteristica che, nel caso teorico citato (sistema ideale) presenta un disco centrale circondato da anelli di diametro crescente e di intensità decrescente. Questa "figura di diffrazione" o "di Airy" o "**centrica**" è visibile in fig. 2, ed il suo profilo fotometrico, in sezione mediana, in fig. 3.

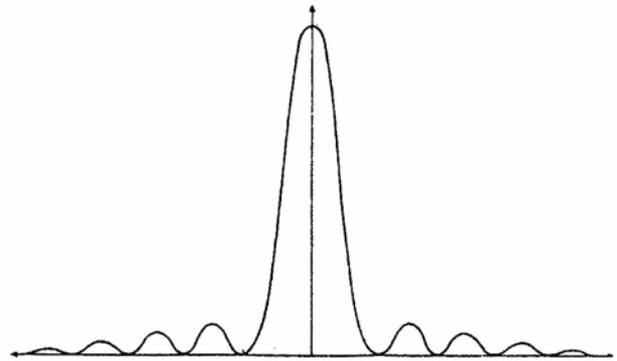
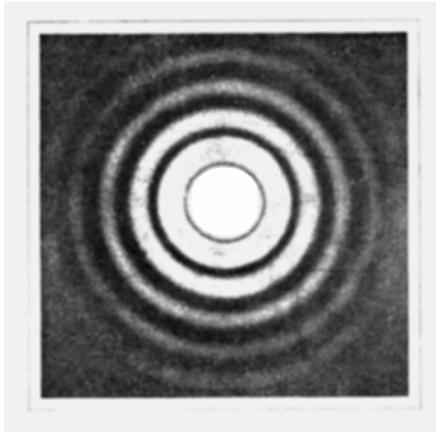


Fig. 2 e 3 – Figura di diffrazione (“centrica”) generata in condizioni di miglior fuoco da un sistema ottico convergente ideale (“diffraction limited”) per un oggetto otticamente puntiforme. A destra, il suo profilo fotometrico osservato lungo un suo diametro.

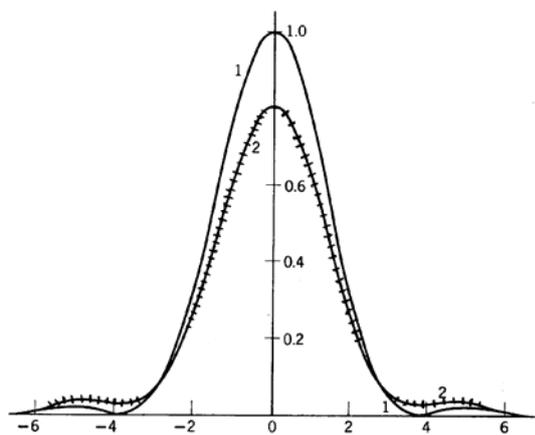


Fig. 4 – Profilo fotometrico di una centrica nel piano di miglior fuoco (curva 1) e per un’onda sfocata (curva 2), per la quale la distanza assiale rispetto all’onda ideale non supera a piena apertura il valore di $\lambda/4$ (criterio di Lord Rayleigh)⁵. L’intensità della centrica sfuocata al centro della figura è circa l’80% di quella ideale.

⁵ Si fa qui il confronto fra l’onda ideale e l’onda sfuocata supponendo che le due onde si tocchino nel punto assiale (al centro). Si misura poi la distanza fra le due onde in direzione parallela all’asse e per i massimi valori di apertura del sistema.

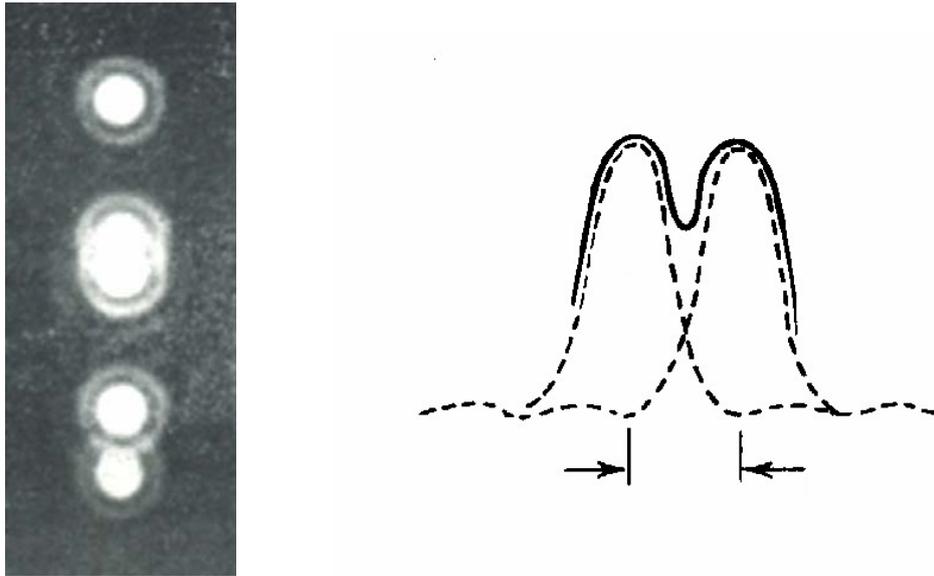


Fig. 5 e 6 – Due centriche 1) pienamente risolte (a sinistra in basso), 2) ai limiti della risoluzione (a sinistra al centro; profilo fotometrico a destra: la curva a tratto intero rappresenta la sovrapposizione delle due centriche), e 3) non risolte perché troppo vicine (a sinistra in alto, con l'apparenza di un'unica centrica). Nel caso di mezzo, come si vede dal profilo a destra, i centri delle due centriche distano di una lunghezza pari al raggio del primo anello scuro.

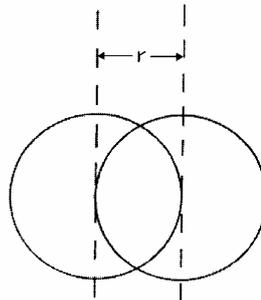


Fig. 7 – Schema del limite di risoluzione per i centri di confusione corrispondenti a due punti-immagine: la loro distanza reciproca è pari al loro raggio (r).

