

OPTIKA

M I C R O S C O P E S

I T A L Y

Ver. 3.0.0



B-500DK ***B-500DK-R***



OPERATION MANUAL



MANUAL DE INSTRUCCIONES

OPTIKA MICROSCOPES - ITALY

www.optikamicroscopes.com - info@optikamicroscopes.com



1.0 B-500DK DARKFIELD MICROSCOPE	page 3
2.0 PRINCIPLES OF IMMERSION MICROSCOPY	page 3
3.0 PRINCIPLES OF DARKFIELD ILLUMINATION	page 6
3.1 Darkfield Microscopy at High Magnifications	
4.0 B-500DK DARKFIELD MICROSCOPE CONFIGURATION	page 10
4.1 Troubleshooting	
5.0 TECHNICAL TIPS FOR OIL IMMERSION MICROSCOPY	page 20
6.0 ELECTRICS	page 21
7.0 USING THE RECHARGEABLE BATTERIES	page 22
8.0 RECYCLING AND RECOVERY	page 26



B-500DK is a darkfield system specific for blood analysis with a 1.36 - 1.25 N.A. special extra efficient darkfield condenser and a 100X plan-achromatic objective with adjustable iris diaphragm. The X-LED illumination ensures the high level of light intensity typically needed in high magnification darkfield techniques.

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

In the following manual we present the basics of these methods (chapters 2 and 3) and then we give a step-by-step guide to configuration of B-500DK (chapter 4). General tips for immersion microscopy are also given (chapter 5).

2.0 PRINCIPLES OF IMMERSION MICROSCOPY

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

An objective's numerical aperture is directly proportional to the refractive index of the imaging medium between the coverslip and the front lens, and also to the sin of one-half the angular aperture of the objective. Because sin cannot be greater than 90 degrees, the maximum possible numerical aperture is determined by the refractive index of the immersion medium. Most microscope objectives use air as the medium through which light rays must pass between the coverslip protecting the sample and front lens of the objective. Objectives of this type are referred to as dry objectives because they are used without liquid imaging media. Air has a refractive index of 1.0003, very close to that of a vacuum and considerably lower than most liquids, including water ($n = 1.33$), glycerin ($n = 1.470$) and common microscope immersion oils (average $n = 1.515$). In practice, the maximum numerical aperture of a dry objective system is limited to 0.95, and greater values can only be achieved using optics designed for immersion media.

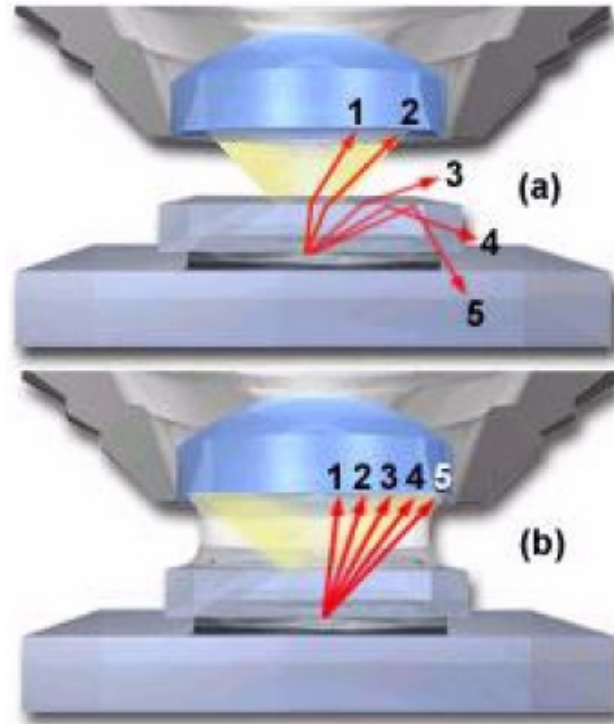


Figure 1 Oil immersion and numerical aperture

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

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

A factor that is commonly overlooked when using oil immersion objectives of increased numerical aperture is limitations placed on the system by the substage condenser. In a situation where an oil objective of $NA = 1.40$ is being used to image a specimen with a substage condenser of smaller numerical aperture (1.0 for example), the lower numerical aperture of the condenser overrides that of the objective and the total NA of the system is limited to 1.0, the numerical aperture of the condenser.



Modern substage condensers often have a high degree of correction with numerical aperture values ranging between 1.0 and 1.40. In order to effectively utilize all the benefits of oil immersion, the interface between the substage condenser front lens and the underside of the microscope slide containing the specimen should be also be immersed in oil. An ideal system is schematically diagramed in Figure 2, where immersion oil has been placed at the interfaces between the objective front lens and the specimen slide and also between the front lens of the condenser and the underside of the specimen slide.

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

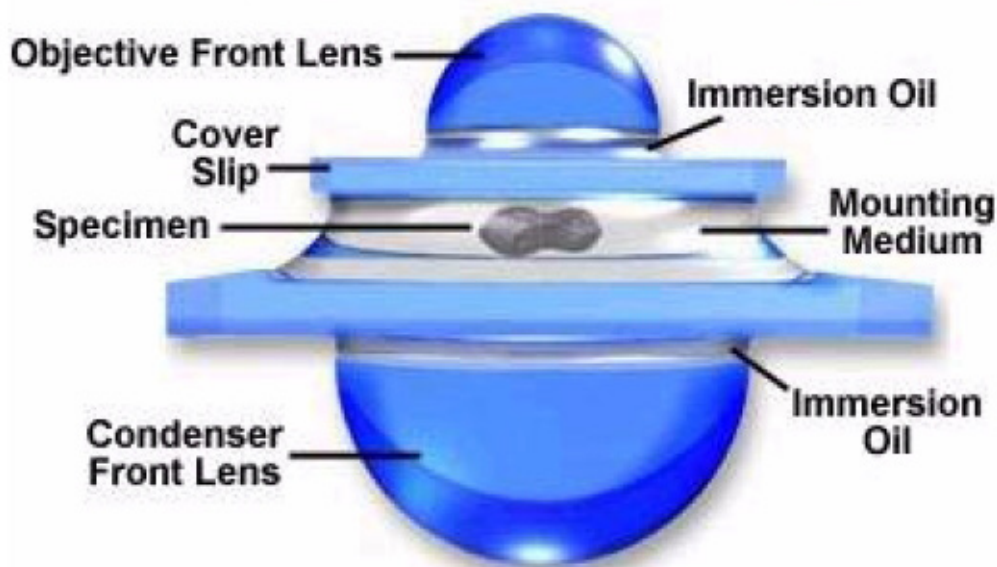


Figure 2 Homogeneous immersion system

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

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

When using high-power achromat oil immersion objectives, it is sometimes permissible to omit the step of oiling the condenser top lens. This is because the condenser aperture diaphragm must often be reduced with lesser-corrected objectives to eliminate artifacts and provide optimum imaging. The reduction in diaphragm size reduces the potential increase in numerical aperture (provided by oiling the condenser lens) so the loss in image quality under these conditions is usually negligible.



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

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

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

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

The darkfield condenser/objective pair illustrated in Figure 3 is a high-numerical aperture arrangement that represents darkfield microscopy in its most sophisticated configuration, which will be discussed in detail below. The objective contains an internal iris diaphragm that serves to reduce the numerical aperture of the objective to a value below that of the inverted hollow light cone emitted by the condenser. The cardioid condenser is a reflecting darkfield design that relies on internal mirrors to project an aberration-free cone of light onto the specimen plane.