Questa figura teorica viene in pratica alterata da:

- 1) luce diffusa nel sistema (riflessioni alle superfici delle lenti o del tubo, imperfezioni del vetro, ecc.)
- 2) errori di fabbricazione (superfici non sferiche delle lenti, inomogeneità del vetro, ecc.)
- 3) errori di montaggio (di centratura od orientamento delle lenti ed altre parti ottiche interposte)
- 4) errori di messa a fuoco (vedi fig. 4, curva 2) che ne allargano comunque il diametro
- 5) aberrazioni del punto.

In un microscopio anche di media qualità, le aberrazioni del punto sono normalmente trascurabili "in asse" (regione centrale del campo visuale, vicino all'asse ottico), per cui qui è in genere possibile osservare la centrica quasi ideale. Anche le cause descritte ai punti 1) e 2) sono normalmente trascurabili, almeno cogli obbiettivi non troppo forti.

Ricordiamo per inciso che la risoluzione, cioè la possibilità di vedere distinti due punti immagine, si accetta come soddisfacente quando i due punti distano fra loro almeno come il

raggio del disco di Airy⁶ (fig. 5, 6 e 7). In queste condizioni, il centro del disco di Airy di ognuna delle due centriche cade sul primo anello nero dell'altra centrica. Poiché il raggio del disco, come risulta dal calcolo, è:

$$r' = 0,61 \lambda / n' \sin \alpha'$$

in cui $n' \sin \alpha'$ è l'apertura numerica della lente dal lato immagine, " r' " risulta anche la distanza minima risolvibile, quindi il limite superiore teorico della risoluzione, lato immagine.

E' ovvio che la risoluzione è tanto maggiore quanto minore è r' ; diciamo anche che⁷, se due punti immagine distano meno di r' non si risolvono, quindi non vengono visti separati, cioè risolti.

Il discorso di sopra si applica al lato immagine ($n' \sin \alpha'$, abbiamo detto, è quella dal lato immagine). Ma si può eseguire concettualmente un trasferimento delle centriche sul piano oggetto, come se esistessero delle centriche dal lato oggetto geometricamente corrispondenti a quelle lato immagine, e sul lato oggetto si ripete quanto detto sopra: il raggio r del disco di Airy è ancora: $r = 0,61 \lambda / n \sin \alpha$, in cui $n \sin \alpha$ si riferisce al lato oggetto ed r è il limite di risoluzione lato oggetto⁸. Valutare la risoluzione lato oggetto ci indica quali sono le dimensioni delle più piccole strutture che lo strumento ci consente di vedere distinte.

▪ E ancora: cosa avviene se due o più punti-oggetto distano fra loro meno di r ? Essi, globalmente, produrranno una centrica indistinguibile da quella prodotta da un unico punto, posto al mezzo dei punti oggetto citati (fig. 5, a sinistra, in alto). In altre parole, si può "percepire" la presenza di un oggetto anche quando è assai più piccolo del limite di risoluzione, cioè se ne "percepisce" l'esistenza anche se non si può risolvere la sua struttura, cioè osservare la sua forma.

Così, se r è il limite di risoluzione o di "separazione" di punti distinti, avremo un limite di "percezione" per oggetti piccoli molto inferiore ad r : per un oggetto circolare opaco su fondo chiaro, di diametro P , il limite di percezione è circa: $P = r/5$; per una linea oscura su fondo chiaro, di larghezza L , il limite è ancora minore: $L = r/60$ (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 15).

Se invece l'oggetto è luminoso su fondo scuro, il limite di P è dato solo da considerazioni fotometriche: ogni oggetto chiaro, comunque piccolo, è visibile su fondo scuro purché emetta una quantità di radiazione sufficiente ad eccitare la retina dell'osservatore o una lastra fotografica, ed il fondo sia abbastanza scuro da dare un contrasto di almeno il 3%. È questo il principio della "ultra-microscopia", che non è altro che l'osservazione in campo oscuro di oggetti più piccoli del limite di risoluzione. ▪▪

In ogni caso, un sistema ottico è "otticamente perfetto" se, di un punto-oggetto, esso fornisce una centrica essenzialmente eguale a quella teorica; non è "perfetto" se la centrica è deformata in modo apprezzabile a causa della presenza di aberrazioni del punto; esistono vari criteri matematici per valutare questa deformazione⁹.

Per quanto riguarda il "punto-oggetto", esso va considerato "otticamente puntiforme" quando è così piccolo che la sua immagine geometrica ha un diametro (dato dal diametro dell'oggetto moltiplicato per l'ingrandimento del sistema) molto minore di $2r'$. In queste condizioni, quel punto fornisce un'immagine assimilabile ad una centrica ideale, le sue dimensioni sono trascurabili e quindi esso, otticamente, è un vero punto.

--- Lo "STAR TEST"

In astronomia, per controllare la qualità ottica del telescopio, si osserva una stella piccola (da cui il nome di "star test" o "controllo della stella") e si verifica se il sistema ne fornisce una figura di diffrazione ideale o alterata. Si usa così un oggetto puntiforme naturale.

In microscopia, si creano oggetti puntiformi in vario modo.

Il più semplice è spruzzare di polvere un vetrino ed illuminarlo fortemente in campo

⁶ I "disco di Airy" è il cerchio centrale, il più luminoso, della centrica, che contiene l'84% del flusso totale dell'intera figura.

⁷ secondo il classico "criterio di Lord Rayleigh", normalmente accettato.

⁸ Per una misura diretta della risoluzione, vedi l'appendice 1).

⁹ Per tali sistemi "otticamente perfetti", in inglese esiste una definizione molto sintetica: "diffraction limited", che corrisponde all'italiano "limitato dalla sola diffrazione".

scuro o almeno con illuminazione laterale, per es. con un “faretto” a fascio concentrato o con una microlampada (per es. del tipo per stereomicroscopi). Cercando con pazienza fra i granuli più piccoli, se ne troverà sempre qualcuno così piccolo da mostrare una centrica riconoscibile. Iniziare la ricerca al centro del campo.

Industrialmente, si sottopone una lamina di vetro plan-parallela (un normale porta-oggetto) ad una alluminazione sotto vuoto. La presenza di polvere o altre irregolarità provoca sempre nello strato di alluminio un gran numero di fori di ogni forma e dimensione¹⁰. Si ricopra il vetrino, cioè lo star-test, con un copri-oggetto o lamella dello spessore previsto dall'obbiettivo in esame. Si osservi il test con un obbiettivo di buona qualità; cercando un po', si vedranno immagini di varia intensità; le più intense mostreranno forma irregolare: i fori sono troppo grandi e la loro immagine geometrica è più grande della centrica; andando verso le immagini sempre meno intense, si vedranno anche immagini sempre più piccole finché, da un certo punto in poi, diminuisce solo l'intensità, mentre forma e dimensioni restano costanti: vuol dire che l'immagine geometrica è più piccola della centrica e quindi si osserva solo quest'ultima. Vicino all'asse si dovrà vedere un disco di Airy con almeno due anelli¹¹.

Quando si osservano con lo star test delle centriche regolari, (ed abbiamo detto che ciò deve avvenire con ogni buon strumento vicino all'asse), significa che quello strumento fornisce il massimo teorico della risoluzione; esso cioè è “otticamente perfetto”, come detto sopra, e nessuna abilità del costruttore o ulteriore riduzione delle aberrazioni può superare quel limite.

In quelle condizioni è inutile misurare la risoluzione: essa è data semplicemente da r ed è legata (supponendo di operare in luce bianca) solo dall'apertura, come risulta dalla formula citata sopra.

Anzi, disponendo di obbiettivi con diaframma ad iride incorporato (come quelli ad immersione per campo oscuro) è facile vedere la centrica che si allarga e si stringe mentre si chiude e si riapre il diaframma.

I fori più grandi dello star test sono ovviamente incapaci di dare una centrica regolare. Essi possono però servire ad altri scopi:

- Se posti ai bordi del campo, possono servire a valutare la cromatica laterale, per gli stessi motivi sopra detti per i reticoli a righe, benché questi ultimi siano assai più pratici.

- Al centro, possono servire per il controllo della cromatica longitudinale.

- In ogni caso, fornendo un oggetto molto luminoso su fondo scuro, servono a valutare le “immagini catadiottriche”. Sono, queste, immagini spurie che si formano a causa di riflessioni (“cata”) indesiderate alle superfici delle lenti e di rifrazioni (“dia”) nelle lenti stesse, immagini estranee alla formazione dell'immagine principale. Si possono così formare immagini di qualunque dimensione e posizione, generalmente allineate lungo un diametro del campo, che si sovrappongono all'immagine dell'oggetto e riducono il contrasto. Il fondo scuro fornito dallo star test aiuta a rivelare la presenza della cata-diottriche.

Si ricordi ancora che, negli obbiettivi a contrasto di fase, l'anello di fase provoca una alterazione della centrica rispetto a quella di un identico obbiettivo non di fase: il disco di Airy è più piccolo (si può quindi avere un leggero aumento di risoluzione), ma gli anelli sono assai più intensi: se ne vedono 4 o 5 almeno. Questo provoca uno sparpagliamento del flusso contenuto nella centrica, quindi un velo di luce costituito dalla sovrapposizione di tutti gli anelli di tutti i punti-immagine, e quindi una perdita di contrasto.

Anche negli obbiettivi planari, a causa dell'alto numero di lenti, si possono avere delle centriche anomale, con anelli poco netti.

A questo punto, si pensi che un microscopio è formato otticamente da superfici sferiche o piane centrate su un asse geometrico comune (“asse ottico”). Quindi tutto il sistema

¹⁰ Come fornitori di star test valgono i due indirizzi già citati all'inizio a proposito dei reticoli.

¹¹ Inevitabili imperfezioni renderanno poco definita la centrica fornita da obbiettivi forti, specie ad immersione.

possiede un asse di simmetria rotatoria che è l'asse ottico.

Qualunque punto-oggetto posto sull'asse, quindi, deve produrre un'immagine, anche se sfocata, simmetrica attorno all'asse, e con andamento circolare.

Una centrica non circolare, benché sull'asse, può esser dovuta solo a qualche elemento non simmetrico rispetto all'asse: una lente non centrata, una lente od un prisma con superfici non perpendicolari all'asse, inomogeneità dei vetri, una superficie non sferica, ecc. Quando una centrica appare simmetrica attorno all'asse, è bene fare un altro controllo prima di concludere che tutte le centrature del sistema sono perfette: si porti il forellino dello star test in almeno quattro posizioni distribuite uniformemente lungo i margini del campo visuale; le figure che si osserveranno, e che saranno più o meno allungate (qualche residuo di aberrazioni sui bordi del campo c'è sempre) debbono essere sempre le stesse e la loro direzione di allungamento deve essere sempre diretta parallelamente o perpendicolarmente ad un raggio passante per l'asse.

Nella formula che esprime il raggio della centrica, sopra considerata, compare la lunghezza d'onda λ . Questo significa che r dipende da λ ; quindi, osservando la centrica in luce bianca, i suoi orli sono bordati di rosso (r è maggiore per le maggiori lunghezze d'onda). Ma si tratta di un fatto poco percettibile. Comunque è ovvio che, usando radiazioni a corta λ (blu-viola, UV, ecc.) è possibile in linea di principio aumentare il potere risolutivo. In pratica però vi sono troppe difficoltà per seguire questa strada.

Quando si usa lo star test, l'onda emergente dal foro nello strato metallico è dovuta essenzialmente alla diffrazione. Quindi non ha importanza l'apertura del condensatore. Per ragioni fotometriche è però utile aumentare al massimo tale apertura aprendo il diaframma, diminuendo la focale (inserendo la lente frontale estraibile, se presente), eventualmente con la immersione del condensatore, ecc. Questo va ricordato durante i controlli della sferica, coma ed astigmatismo.

Quando si passa da un'obiettivo debole ad uno più forte, la centrica normalmente appare più grande. La ragione è questa: nello schema di obiettivo sotto disegnato, si noti che l'ingrandimento dell'obiettivo (Mob) è pari al rapporto fra le due distanze "coniugate": $a = AO =$ coniugata oggetto = distanza oggetto-obiettivo ed $a' = OA' =$ coniugata immagine = distanza obiettivo-immagine; dunque $Mob = a'/a = OA'/AO$.

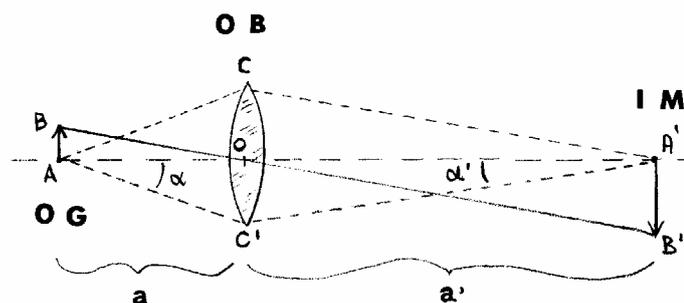


Fig. 8 – Schema di obiettivo

Questa formula si dimostra ricorrendo alle proprietà dei due triangoli simili AOB ed A'OB', e ricordando che $Mob = A'B'/AB$, per definizione.