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

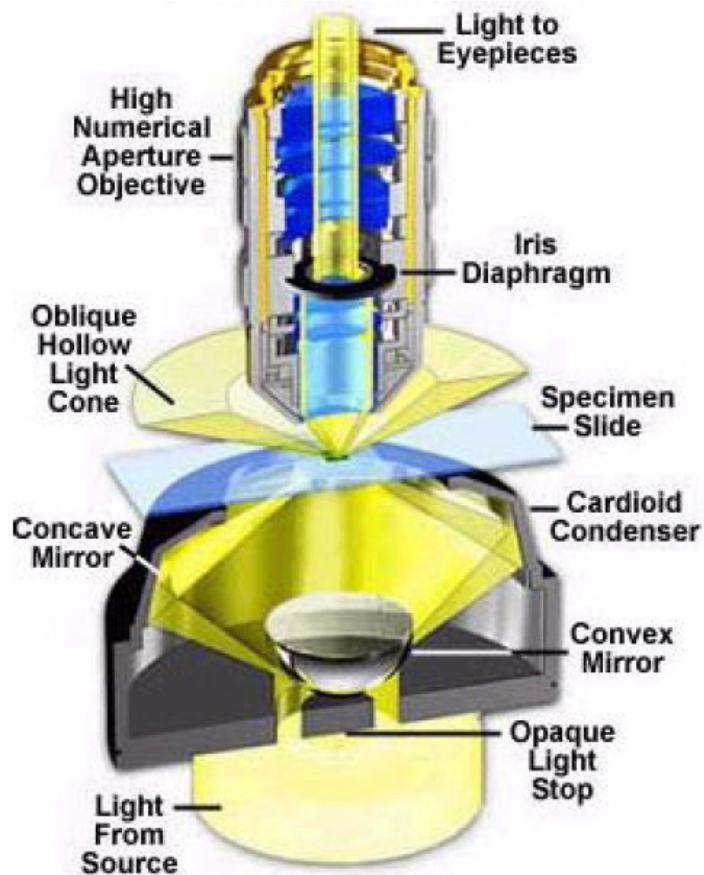


Figure 3 Cardioid darkfield condenser

Ideal candidates for darkfield illumination include minute living aquatic organisms, diatoms, small insects, bone, fibers, hair, unstained bacteria, yeast, and protozoa. Non-biological specimens include mineral and chemical crystals, colloidal particles, dust-count specimens, and thin sections of polymers and ceramics containing small inclusions, porosity differences, or refractive index gradients. Care should be taken when preparing specimens for darkfield microscopy because features that lie above and below the plane of focus can also scatter light and contribute to image degradation. Specimen thickness and microscope slide thickness are also very important and, in general, a thin specimen is desirable to eliminate the possibility of diffraction artifacts that can interfere with image formation.



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

As discussed above, the dry darkfield condenser is useful for objectives with numerical apertures below 0.75, while the paraboloid and cardioid immersion condensers (Figure 3) can be used with objectives of very high numerical aperture (up to 1.4). Objectives with a numerical aperture above 1.2 will require some reduction of their working aperture since their maximum numerical aperture may exceed the numerical aperture of the condenser, thus allowing direct light to enter the objective.

For this reason, many high numerical aperture objectives designed for use with darkfield as well as brightfield illumination are made with a built-in adjustable iris diaphragm that acts as an aperture stop.

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

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



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

Problems are also encountered when using microscope slides that are either too thick or too thin. Many darkfield condensers contain the range of usable slide thickness inscribed directly on the condenser mount. If the slide is too thick, it is often difficult to focus the condenser without resorting to a higher viscosity immersion oil. On the other hand, slides that are too thin have a tendency to break the oil bond between the condenser and the slide. It is a good idea to purchase precision microscope slides of the correct thickness to avoid any of the problems mentioned above.

High numerical aperture condensers, whether intended for use dry or with oil, must be accurately centered in the optical path of the microscope to realize optimum performance.

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



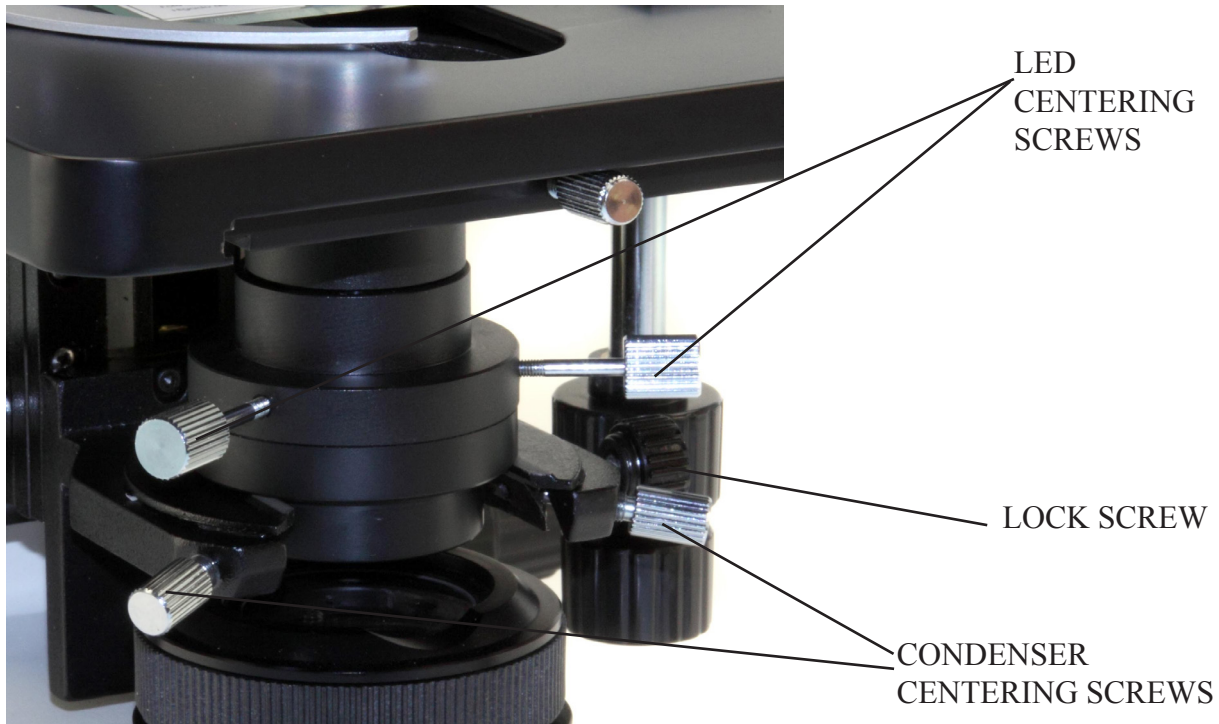
4.0 B-500DK DARKFIELD MICROSCOPE CONFIGURATION

- In a manner similar to that with low-power darkfield microscope configuration, place a specimen on the stage and focus it using the 10x objective (refer to B-500 general manual for the description of the standard bright field technique).
- Use the condenser rack knob to lower and remove the brightfield substage condenser.



- Insert the reflected light high numerical aperture condenser into the holder, and secure it with the lock screw. Slowly raise the condenser until it is less than 2 millimeters from the underside of the specimen slide.





- Select a darkfield specimen and place it onto the microscope stage between the objective and the condenser. The condenser will project a spot of light onto the sample that can be used for centering the optical path. Use the condenser centering screws to move the ring of light into the center of the viewfield. It could be useful to vary the height of the condenser in order to view the spot.

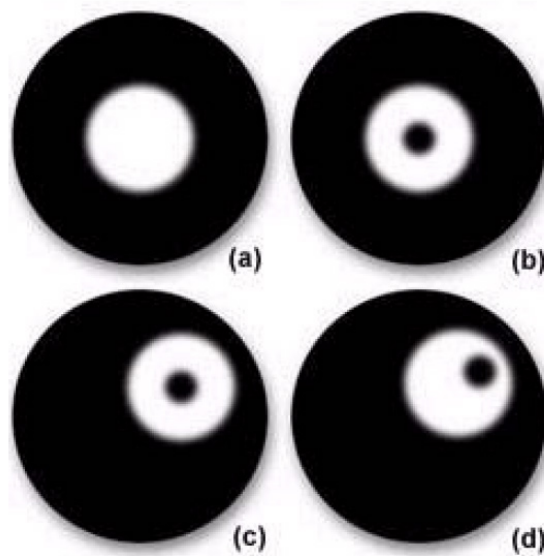


Figure 5 Centering darkfield condenser



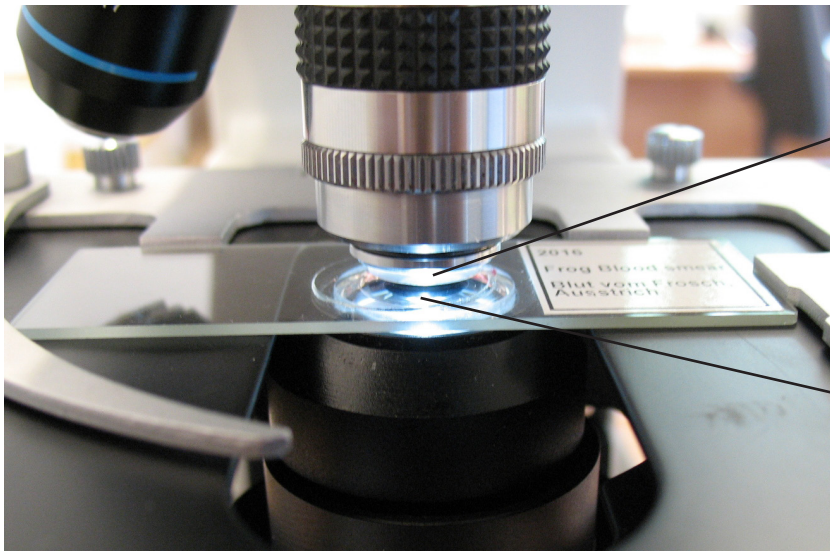
- It is often advantageous to use a low power 10x objective when centering high numerical aperture darkfield condensers. When viewing a specimen with the 10x objective while slowly raising and lowering the condenser, a point will be reached where a bright spot will appear in the field of view as illustrated in Figure 5(a). As the condenser is slightly raised or lowered, a dark spot similar to the one shown in Figure 5(b) will appear, if the condenser is properly centered. In cases where the condenser is not properly aligned and centered, a typical field of view might look like that shown in Figure 5(c). The ideal and correct positioning of the condenser is illustrated in Figure 5(a), and the condenser should be adjusted until the field of view appears in this manner, with the condenser centering screws.
- To apply oil to the immersion condenser, remove the microscope slide and slowly rack the condenser down below the mechanical stage and place a drop of oil directly on the front lens.