Poiché i due coni di raggi con vertice in A ed A' hanno in comune la base, cioè il diaframma della lente, anche il rapporto delle aperture lato oggetto e lato immagine ($n \sin \alpha$ ed $n' \sin \alpha'$) è all'incirca uguale al rapporto delle distanze AO ed OA', cioè ad Mob . Ciò è rigoroso solo con un sistema aplanatico che possiede piani principali sferici, in cui si può supporre $AO = AC$ e $\sin \alpha = CO/AC = CO/AO$.

Poiché il diametro della centrica lato immagine, quella che si vede nell'oculare, dipende

dall'apertura lato immagine, per avere lo stesso diametro in tutti gli obiettivi occorrerebbe che anche l'apertura lato immagine fosse costante e quindi che l'apertura lato oggetto crescesse in proporzione ad Mob, il che non avviene.

Per esempio, si pensi ad un obiettivo con $Mob = 4:1$ e ad un obiettivo con $Mob = 40:1$. Nell'obiettivo più forte, per quanto detto sopra, il rapporto fra le aperture lato oggetto e lato immagine è $40:1$; nell'altro obiettivo è $4:1$. Se la centrica lato immagine deve essere la stessa, anche l'apertura lato immagine deve essere la stessa, quindi le aperture lato oggetto dovrebbero essere nello stesso rapporto degli ingrandimenti, cioè $40:4 = 10:1$

Ma l'obiettivo 40 ha una apertura mediamente di 0,7, mentre l'obiettivo 4 ha un'apertura di circa 0,1. Dunque il rapporto delle aperture ($7:1$) è a sfavore di quello forte il quale, in proporzione, ha un'apertura minore, quindi una centrica più grande.

Mob	NA	NA/Mob × 1.000
4	0,12	30
10	0,25	25
20	0,45	22,5
40	0,65	16
60	0,85	14
100	1,30	13

Si osservi questa tabella, che raffronta Mob ed NA di una serie di obiettivi correnti. Nella terza colonna si indica il rapporto fra apertura NA ed ingrandimento Mob, dopo averlo moltiplicato per 1.000 al fine di eliminare la virgola.

Si nota che gli obiettivi più forti vedono la propria NA crescere, ma in misura minore di Mob: hanno un difetto di apertura che si ripercuote dal lato immagine, e quindi nel diametro della centrica, che apparirà più grande.

Lo star test si può usare anche con un microscopio stereoscopico. La centrica apparirà piuttosto grande con gli ingrandimenti forti a causa della debole apertura degli obiettivi stereoscopici e sarà spesso deformata dalla presenza di sensibili aberrazioni, specie se lo schema seguito dal costruttore è quello di Abbe, ad obiettivo unico (CMO), poiché i due "canali" ottici attraversano l'obiettivo fuori dal suo asse.

Sia lo star test che i reticoli-oggetto sopra visti per il controllo della distorsione, curvatura e cromatica, non sono reperibili nel mercato dei microscopi, ma solo presso industrie specializzate: il costruttore non ama che il cliente possa eseguire controlli approfonditi sui suoi prodotti; del resto non è ingiustificata una sfiducia nella competenza tecnica del cliente medio. Quei reticoli-oggetto vanno quindi ordinati espressamente ad una industria di trattamenti sotto vuoto.

Ma torniamo alle aberrazioni del punto, acromatiche.

La SFERICA

Questa aberrazione consiste in una variazione della focale, quindi della posizione dell'immagine, al variare dell'apertura, cioè considerando raggi che attraversano la lente a diversa distanza dall'asse.

Si presenta su tutto il campo, ma conviene osservarla in asse per evitare il sovrapporsi della coma e dell'astigmatismo.

Alla sferica contribuiscono: l'obiettivo, la lamella, la lunghezza del tubo e, in piccola misura, i prismi del tubo e l'oculare. La lamella è interposta fra oggetto ed obiettivo e quindi fa parte del sistema ottico del microscopio.

Spesso, un residuo di sferica nell'obbiettivo si può correggere con un diverso spessore "d" della lamella o una diversa lunghezza di tubo; un copri-oggetto troppo sottile, con un errore di spessore pari a Δd si compensa allungando il tubo di una lunghezza Δt ; la formula è: $\Delta t = \Delta d \cdot \text{Mob}^2/250$ in cui Δt si esprime in mm e Δd in centesimi di mm. Mob è l'ingrandimento dell'obbiettivo (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 13.2.3).

La sferica è esprimibile come diametro del "cerchio di confusione" in quanto vi sono tante immagini di ogni punto oggetto quanti sono i valori di apertura, quindi non esiste un fascio che converga in un punto definito, bensì esso si restringe in una zona di minor diametro per poi riallargarsi. Tale fascio è chiamato "caustica". Il "cerchio di confusione" in questo caso è la sezione del fascio nel punto più stretto.

Ebbene, il diametro del cerchio di confusione è proporzionale al cubo dell'apertura dell'obbiettivo. Pertanto la sferica è via via più critica passando da obbiettivi deboli a forti. Poiché alla sferica dà un contributo anche la lamella, anche questo contributo è proporzionale al cubo dell'apertura dell'obbiettivo; quindi gli obbiettivi forti sono assai sensibili allo spessore della lamella; uno scarto "nello spessore "d" pari a $\pm 0,01$ mm produce già effetti sensibili. Pertanto, a volte gli obbiettivi forti (con NA maggiore di 0,7) hanno un collare o ghiera girevole di correzione che permette di variare la posizione di una lente (spesso è il 1° menisco sopra la frontale) e quindi la correzione della sferica dell'obbiettivo. Questa aberrazione è infatti molto sensibile alla distanza fra le lenti e molti costruttori, per non stringere troppo le tolleranze di fabbricazione, interpongono fra una lente e l'altra, in sede di assemblaggio, un numero variabile di sottilissimi anelli distanziali (spesso di alluminio, spessore 0,01 mm) fino ad ottenere il miglior compromesso (vedi il manuale "Problemi tecnici della microscopia...", Cap. 13.2.3).