- Replace the slide, then slowly raise the condenser until contact is made between the oil droplet and the bottom surface of the slide. Carefully observe the oil contact area to determine if any air bubbles have been introduced into the space between the condenser top lens and the microscope slide. It should be noted that no matter what the magnification of the objective is, if an oil immersion condenser is used without oil, light will not emerge from the condenser. Air bubbles will scatter light and should be observable by removing the eyepiece and viewing the back focal plane of the objective with a centering telescope. If no bubbles are present, proceed on to the next step. When bubbles are detected, remove all traces of oil from both the slide and the condenser top lens and repeat the procedure. Make certain both surfaces are clean and completely free of oil, dust, dirt and other contaminating artifacts before re-oiling the condenser.



- Swing the provided special 100X immersion objective to a position in the nosepiece where it will be the next objective rotated into the optical pathway directly above the specimen.
- Position the area to be imaged in the center of the microscope's optical path using lower power objective (e.g. 10x or 40x). Next, the oil immersion objective (without oil) is placed into the optical path and the specimen area of interest is roughly brought into center of the viewfield and focused. This pre-positions all of the components of the system in preparation for the addition of oil. Swing the immersion objective to an adjacent stop on the microscope nosepiece and apply oil both to the objective front lens and specimen as described in the next point.
- Use a piece of lint-free paper or an eyedropper to place a small droplet of oil directly on the front lens of the immersion objective. Next, place another droplet of oil on the cover glass immediately above the area to be imaged.
- Next, quickly rotate the oiled objective into position above the specimen merging the two oil droplets (one on the sample and one on the objective) into a single pool. A bright flash should occur (from scattered light) the instant oil on the front lens of the objective comes into contact with the microscope slide.
- Check for air bubbles by observing the back focal plane of the objective with the provided centering telescope. If bubbles are present, swing the objective to the next detent stop on the microscope nosepiece and wipe off excess oil with a piece of lint-free lens tissue. Re-apply oil to the objective front lens and try again.
- With the centering telescope, and the 100x objective inserted, check that the condenser is well centered (a symmetrical ring of light must be seen). Finely center using the condenser centering screws.



OIL
(SLIDE-OBJECTIVE)

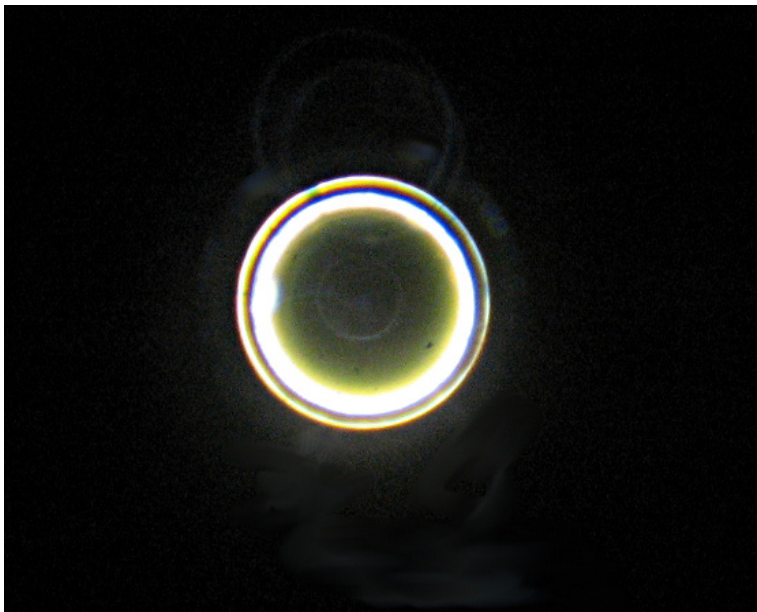
OIL
(CONDENSER - SLIDE)

- The 100X objective has an internal iris diaphragm designed to allow adjustment of the numerical aperture. It should be adjusted at this time.



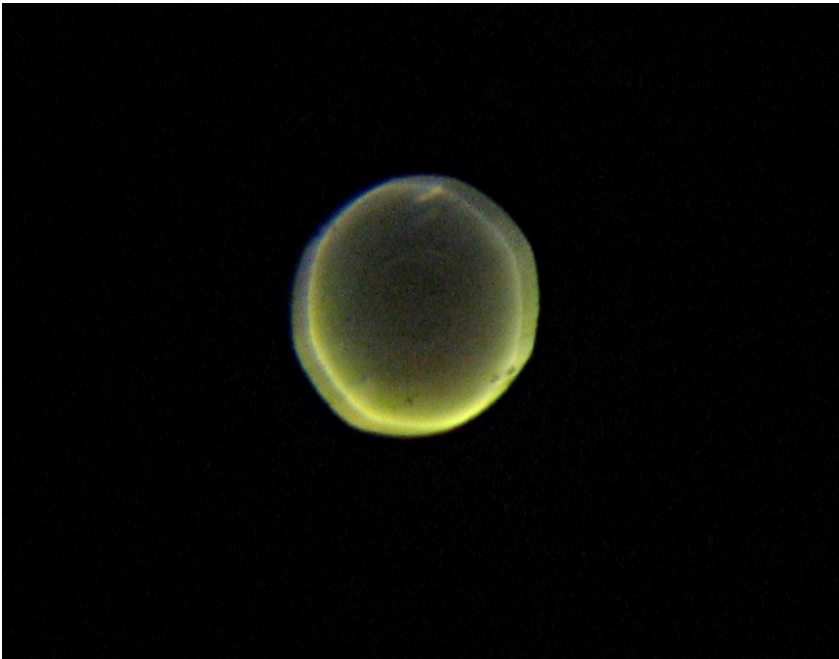
ROTATE THIS TO
ADJUST THE
INTERNAL IRIS

Remove the eyepiece and place the centering telescope into the eye tube to observe the rear focal plane of the objective. If a bright ring of light is seen around a central dark region, the aperture of the objective is too great and must be reduced using the internal iris diaphragm.



VIEW INSIDE THE TELESCOPE
WITH A WELL CENTERED
CONDENSER

Adjust the objective's iris diaphragm until the ring of light falls out of the viewfield.



VIEW INSIDE THE TELESCOPE
WHEN THE LIGHT RING IS DARKE-
NED BY CLOSING THE OBJECTI-
VE'S IRIS

If a crescent-shaped arc of light is observed, then the condenser **is not properly aligned** in center of the microscope optical axis. Use the LED centering screws to fine align the condenser so that the arc disappears or becomes a complete circle of light.

- Replace the eyepiece and focus the specimen, which should now appear brightly and evenly illuminated upon a dark background.

Careful attention should always be given to microscope alignment, irrespective of whether the illumination mode is brightfield, darkfield, phase contrast or some other contrast enhancement technique. Time spent in this endeavor will be repaid in excellent performance of the microscope both for routine observation and critical photomicrography.



There are numerous common problems associated with darkfield microscopy and photomicrography. These range from insufficient illumination and condenser misalignment to using a field stop of incorrect size. Most darkfield illumination problems are associated with the substage condenser, and this should be the first suspect when things do not work properly.

The following problems and solutions should be used as a guide when imaging specimens using this technique.

Problem There is insufficient illumination to make the specimen visible, or the specimen is visible but very faint.

Solution Check the substage condenser to ensure that it is positioned correctly. Also, check the light path for color and/or neutral density filters, polarizers, retardation plates, or any other components that might reduce illumination intensity.

Check to make certain that the condenser top lens is correctly oiled to the bottom of the microscope slide. If the immersion contact has been broken, re-apply the oil and rack up the condenser until the top lens is completely immersed in oil and in contact with the bottom of the slide.

Problem The viewfield has a dark spot in the center reducing illumination intensity, but objects in the periphery are well-illuminated and appear normal.

Solution The substage condenser is incorrectly positioned. Carefully rack the condenser up and down while observing the specimen in the viewfield. Check to make certain that both the condenser aperture and field diaphragms are set to the wide open position.

Occasionally this problem arises when microscope slides of excessive thickness (greater than the standard one millimeter) are used. Use a micrometer or a set of dial calipers to determine the thickness of the slide and the slide/cover slip combination.

Problem The image has a brightfield periphery with or without dark regions in the center.

Solution This problem is typical when the substage condenser is incorrectly centered. Revert to brightfield and re-establish the conditions of Köhler illumination, then repeat the darkfield procedure, making sure the condenser is centered.

If there is an internal iris diaphragm in the objective, reduce the iris opening size to determine if too much oblique illumination is entering the front lens of the objective.



Problem The periphery of the viewfield is bright on one side only.

Solution Check the nosepiece to ensure the objective is correctly positioned in the optical axis of the microscope. There is a detent stop that should produce a positive “click” when the objective is properly positioned.

Problem Images of the specimen are not clear and lacking in sufficient contrast and detail.

Solution The specimen might not be suitable for darkfield microscopy. Many stained specimens do not scatter enough light to be clearly imaged under darkfield conditions.

Specimen thickness may also be a problem, because very thin specimens are often not imaged well with the oblique light rays emitted from darkfield condensers. Change to brightfield or phase contrast to determine if this improves specimen contrast.

Problem Bright areas that are out of focus obstruct viewing and/or photomicrography of darkfield specimens.

Solution This is probably due to dust, hair, fibers, and/or dirt contamination of an optical surface somewhere above the condenser. Thoroughly clean the specimen slide with optical-grade tissue or cotton. Occasionally, this problem arises due to contamination on the objective front lens. Carefully loosen the objective from its seat in the nosepiece and slowly turn while observing the specimen through the eyepieces. If the obstruction rotates along with the objective, then it is probably due to dust on the front lens. Remove the objective and moisten the front lens by gently exhaling on it, then clean with lens tissue or a cotton swab wrapped on a long wooden rod.

Replace the objective and check to make certain the obstruction has been completely removed.

Problem The image of the lamp condenser partially fills the viewfield, obscuring details of the specimen.

Solution The slide may be too thin or the condenser may be adjusted too high. Measure the thickness of the microscope slide and check to make certain the oil contact is not broken. If difficulty is encountered keeping the bottom of the slide oiled, try using a thicker slide.



Problem When viewing aquatic organisms in a aqueous mount, specimens drift constantly in a single direction, making observation and photomicrography difficult.

Solution Convection currents are being created due to slow evaporation at the edges of the coverslip. Place a bead of petroleum jelly or Cytoseal mounting medium around the periphery of the coverslip to seal it firmly onto the microscope slide. Commercial products are available that can be added to the water to slow the movement of these minute organisms, making them easier to photograph.

Problem When viewing the specimen through a 10x objective, there is a oblong spot of light in the center of the viewfield.

Solution The lamp condenser may be incorrectly focused. Re-focus the condenser.

Problem The viewfield has bright spots and there are problems with achieving sharp focus of the specimen.

Solution Small air bubbles may be trapped in the oil between the top of the condenser and the bottom of the microscope slide. Remove the eyepiece to observe the back focal plane of the objective, where the bubbles will be visible. To remedy, break the oil contact and remove any residual bubbles with a cotton swab. Clean excess oil from the condenser front lens and the microscope slide, then apply a clean drop of oil to the lens. If the problem persists, thoroughly clean all optical surfaces before re-applying the oil.

Problem At high magnifications, colloidal particles display incomplete Newton rings and appear to be unevenly illuminated.

Solution The condenser is probably off-center. Change to a lower power objective and re-center the condenser.



The first rule in microscopy is to keep the optical elements completely free of dust, dirt, oil, solvents, and any other contaminants. The microscope should be kept in a low vibration smoke-free room that is clean as possible and has minimal disturbance of the circulated air. Use a dust cover on the microscope when not in use and keep all accessories in air-tight containers. Avoid using corrosive solvents to clean any part of the microscope, and use only diluted soapy water to clean non-optical surfaces. Oil should be used keeping the following techniques and precautions in mind:

- The first step is to locate the sample with a low-power objective and position the microscope slide so that the area of interest is squarely in the central portion of the stage opening. It is often desirable to rotate the immersion objective (without oil) into place to ensure the correct location of the specimen. To achieve optimum results when using the oil immersion technique it is important to also apply oil to the underside of the microscope slide and to the top lens of the substage condenser to form an oil bead between the two, as described below.

For applying oil to the front lens of the substage condenser, use the following considerations:

- Make certain that the mechanical stage of the microscope has an opening of sufficient size to allow scanning of the oiled specimen without spilling oil onto the bottom of the stage. Many advanced research microscopes have a stage insert that is removable for use with oil. Remove the specimen slide from the microscope stage before applying oil to the condenser top lens.
- In a manner similar to oiling an objective, place a drop of oil on the bottom of the microscope slide and apply a similar drop to the front lens of the substage condenser. Make sure that the condenser is slightly lowered in its rack before replacing the microscope slide on the stage. After the slide has been placed on the stage, rack the condenser back to the proper position while carefully observing the oil droplets on the condenser lens and microscope slide. These droplets should merge into one as the condenser is brought into proper position.
- Swing the immersion objective to a position in the nosepiece where it will be the next objective rotated into the optical pathway directly above the specimen.
- Position the area to be imaged in the center of the microscope's optical path using lower power objectives. Next, the oil immersion objective (without oil) is placed into the optical path and the specimen area of interest is roughly brought into center of the viewfield and focused. This pre-positions all of the components of the system in preparation for the addition of oil. Swing the immersion objective to an adjacent stop on the microscope nosepiece and apply oil both to the objective front lens and specimen as described in the next point.



- Use a piece of lint-free paper or an eyedropper to place a small droplet of oil directly on the front lens of the immersion objective. Next, place another droplet of oil on the cover glass immediately above the area to be imaged.
- Next, quickly rotate the oiled objective into position above the specimen merging the two oil droplets (one on the sample and one on the objective) into a single pool. The specimen is now ready for observation and photomicrography.
- As you scan the surface of an oiled microscope slide, periodically observe the position of the stage with respect to the objective and condenser front lens to assure that there is a continuous bead of oil between these elements and the microscope slide. When scanning over a large area on a microscope slide, it is often necessary to reapply some oil to assure continuity of the imaging medium.

Keep The Lenses Clean and Oil-Free

Always strive to make sure that your microscope objective and substage condenser front lenses are kept clean and free of immersion oil. Use a Q-tip or lint-free paper or cloth to gently wipe excess oil from the lenses and microscope slide after experiments are finished. After the oil is removed, use a suitable solvent to remove traces of immersion oil from the lenses. Failure to clean lenses properly may result in small crystallites forming on the coated surfaces when immersion oils either dry or collect dust and other contaminating particles from the atmosphere.

6.0 ELECTRICS

Mains Power:	90-240 V, 50/60 Hz
Light source:	3W high-efficiency white LED



Selecting the power supply

- On the rear of the microscope you find a 3-positions switch to control the power supply of the illuminator.



Position I: power supply from line voltage

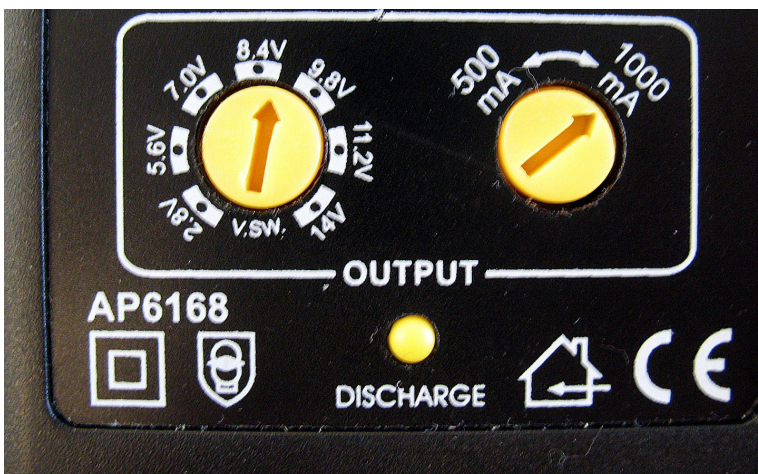
Position 0: illuminator OFF

Position II: power supply from internal battery

- A full charge of the battery provides about **2 hours** of continuous use at maximum light intensity, or about **3 hours** at medium intensity.
- The typical lifetime of the internal battery pack is about **500 charge/discharge cycles**.

Recharging the battery

- In order to guarantee an optimum battery life and efficiency, always follow these steps to recharge:
 - ◆ Connect the charger to 230V line voltage (WARNING: not compatible with 110Vac)
 - ◆ Check the settings for voltage and charging current:



Voltage: **8,4V**

Current: **1000mA**



NEVER change these settings in order to prevent damages to the battery pack.

- ◆ Connect the charger to the jack at the rear:



- ◆ Press the “discharge” button until the charger’s LED becomes yellow.
- ◆ After the discharging phase, the charger will automatically start the charging process and the LED will become red.
- ◆ When the batteries will be fully charged, the LED will become green (this could take about **3 hours**). The charger will apply a maintenance charge as long as it will be connected to the microscope.
- ◆ Disconnect the charger’s jack from the rear.
- ◆ Disconnect the charger from 230V line voltage.