NB : Si ricordi che la lamella, da sola, produce una sferica sovracorretta, cioè di segno opposto a quella di una lente semplice non corretta; quindi i raggi marginali corrispondono ad una focale maggiore di quella dei raggi parassiali, invece che ad una focale minore, come nella lente sottocorretta o non corretta. Quindi un obbiettivo normale, calcolato per $d = 0,17$ mm, è di per sé, quando è usato senza lamella, sottocorretto.

L'assenza di sferica si controlla con lo star test osservando un "punto" come sopra definito, e variando leggermente la messa a fuoco di pari entità sopra e sotto la posizione di miglior fuoco. In queste condizioni, si vedrà la centrica allargarsi, il disco centrale rimpicciolire fino a scomparire, magari gli anelli allargarsi ed aumentare di intensità e di numero, ma le due figure sopra e sotto il miglior fuoco, debbono essere identiche. Qualunque dissimmetria fra queste due figure (fig. 9) è indice di sferica ma, prima di incolpare l'obbiettivo, è bene essere sicuri che la lunghezza del tubo sia quella prevista dal costruttore (esistono tubi di lunghezza regolabile, specie monoculari, e tubi binoculari di lunghezza non costante) e lo spessore della lamella sia corretto.

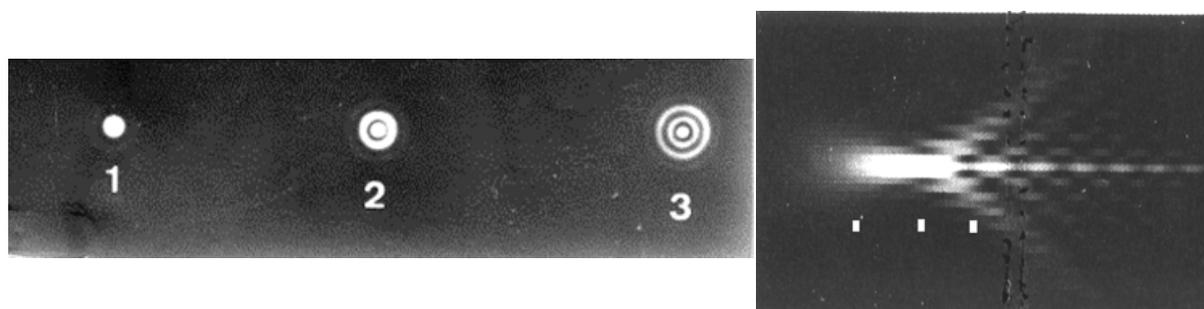


Fig. 9 – Sinistra - Centriche in un obbiettivo affetto da aberrazione sferica, riprese sotto o sopra il piano di miglior fuoco (a destra ed a sinistra) o nel miglior fuoco (al centro). L'immagine "sfumata" a sinistra, in particolare l'alone, è poco visibile a causa del forte contrasto che l'emulsione fotografica non riesce a registrare. Ben visibile invece è l'immagine "ad anelli" (a destra). Nell'immagine col miglior fuoco (al centro) il primo anello è assai più intenso del normale.

Destra – sezione longitudinale assiale di un fascio convergente nei pressi della regione di miglior fuoco. In

corrispondenza del rettangolino bianco di sinistra: immagine sfumata. Sul rettangolino centrale: il miglior fuoco. Rettangolino a destra: immagine ad anelli. Questa differenza fra le immagini a destra e sinistra (focheggiatura sopra o sotto il miglior fuoco) è ancora dovuta ad un residuo di sferica. Si noti, verso destra, un successione di macchie chiare accompagnate (sopra e sotto) da macchie sempre più deboli: è ciò che appare progredendo colla sfocatura, e cioè disco centrale alternativamente chiaro e scuro circondato da anelli sempre più larghi e più pallidi.

Chi confeziona lo star test, dovrà misurare bene lo spessore della lamella prima di incollargliela e dovrà schiacciarla con un pesino finché il Balsamo del Canada non è indurito (almeno una settimana, e non ci si fidi se indurisce sui bordi della lamella: al centro può rimanere molle per anni). Nel caso di preparati già fatti, si può controllare lo spessore della lamella misurando lo spessore del preparato dentro e fuori la lamella (basta un "Palmer" centesimale, fig. 10) e facendo la differenza delle due letture. Se però l'oggetto è incollato alla lamella invece che al porta-oggetti si può commettere un errore a causa dello strato di balsamo rimasto fra oggetto e porta-oggetto.

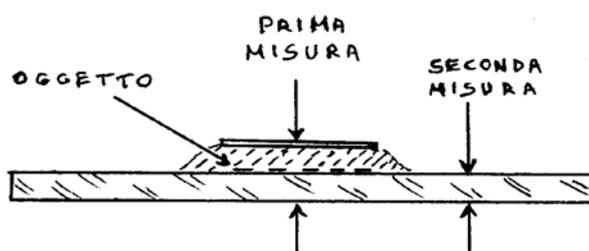


Fig. 10 – Schema delle misure da effettuare per calcolare lo spessore della lamella + resina sottostante

Per essere certi che non esista sferica, si può anche osservare semplicemente la centrica in condizioni di miglior fuoco, in asse: gli anelli debbono essere nitidi, ma molto più pallidi del disco; se ne debbono vedere solo un paio. Un numero o una intensità maggiore degli anelli indicano un residuo di sferica, di qualunque origine (obbiettivo, lamella, tubo), o un errore di messa a fuoco o la presenza di un anello di fase o di altri disturbi ottici (fig. 9 – 2). A questo punto, entra in gioco l'esperienza dell'operatore per una corretta valutazione.

Se esiste sferica, la centrica nel miglior fuoco assomiglia a quella normale, ma il disco centrale è più grande e gli anelli più intensi. Variando in un senso la messa a fuoco, gli anelli scompaiono, il disco rimpiccolisce fino a scomparire anch'esso e rimane solo una macchia sfumata senza struttura, semplicemente più chiara al centro; è questa "l'immagine sfocata" (fig. 9 a sinistra). Alterando la messa a fuoco in senso opposto, il disco centrale rimpiccolisce, poi diventa scuro, poi diventa ancora chiaro e così via, mentre gli anelli aumentano di numero, di diametro e, all'inizio almeno, anche di intensità: è questa la "immagine ad anelli" (fig. 9 a destra).