Please note:

- After 2 hours of use at full intensity, stop using the battery power supply even if the LED illuminator is still on: excessive discharge may damage the batteries.
- Batteries are subject to self-discharge: after 30 days of inactivity a full charge drops to 40% of capacity, so it’s suggested to recharge the battery pack as described above.
- While the battery pack is charging, it’s still possible to use the microscope from line voltage, setting the main switch to position I.

Replacing the internal battery pack

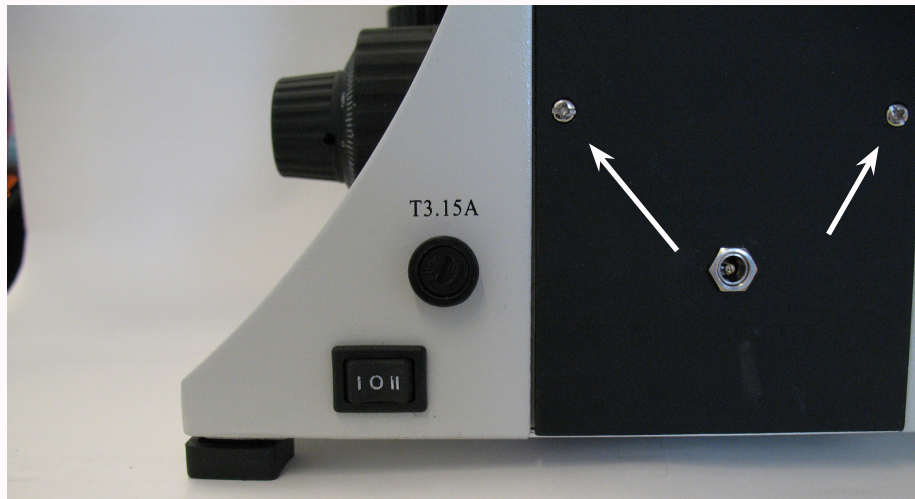
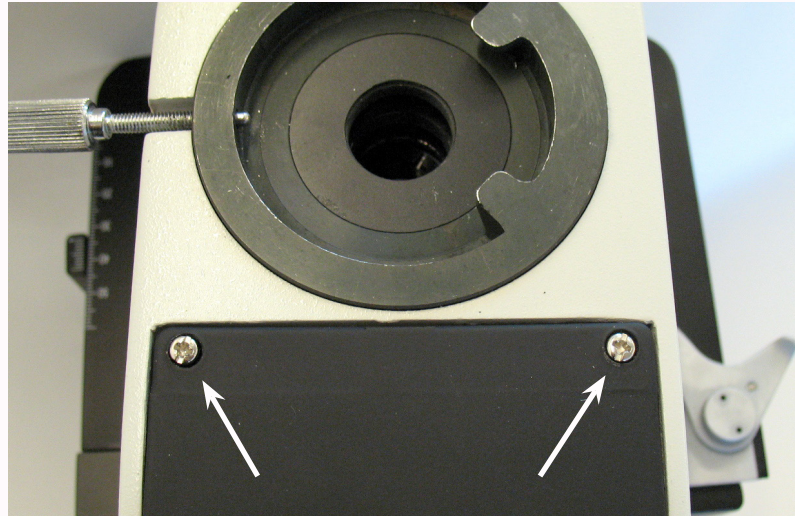
Use ONLY this type of battery: AA NiMH 1.2V, capacity at least 2500mAh

After about 500 cycles of charge/discharge, the internal batteries lose their capacity and the autonomy begins to decrease. In order to replace the batteries, follow these steps:

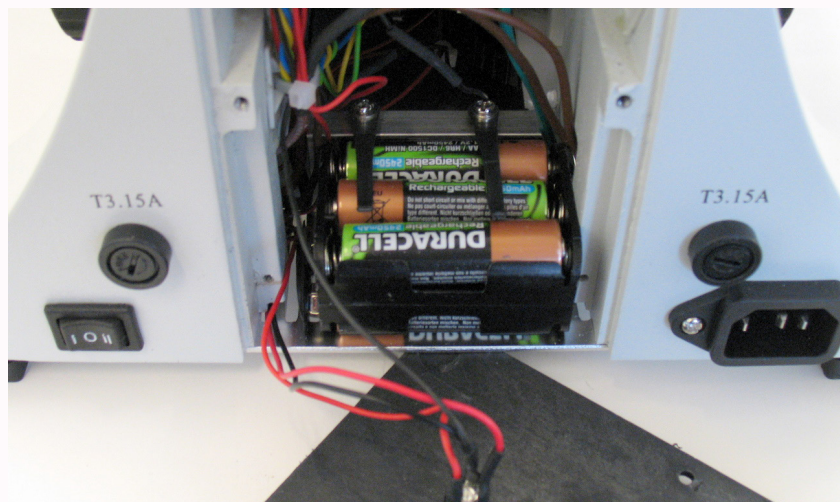


7.0 USING THE RECHARGEABLE BATTERIES

- Disconnect the power plug from the microscope rear.
- Unscrew the four screws that fix the back plastic cover:

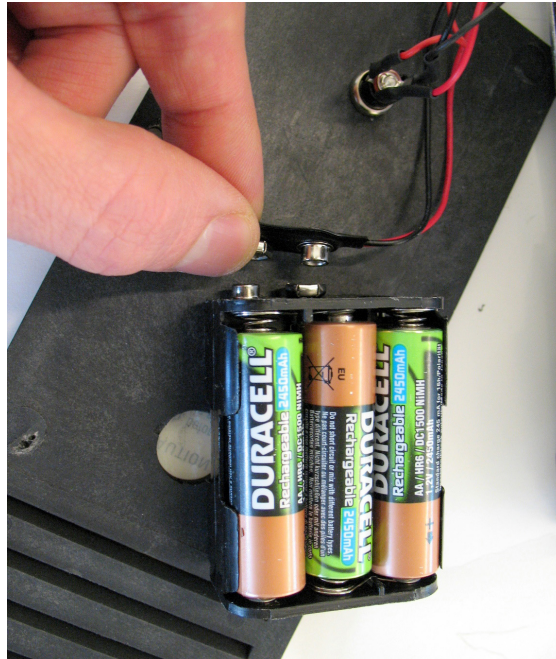


- Remove the plastic cover, and gently lay it on the back of the microscope (don't pull it too hard since it has cables attached to it).
- Inside at the bottom you can see the battery pack holder:





- Pull the battery holder toward yourself, in order to extract it.
- Remove the two-poles connector from the battery-holder:



- Remove the 6 batteries inside the holder and replace them with the new one (**pay attention to the correct polarity of each battery**).
- Reconnect the two-poles connector and replace the battery holder inside the microscope.
- Close the back plastic cover with the four screws.

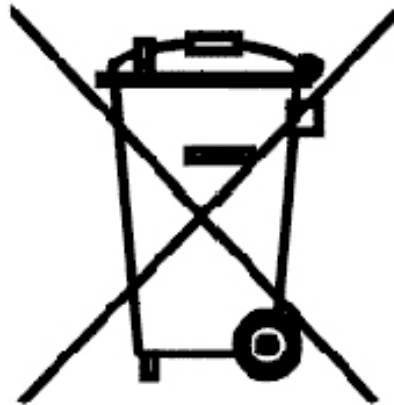
Please note:

Use ONLY this type of battery: AA NiMH 1.2V, capacity at least 2500mAh.

Respect your local regulation for the disposal of nickel-metal hydride batteries.



The appliance reports the symbol:



This symbol means that the appliance can be a precious source of raw materials. Therefore, it must not be disposed of as waste, but separately collected for the recycling and the recovery of the materials it contained in it. Such materials, if improperly dispersed into the environment, can be harmful to the environment and to human health.

The producer of the equipment, Optika Microscopes, recovers, re-uses and recycles the raw materials contained in the equipment. Such recovery, however, needs your help.

When, at the end of its operating life, you shall decide to dispose of the apparatus, do not try to open it, nor to use parts of it in ways other than reported in this Manual, but bring it back to the Distributor you bought it from, or to other Optika Microscopes distributors. The Distributor shall collect the apparatus free of charge.

The recovery of the raw materials shall then take place in accordance with the European Directive 2002 / 96 / EC and all other relevant Directives. Never disassemble, nor dispose of as waste, apparatus reporting the “crossed bin” symbol indicated above.



1.0 B-500DK MICROSCOPIO DE CAMPO OSCURO	pag. 29
2.0 INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA CON ACEITE DE INMERSIÓN	pag. 29
3.0 INTRODUCCIÓN A LA ILUMINACIÓN DE CAMPO OSCURO	pag. 32
3.1 Microscopio de campo oscuro con objetivos de gran aumento	
4.0 CONFIGURACIÓN DEL B-500DK	pag. 36
4.1 Resolución de problemas	
5.0 TRUCOS TÉCNICOS PARA LA MICROSCOPIA CON ACEITE DE INMERSIÓN	pag. 46
6.0 ELECTRICIDAD	pag. 47
7.0 UTILIZACIÓN DE LA BATERÍAS RECARGABLES	pag. 48
8.0 CONSEJOS DE RECICLAJE	pag. 52



El modelo B-500DK es un equipo para la observación de muestras en campo oscuro como el análisis de sangre, con un condensador de campo oscuro especial y gran eficiencia de 1,36 – 1,25 A.N. y un objetivo plan acromático de 100x con diafragma iris ajustable.

En el condensador se encuentra la iluminación X-LED (exclusiva de Optika) la cual garantiza un alto nivel de intensidad de luz necesaria para la técnica de campo oscuro a grandes aumentos.

Para trabajar correctamente con el microscopio, es necesario un mínimo de conocimientos sobre: a) técnica de aceite de inmersión y b) técnica de campo oscuro.

En el siguiente manual se presentan los conceptos básicos de estos métodos (capítulos 2 y 3) y a continuación le damos una guía paso a paso para la configuración del B-500DK (capítulo 4). Así como algunos consejos generales para la microscopía de inmersión (capítulo 5).

2.0 INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA CON ACEITE DE INMERSIÓN

La capacidad de un objetivo para capturar los rayos de luz desviados de un espécimen depende tanto de la apertura numérica y el medio a través del cual viaja la luz .

La apertura numérica (A.N.) de un objetivo es directamente proporcional al índice de refracción de la imagen entre el cubre-objetos y la lente frontal, y el seno (trigonometría) de la mitad de la abertura angular del objetivo. Debido a que el seno no puede ser mayor que 90 grados , la apertura numérica máxima posible se determina por el índice de refracción del medio de inmersión. La mayoría de los objetivos de microscopio utilizan el aire como el medio a través del cual los rayos de luz tienen que pasar entre el cubre-objetos (protector de la muestra) y la lente frontal del objetivo. Los objetivos de este tipo se denominan “objetivos en seco” ya que no utilizan ningún medio líquido. El aire tiene un índice de refracción de 1,0003 , muy próxima a la de vacío y considerablemente más baja que la mayoría de los líquidos , incluyendo el agua ($n = 1,33$) , glicerina ($n = 1.470$) y de aceites de inmersión comunes (promedio de $n = 1,515$) . En la práctica, la abertura máxima numérica de un objetivo seco está limitado a 0,95, y solo se puede conseguir valores mayores utilizando óptica diseñada para trabajar en medios de inmersión (como el aceite para microscopia).

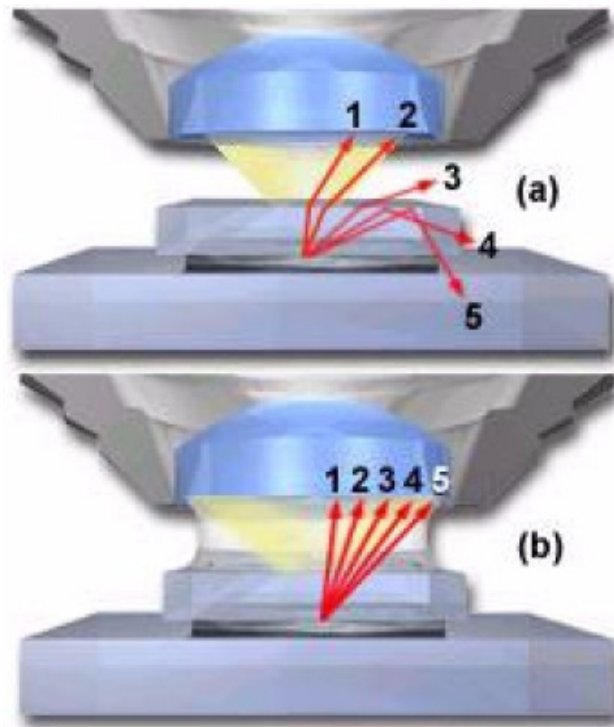


Figura 1, aceite de inmersión y apertura numérica (A.N.)

El principio de inmersión en aceite se demuestra en la Figura 1 donde los rayos de luz individuales se trazan a través de la muestra y, o bien pasan hacia el objetivo o se refractan en otras direcciones. La Figura 1 (a) ilustra el caso de un objetivo en seco con cinco rayos (etiquetados 1 a 5) aparecen pasando a través de una muestra con cubre-objetos sólo los dos rayos más cercanos al eje óptico (rayos 1 y 2) del microscopio tienen el ángulo apropiado para entrar en la lente frontal del objetivo . El tercer rayo se refracta en un ángulo de aproximadamente 30 grados al cubre-objetos y no entra en el objetivo . Los dos últimos rayos (4 y 5) se reflejan internamente de vuelta a través del cubre-objetos y , junto con el tercer rayo , contribuyen a las reflexiones internas de la luz en las superficies de vidrio y tienden a degradar la imagen. Cuando el aire se sustituye por el aceite del mismo índice de refracción que el vidrio , tal y como se muestra en la Figura 1 (b) , los rayos de luz ahora pasan directamente a través del cubre-objeto, y no hay refracción. La apertura numérica es incrementada en el factor de n = el índice de refracción del aceite.

Los objetivos diseñados para trabajar con aceite de inmersión tienen más ventajas que los objetivos en seco. Los de inmersión son típicamente de corrección más elevada (ya sean de fluorita o apocromático) y pueden trabajar con aperturas numéricas de hasta 1,40 A.N. cuando la dispersión y viscosidad del aceite son adecuados. Estos objetivos permiten abrir en mayor grado el diafragma del condensador, extendiendo así la iluminación a través de la muestra y aprovecharse de una mayor apertura numérica.

Un factor que normalmente se pasa por alto cuando se utiliza objetivos de inmersión en aceite y por lo tanto de una mayor apertura numérica son las limitaciones impuestas al sistema por la lente condensadora. En una situación en la que un objetivo de aceite de A.N. = 1,40 se está utilizando un condensador con la apertura numérica más pequeña (por ejemplo de A.N. = 1,0), la apertura numérica del condensador prevalece sobre la del objetivo y la A.N. total está limitada a 1,0.

Los condensadores modernos a menudo tienen un alto grado de corrección de los valores de apertura numéricos que oscilan entre 1,0 y 1,40. A fin de utilizar de manera efectiva todos los beneficios del aceite de inmersión, la lente superior del condensador también debe ser sumergidos en aceite. Un sistema ideal se ve en la Figura 2, donde el aceite de inmersión se ha colocado en las interfaces entre la lente inferior del objetivo y el porta-objetos y entre la lente superior del condensador.

Los condensadores modernos normalmente tienen un alto factor de corrección con un valor de la apertura numérica que varía de 1.0 a 1.40. Para poder aprovechar eficazmente todas las ventajas de la técnica de inmersión, también se debería colocar aceite de inmersión en el punto de intersección entre la lente de condensación y la zona de la preparación que contiene la muestra. En la figura 2 se representa de forma esquemática el sistema ideal, donde se ha colocado aceite de inmersión entre el punto de intersección entre la lente frontal del objetivo y la muestra y también entre la lente frontal del condensador y la zona de la preparación que contiene la muestra.