Per chiarirsi le idee su tutto questo, centrica, effetti della sfocatura, della sferica, ecc., non c'è che osservare uno star test ben illuminato, portare al centro un forellino abbastanza piccolo (è detto sopra come si fa a sceglierlo), inserire un obbiettivo a secco medio (va bene un 40/0,65 non planare né apocromatico) ed un oculare forte. Se l'obbiettivo è normale, cioè calcolato per una lamella di spessore $d = 0,17$ mm, si ricopra lo star test con una lamella calibrata con $d = 0,17 \pm 0,01$ mm e si dovrebbe vedere una centrica quasi ideale, che si sfuoca allo stesso modo sopra e sotto la posizione di miglior fuoco. Se ora, con quel medesimo obbiettivo, si osserva il test fuori della lamella, cioè con $d = 0$, si introduce una sferica sotto-corretta: la focheggiatura "corta" (con l'obbiettivo che si avvicina all'oggetto) dà l'immagine "ad anelli" e la focheggiatura "lunga" dà l'immagine "sfuocata".

Se si usa il medesimo obbiettivo con due lamelle, oppure un obbiettivo episcopico (calcolato per $d = 0$) con una sola lamella, si introduce uno spessore di vetro con $d = 0,17$ mm in più rispetto a quanto previsto nel calcolo dell'obbiettivo, e si riottengono le stesse

figure, ma gli effetti della foceggiatura corta e lunga sono invertiti.

Allo stesso modo, con una lamella normale ed un tubo troppo lungo, si ha l'immagine ad anelli alzando l'obbiettivo e quella sfuocata abbassandolo; col tubo corto, si ha l'immagine ad anelli abbassando l'obbiettivo e quella sfuocata alzandolo.

Quindi il tubo troppo corto produce una sferica sottocorretta come una lamella troppo sottile.

Vedi anche l'Appendice 2.

Tutti i discorsi condotti finora sul funzionamento degli obbiettivi fanno tacitamente riferimento ad obbiettivi "classici", cioè con la seconda coniugata non infinita. Però è facile applicarli agli obbiettivi "corretti per l'infinito" (in cui l'immagine prodotta dall'obbiettivo si trova a distanza infinita, e viene riportata nell'oculare dalla "lente di tubo"): basta considerare l'obbiettivo come un sistema convergente equivalente composto di due parti: l'obbiettivo vero e proprio + la lente di tubo.

Questo sistema equivalente, data la potenza aggiuntiva della lente di tubo, avrà una focale complessiva più corta di quella dell'obbiettivo da solo; quindi l'oggetto (a fuoco) disterà dall'obbiettivo di una coniugata leggermente superiore alla focale complessiva e l'immagine disterà di una coniugata superiore al doppio della focale. Il sistema equivalente obbiettivo + lente di tubo si comporta quindi come un obbiettivo classico a coniugate finite.

La COMA

Deriva da un diverso ingrandimento al variare dell'apertura: di un punto oggetto fuori asse si hanno tante immagini a diversa distanza dall'asse, che globalmente danno una figura di "coma" o cometa. La lunghezza di questa coda è circa proporzionale al quadrato dell'apertura dell'obbiettivo.

Se il residuo di coma è lieve, si osserva una parte degli anelli della centrica in direzione dell'asse ed una coda sfumata verso l'esterno (o viceversa).

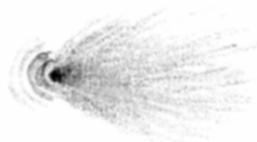


Fig. 11 – Schema di una tipica figura di coma

La coma è una aberrazione extra-assiale, come l'astigmatismo, cioè esiste solo "fuori asse". Una figura di coma in asse indica con certezza un qualche elemento di dissimmetria del sistema: in genere si tratterà di un errore di centratura di qualche lente, ma può trattarsi di un errore di curvatura di qualche superficie, di inomogeneità nel vetro, ecc.

L'utente, in certi casi, può correggere questi errori di centratura purché il costruttore lo abbia previsto: se i barilotti delle singole lenti sono avvitati l'uno sull'altro, oppure se entrano tutti serrati nella loro sede, solo un robusto intervento meccanico può rimediare alla scentratura; se invece una lente, sotto quella emergente, di un obbiettivo di formula classica è montata in un barilotto più piccolo della sua sede, allentando la ghiera a vite che serra tutto il pacco lenti, si può spostare il barilotto a diametro ridotto ("flottante") pur tenendolo perpendicolare all'asse. Per questo spostamento, sono previsti fori laterali nel barilotto generale (3 o 4 fori, a volte filettati per consentire l'uso di vitoline); con una punta o una vite si spinge il barilotto flottante attraverso uno dei fori, per tentativi, finché in asse si ottiene una centrica di forma circolare. Poi si serra la ghiera e si ricontrolla. I fori di centratura sono generalmente nascosti dalla camicia esterna dell'obbiettivo.

Si noti che questa centratura, ove possibile, è uno dei pochi interventi consentiti all'utente; nel caso della sferica si possono solo modificare gli eventuali anelli distanziali o la lunghezza del tubo; nel caso della cromatica laterale si può solo cambiare il tipo di oculare ed eventualmente il tipo di tubo.

Se vi è un residuo di coma solo fuori asse, la coda della figura in tutti i punti dell'orlo del campo visuale deve essere sempre "sagittale", cioè diretta secondo un raggio, verso il centro del campo o in senso opposto, ma sempre radialmente. Se si osserva una coda non diretta radialmente si ha anche o solo una scentratura.

Se si osserva una figura allungata "tangenziale", cioè tangente all'orlo del campo, si tratta in genere di astigmatismo (vedi sotto).

NB: In tutti i casi di aberrazioni extra-assiali è bene usare un oculare col massimo indice di campo previsto dal costruttore, al fine di esplorare tutto il campo immagine dell'obbiettivo.

L'ASTIGMATISMO

È un'altra aberrazione acromatica extra-assiale. In un sistema centrato, non deve esistere sull'asse, per i soliti motivi di simmetria.

Consiste nel fatto che l'immagine di un punto-oggetto non è "stigmatica", cioè puntiforme, ma allungata ("astigmatica", dal greco "stigma" = punto).

In particolare, l'astigmatismo produce di ogni punto-oggetto fuori asse due immagini allungate (le "focali" o "focaline" astigmatiche): una più vicina alla lente, diretta tangenzialmente, l'altra, più lontana, sagittalmente (radialmente). La distanza fra le due focali e la loro lunghezza crescono partendo dall'asse verso i bordi, col quadrato del campo, cioè della distanza dall'asse; la lunghezza è direttamente proporzionale all'apertura. Fra le due focaline, il fascio acquista una sezione sub-circolare e la sua sezione in quel punto rappresenta il "cerchio di minima confusione".