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

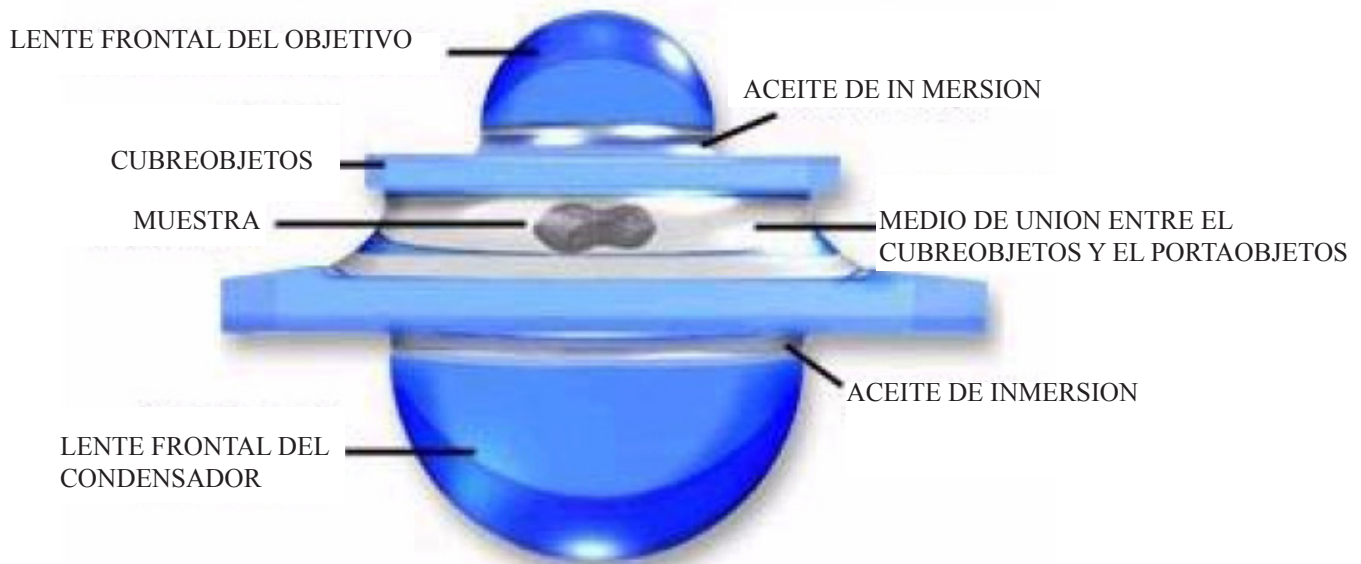


Figura 2 – sistema homogéneo de inmersión

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

En este sistema ideal, un rayo de luz oblicua puede pasar a través de la lente condensadora y completamente a través del porta-objetos del microscopio el aceite de inmersión y el medio de montaje, no desviada por la refracción del aceite del cubre-objeto.

Cuando se utiliza objetivos acromáticos de inmersión de alto aumento, a veces es lícito omitir el paso de poner aceite en la lente superior del condensador. Esto se debe a la apertura del diafragma del condensador a menudo debe ser reducido igual que con objetivos menores para eliminar impurezas y proporcionar una formación de imágenes óptima. La reducción en el tamaño de diafragma reduce el potencial de aumento de la apertura numérica (proporcionado por engrasar la lente condensadora) por lo que la pérdida en la calidad de la imagen en estas condiciones suele ser insignificante.



La microscopía de campo oscuro es una técnica de iluminación especializada que saca provecho de la iluminación oblicua para mejorar el contraste en muestras que también son difíciles de ver de forma clara o nítidas bajo condiciones normales de iluminación en campo claro.

Todos nosotros estamos muy familiarizados con el aspecto y la visibilidad de las estrellas en una noche oscura, esto a pesar de sus enormes distancias de la tierra. Las estrellas pueden ser vistas por el marcado contraste entre su luz tenue y el cielo negro.

Este principio se aplica en campo oscuro (también llamado fondo oscuro) en microscopía, es un método sencillo y popular para hacer que los objetos no teñidos sean claramente visibles. Estos objetos suelen tener índices de refracción muy cerca al valor de su entorno y es difícil visionarlos en microscopía de campo claro convencional. Por ejemplo, muchos pequeños organismos acuáticos tienen un índice de refracción entre 1.2 y 1.4, lo que resulta en una diferencia óptica insignificante a partir del medio acuoso circundante. Estos son los candidatos ideales para la iluminación de campo oscuro.

La iluminación de campo oscuro bloquea el paso de la luz central, que normalmente pasa a través y alrededor de la muestra, lo que permite los rayos oblicuos pasar por todos los ángulos y directamente hacia la muestra. La lente superior de un condensador Abbe simple de campo oscuro es esféricamente cóncava, permitiéndolo que los rayos de luz emergentes desde todos los ángulos de su superficie forma un cono de luz invertido con un vértice centrado en el plano de la muestra. Si no hay ninguna muestra y la A.N. del condensador es mayor que la del objetivo, los rayos oblicuos se cruzan y no entran al objetivo debido a su oblicuidad. El campo de visión aparece oscura.

El objetivo/condensador (especial) ilustrados en la figura 3 tiene una gran A.N. que representa la microscopía de campo oscuro más sofisticado. El objetivo contiene un diafragma iris interno que se usa para reducir la A.N. del objetivo a valores por debajo del cono de luz invertido emitido por el condensador. El diseño del condensador de campo oscuro depende de los espejos internos que proyectan un cono de luz libre de aberraciones sobre el plano de la muestra.

Cuando se pone una muestra sobre la preparación, especialmente sin teñir, los rayos oblicuos cruzan la muestra y se difractan, refractan y/o reflejan por discontinuidades ópticas (como membrana celular, núcleo y orgánulos internos) permitiéndolo que éstos rayos tenues penetren en el objetivo, entonces en la muestra aparecen los organismos brillantes sobre un fondo oscuro.

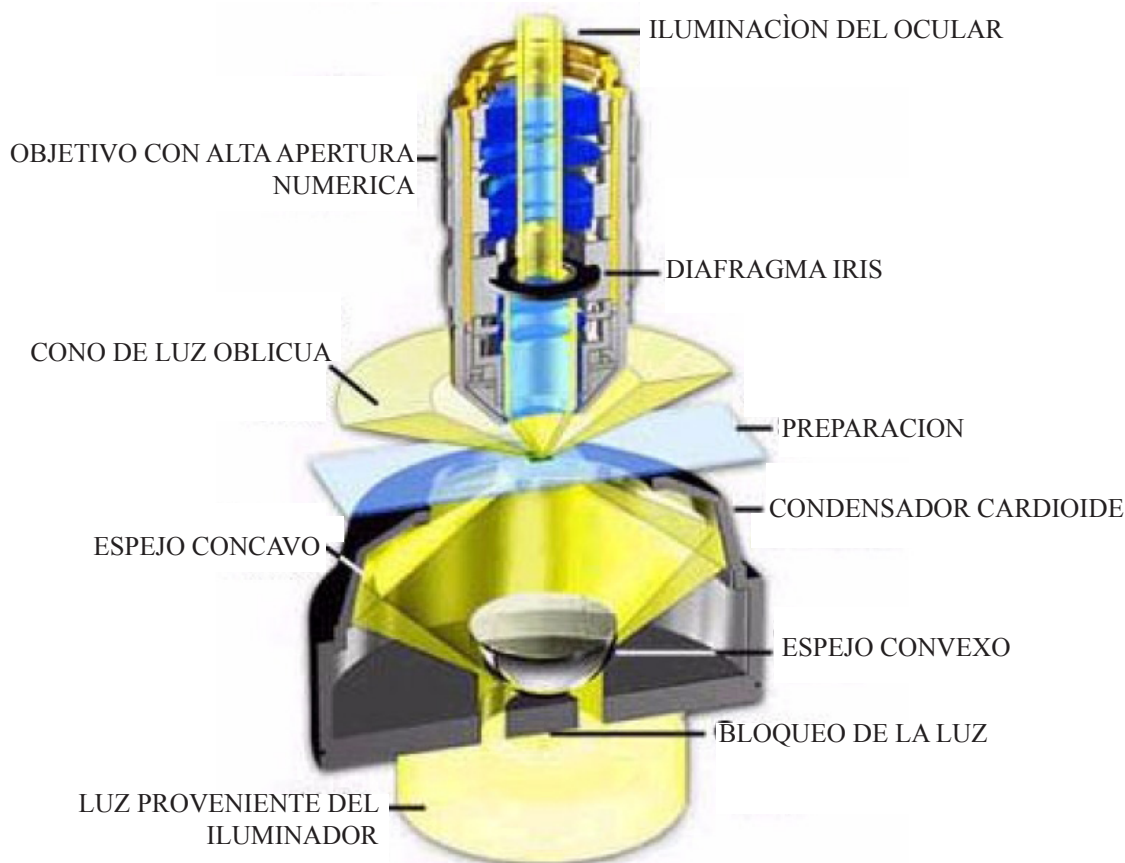


Figura 3 – condensador de campo oscuro

Los candidatos ideales (muestras) para la iluminación de campo oscuro incluyen muchos organismos vivos acuáticos, diatomeas, pequeños insectos, hueso, fibras, el pelo, las bacterias no teñidas, levaduras y protozoos. Muestras no biológicas incluyen minerales y cristales químicos, partículas coloidales, muestras de polvo de conteo, y las secciones delgadas de polímeros y materiales cerámicos que contienen pequeñas inclusiones, las diferencias de porosidad, o inclinaciones de índice de refracción. Se debe tener cuidado en la preparación de muestras para microscopía de campo oscuro debido a las características que se encuentran por encima y por debajo del plano de enfoque que también pueden dispersar la luz y contribuir a la degradación de la imagen. El espesor de la muestra y el espesor de porta-objetos de microscopio son también muy importantes y, en general, una muestra delgada es lo ideal para eliminar la posibilidad de objetos de difracción que pueden interferir con la formación de la imagen.