Le due superfici ("nappe") contenenti le focaline sagittali e tangenziali sono curve con la concavità verso l'oggetto; è questo un altro modo di presentarsi della curvatura di campo, la quale consiste nella curvatura non di un ideale "piano immagine" ma delle due superfici astigmatiche di cui è fatta l'immagine. Naturalmente, le due nappe si toccano sull'asse, e quindi sull'asse la distanza e le dimensioni delle due focaline astigmatiche si annullano. Che è come dire che sull'asse non c'è astigmatismo.

Usando la micrometrica, si può anche misurare la distanza, in direzione parallela all'asse, fra le due focaline, ma questo non è molto interessante.

Quando l'astigmatismo è quello teorico, si è detto, si presenta solo fuori asse, e le due focali, che si rendono visibili variando la messa a fuoco, debbono essere rigorosamente orientate in senso sagittale e tangenziale. In caso contrario c'è anche scentratura.

Se l'astigmatismo si verifica in asse (non contentarsi di vedere una centrica allungata: potrebbe essere coma; occorre variare la messa a fuoco ed osservare due focali a 90° l'una dall'altra) allora si tratta probabilmente di "tilt", cioè di non perpendicolarità rispetto all'asse di qualche superficie: un certo astigmatismo viene introdotto, per es., da quegli illuminatori episcopici o da quei tubi da disegno che contengono una lamina semi-riflettente a facce parallele, a 45° sull'asse.

Può trattarsi anche di una superficie male lavorata o di inomogeneità del vetro.

Se si ritiene probabile il "tilt" di qualche lente, si può smontare l'obbiettivo e verificare che il tilt non dipenda da un granello di polvere o da una "bava" metallica che si interpone fra due barilotti.

Riassumendo, per rivelare sia la coma che l'astigmatismo, occorre rivelare una forma della centrica o semplicemente del cerchio di confusione che sia non circolare, ma allungata.

A volte, questo allungamento risulta più evidente non nella posizione di miglior fuoco ma leggermente fuori, specie se si ottiene un'immagine "ad anelli" (vedi sopra);

naturalmente, tutto quello che si è detto prima sull'orientamento della "coda" della figura di coma e delle "focali" allungate dell'astigmatismo rimane valido.

Dal punto di vista dell'immagine microscopica e della risoluzione, quello che conta è la dimensione della centrica quale appare deformata dalle varie aberrazioni del punto; per cui occorre misurare obiettivamente il peso globale delle aberrazioni (o di una sola nel caso che si possa ammettere che le altre sono trascurabili, ma fuori asse questo è difficile) misurando il diametro del cerchio di confusione comprensivo di centrica ideale e di tutte le aberrazioni del punto che vi sono sovrapposte.

Misurare quel diametro con lo star test ed un micrometro oculare è in genere impossibile dato che il fondo è scuro. Meglio è prendere come unità di misura il diametro del disco centrale di una buona centrica osservata sull'asse. Ciò dà un'idea dell'eventuale deformazione della centrica operata dalle aberrazioni in altre zone del campo. Questa unità di misura si può chiamare "unità di diffrazione" (u.d.).

Per finire, si pensi alla relazione fra diametro del cerchio di confusione globale, dovuto alla somma delle sole aberrazioni, e focale dell'obiettivo. Si ignori per ora la centrica.

Dati due obiettivi di pari apertura ma di diversa focale, si può pensare che quello a focale più corta rappresenti una riduzione in scala di quello più lungo, con tutte le sue dimensioni lineari ridotte nella stessa misura. Ebbene, poiché il cerchio di confusione dipende dalle aberrazioni (abbiamo escluso l'effetto della diffrazione, cioè la centrica), quindi dipende da fenomeni geometrici, anche il cerchio di confusione sarà ridotto nella stessa scala. Questo significa che gli obiettivi più potenti hanno un cerchio di confusione più piccolo e quindi possono dare una risoluzione maggiore (lato oggetto!). E questo è un discorso puramente geometrico.

Per la centrica, il discorso è diverso: dalla formula citata sopra è chiaro che, operando in luce bianca, r dipende solo dall'apertura. La focale non entra nella formula, anche se le focali minori (obiettivi più forti) comportano in genere maggiori aperture.

La riduzione del cerchio di confusione col diminuire della focale è una delle ragioni per cui gli obiettivi da microscopio raggiungono facilmente la risoluzione teorica (legata alla sola diffrazione), mentre ciò è difficilissimo in altri tipi di obiettivi.

Rispetto, ad es., ad un obiettivo fotografico, l'obiettivo da microscopio gode di altri vantaggi:

- opera ad ingrandimento fisso, e ciò permette al progettista di ottimizzare i calcoli;
- opera ad apertura fissa, con lo stesso vantaggio;
- le sue piccole dimensioni consentono l'uso di materiali rari e costosi come la fluorite;
- le piccole dimensioni rendono più improbabili le inomogeneità negli "sbozzi" di vetro ottico;
- trattandosi di prodotti professionali, la riduzione del prezzo ha meno influenza nel determinare soluzioni di compromesso nel progetto e nella fabbricazione;
- in molti casi è possibile tollerare la curvatura di campo;
- non esiste quasi mai il problema di ridurre il peso e l'ingombro del sistema ottico, e quindi lo spessore delle lenti;
- il campo angolare è piccolo; i massimi campi immagine degli obiettivi grandangolari danno un campo angolare non superiore ad 8° .

APPENDICE 1

Per misurare direttamente la risoluzione, in linea di principio, sarebbe sufficiente un reticolo contenente righe parallele opache e trasparenti, sempre più fini e ravvicinate. Si osserva, con una certa combinazione ottica, quale è il reticolo più fine che ancora si risolve ed il passo di quel reticolo dà il potere risolutivo cercato. Però ...

Per via ottica e fotografica, il passo più piccolo che si può ottenere per le righe è legato alla risoluzione massima teorica, che è circa $\lambda/2$, cioè non migliore di $0,22 \mu$; ma questo non basta in microscopia, perché questo è proprio il limite di risoluzione dell'obbiettivo da microscopio più forte. Simili reticoli sono utili per obbiettivi fotografici o di altro genere.

Per avere linee più fini, in linea di massima si ricorre a mezzi meccanici, cioè ad una macchina tracciatrice che produce solchi paralleli su una lastrina di vetro facendovi scorrere sopra una punta di diamante e spostando lateralmente la punta dopo ogni solco a mezzo di una vite di precisione. Con questo mezzo venivano prodotte le "piastrine di Nobert", oggi introvabili, con un passo minimo di $0,11 \mu$. Esse furono prodotte fra il 1845 ed il 1873 in Germania.

In assenza di meglio, si ricorre a "reticoli" naturali, cioè a parti di organismi contenenti strutture periodiche (linee o punti) molto fini. I più comuni sono le scaglie delle ali delle farfalle ed i "frustuli", cioè le due parti del guscio siliceo delle diatomee (alghe unicellulari).

Sia fra le farfalle che fra le diatomee esistono moltissime specie utilizzabili come test di risoluzione, con "passo di reticolo" anche finissimo (vedi la Tabella I).

I principali inconvenienti di questi reticoli naturali sono:

- Il passo del reticolo non è del tutto costante, neppure nello stesso individuo.
- L'oggetto non è piano né sottile e pone dei problemi di messa a fuoco con gli obbiettivi forti.

- Specie i frustoli di diatomee, sono molto trasparenti: si tratta di "oggetti di fase", privi di assorbimento proprio, capaci solo di sfasare l'onda che li attraversa. Il contrasto è spesso molto debole e rimane sempre il dubbio se la mancata risoluzione dipenda dalla struttura troppo fine o dal contrasto insufficiente: in certi casi, un frustulo non risolto in campo chiaro viene risolto in contrasto di fase. Per aumentare il contrasto, conviene montare questi oggetti con mezzi di inclusione di indice molto basso (acqua, glicerina, ecc.) o molto alto (sostanze di montaggio speciali) Per gli obbiettivi a contrasto di fase o contrasto interferenziale naturalmente il problema del contrasto si pone in misura assai minore.

- È quasi impossibile costruire una serie continua di reticoli naturali, nel senso di una successione di reticoli con valori del passo equidistanti fra un valore massimo ed uno minimo. I preparati di diatomee del commercio contengono spesso solo 5 o 6 frustuli: una serie troppo incompleta.

TABELLA I

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
<i>Triceratium favus</i> Ehrbg.	5 - 6	180	0,06
<i>Navicula dactylus</i> (strie trasversali)	2,2	450	0,15
<i>Pinnularia nobilis</i>	1,90	520	0,20
<i>Pinnularia opulenta</i> Hust	1,5	660	0,23
<i>Pinnularia viridis</i>	1,33	750	0,25
<i>Nitzschia brebissoni</i>	1,00	1000	0,35
<i>Synedra pulchella</i>	0,83	1200	0,4
<i>Stauroneis phoenicenteron</i>	0,7	1400	0,45
<i>Navicula lyra</i> Ehrbg. (perle)	0,7	1400	0,45
" " " (strie)	1	1000	0,35
<i>Gyrosigma (Pleurosigma)</i>			
<i>balticum</i> Ehrbg	0,7	1400	0,45
<i>Nitzschia ungarica</i>	0,62	1600	0,55
<i>Pleurosigma attenuatum</i>	0,62	1600	0,55
<i>Grammatophora marina</i>	0,62	1600	0,55
<i>Nitzschia amphioxys</i>	0,55	1800	0,6
<i>Grammatophora serpentina</i>	0,55	1800	0,6
<i>Pleurosigma angulatum</i> W.Sm.	0,51-0,6	1960-1660	0,65-0,6
<i>Nitzschia sigma</i>	0,50	2000	0,65
<i>Grammatophora oceanica</i>	0,46	2200	0,70
<i>Nitzschia paradoxa</i>	0,46	2200	0,70
<i>Surirella gemma</i> Ehrbg.	0,41-0,44	2350	0,9
<i>Grammatophora macilenta</i>	0,38	2600	0,95
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	0,38	2600	0,95
<i>Nitzschia obtusa</i> Sm.	0,36	2800	1,0
<i>Nitzschia linearis</i>	0,33	3000	1,1
<i>Navicula rhomboides</i>	0,33	3000	1,1
<i>Nitzschia vermicularis</i>	0,31	3200	1,2
<i>Nitzschia tenuis</i>	0,31	3200	1,2
<i>Nitzschia palea</i>	0,29	3450	1,25
<i>Nitzschia curvula</i>	0,28	3570	1,3
<i>Grammatophora subtilissima</i>	0,26	3800	1,35
<i>Amphipleura pellucida</i>	0,24-0,25	4000	1,4

APPENDICE 2

Per il controllo della sferica, E. Abbe aveva ideato una "piastrina di Abbe" costituita da un porta-oggetto su cui è depositato un reticolo a righe opache parallele. Il tutto coperto da una lamella cuneiforme, di spessore variabile da 0,1 a 0,25 mm circa.

La piastrina va messa a fuoco con l'obbiettivo in esame. Con un diaframma decentrabile di apertura (basta un cartoncino forato che si muove a mano sotto il condensatore), si fa in modo che la piastrina sia illuminata alternativamente con un fascio parassiale, cioè col diaframma centrato, e con un fascio marginale, cioè col diaframma posto alla periferia della pupilla d'ingresso del condensatore: nel passare da illuminazione centrata ad obliqua, non si deve osservare nessun cambiamento della messa a fuoco; se invece i raggi parassiali (apertura minima) e quelli marginali (apertura massima) richiedono un cambiamento della messa a fuoco, significa che la focale è diversa, e questa è l'essenza dell'aberrazione sferica.

Spostando il vetrino, e quindi lavorando in punti diversi della lamella, con diverso spessore, si può cercare quel valore dello spessore per cui la sferica è minima.

Questo test non è molto sensibile né pratico. È difficilmente reperibile, ma può essere autocostruito con un normale reticolo (anche un micrometro-oggetto usuale) ricoperto da una o più lamelle di spessore noto: se il micrometro è del tipo a deposito metallico, si può staccare la lamella che lo copre con un moderato riscaldamento; nell'uso, vi si può poggiare sopra una dopo l'altra una serie di lamelle di diverso spessore, preventivamente calibrate, per trovare quella per cui la sferica è minima.

Il diaframma decentrabile, come già detto, si realizza con un cartoncino nero di circa 5×10 cm con un foro centrale di 4 - 6 mm di diametro, che si appoggia sull'orlo inferiore del condensatore. Il diaframma d'apertura sarà naturalmente tutto aperto.