Para ver un resultado más preciso y obtener un fondo más oscuro, es necesario trabajar con un condensador diseñado especialmente para campo oscuro, por ejemplo que transmita rayos oblicuos. Hay diferentes modelos, condensadores de campo oscuro en “seco” con aire entre la lente superior del condensador y la parte inferior del porta-objetos. O bien condensadores de “inmersión” que requieren una gota de aceite de inmersión sobre la parte superior del condensador y la parte inferior del porta-objetos. También hay condensadores que aceptan una gota de agua en lugar de aceite, para realizar la misma función. El condensador de campo oscuro de inmersión posee lentes con espejos internos para dejar pasar los rayos de gran oblicuidad y libres de aberración cromática, los cuales producen mejores resultados en conseguir un fondo más negro. Tal vez el condensador de campo oscuro más ampliamente utilizado es el paraboloides, que consiste en una pieza sólida de vidrio con mucha precisión en la forma de un paraboloides.

El condensador de campo oscuro en “seco” trabaja bien con objetivos con A.N. por debajo de 0,75, mientras que el paraboloides o de “inmersión” (figura 3) puede trabajar con objetivos de A.N. más alta (hasta 1,4). Los objetivos con A.N. por mayor de 1,2 requieren reducir su apertura de trabajo ya que su A.N. puede exceder de la A.N. del condensador y por lo tanto podría entrar luz directa a través del objetivo. Por éste motivo, algunos objetivos con A.N. alta diseñados para trabajar en campo oscuro y campo claro están contruidos con un diafragma iris en su interior que actúa como un tope de apertura.

Esta reducción de la apertura numérica limita también el poder de resolución del objetivo y la intensidad de la luz de la imagen. Los objetivos diseñados exclusivamente para trabajar en campo oscuro se producen con una apertura numérica máxima cercana al límite inferior de la apertura numérica del condensador para campo oscuro. Estos no poseen diafragmas iris internos, sin embargo, los diámetros de sus lentes están ajustados de manera que, al menos una lente interna tenga el diámetro adecuado para funcionar como limitador de la apertura.

El condensador cardioide es muy sensible a la alineación y se debe colocar cuidadosamente para aprovechar el cono de luz. Por esto, resulta el condensador de campo oscuro más difícil de utilizar. Además, el condensador produce una importante cantidad de reflejos, incluso con las partículas de polvo más pequeñas, y una distancia focal pequeña puede perjudicar la iluminación de los objetos que poseen un tamaño o espesor de unos pocos micrones. Cuando se trabaja con preparaciones para microscopía de campo oscuro con alto poder de aumentos, asegurarse que el cristal de las preparaciones esté exento de impurezas fluorescentes.



Debe poner especial atención cuando trabaje con un condensador de gran A.N. y aceite de inmersión entre la lente superior del condensador y la parte inferior del porta-objetos. Es muy difícil de evitar la aparición de pequeñas burbujas de aire en la zona entre la lente superior del condensador y la parte inferior del porta-objetos, ésta técnica se debe practicar a la perfección. Las burbujas de aire hará que la imagen se vea distorsionada, lo que lleva a una pérdida de contraste y la degradación general de la imagen.

También puede aparecer algún problema en la imagen cuando los porta-objetos son demasiado gruesos o demasiado delgados. Muchos de los condensadores de campo oscuro indican el grosor recomendable del porta-objetos e ideal para un buen resultado. Es aconsejable comprar y utilizar porta-objetos que especifique el condensador para evitar los problemas mencionados anteriormente. Los condensadores con una alta A.N., bien sean en “seco” o de “inmersión”, deben estar bien alineados o colimados con el eje óptico del microscopio. Para conseguir esto, muchos de los condensadores de campo oscuro contienen un anillo o aro grabado en la lente superior. Para el centrado o alineación se utilizan objetivos de bajo aumento (10x – 20x), la formación de imágenes del círculo grabado y el uso de los tornillos de centrado del condensador se utilizan para centrar el círculo (y el condensador) sobre el eje óptico.



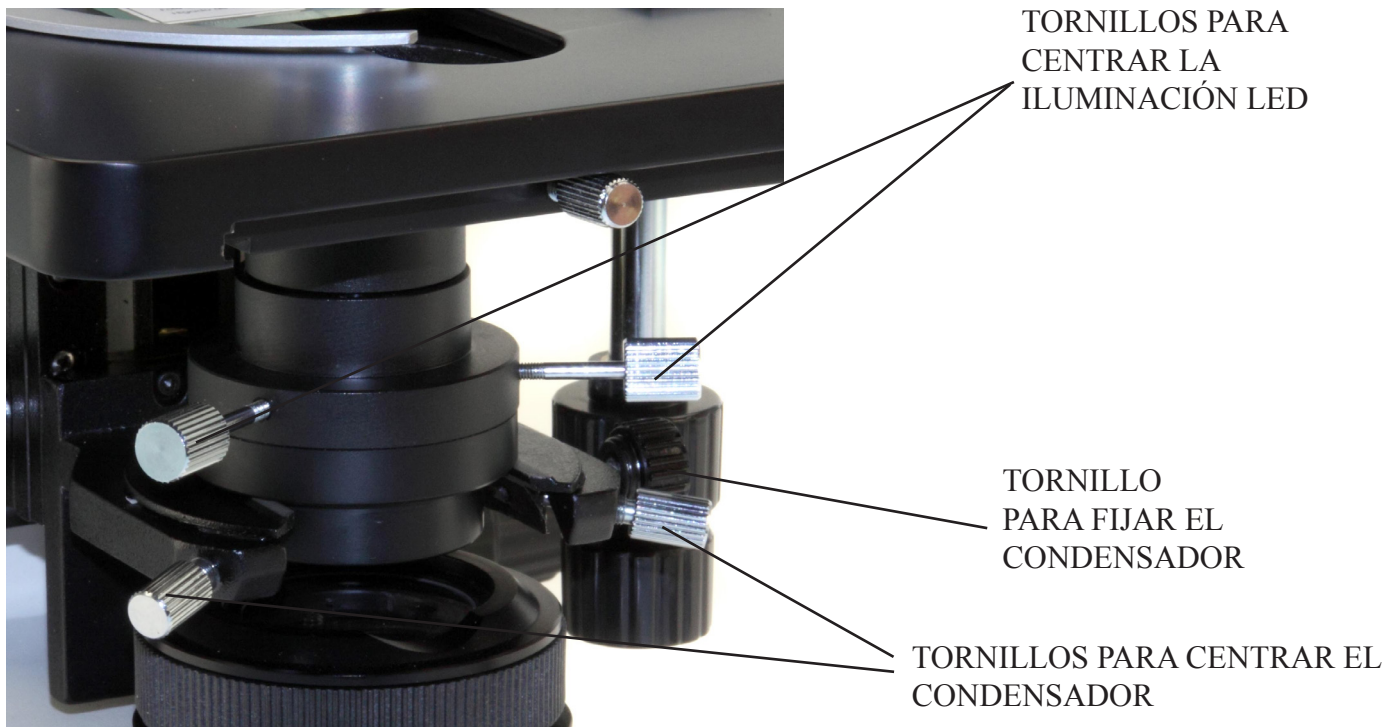
4.0 CONFIGURACIÓN DEL B-500DK

- Colocar un espécimen sobre la platina y enfoque con el objetivo de 10x (consulte el manual general B-500 para la descripción de la técnica de campo claro estándar).
- Baje el condensador con el mando de la izquierda y extraiga el condensador de campo claro.



- Inserte el condensador de campo oscuro en su lugar y sujeter bien con los tornillos de seguridad. Suavemente, con el mando de la izquierda, eleve el condensador hasta llegar a una distancia de 2 milímetros de la parte inferior del porta-objetos.





- Poner una muestra en la platina (entre el objetivo y el condensador). El condensador proyectará un punto de luz sobre la muestra el cual se puede usar para centrar el eje óptico del mismo. Utilizando los tornillos para centrar el condensador mueva el punto de luz hasta que quede centrarlo sobre el campo de visión. Puede ayudarle en éste proceso, el subir o bajar el condesador para tener una imagen más clara del punto de luz.

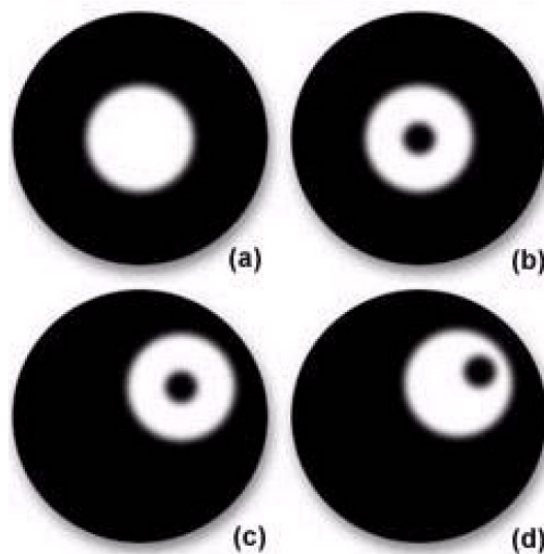


figura 5 – centrar el condensador de campo oscuro



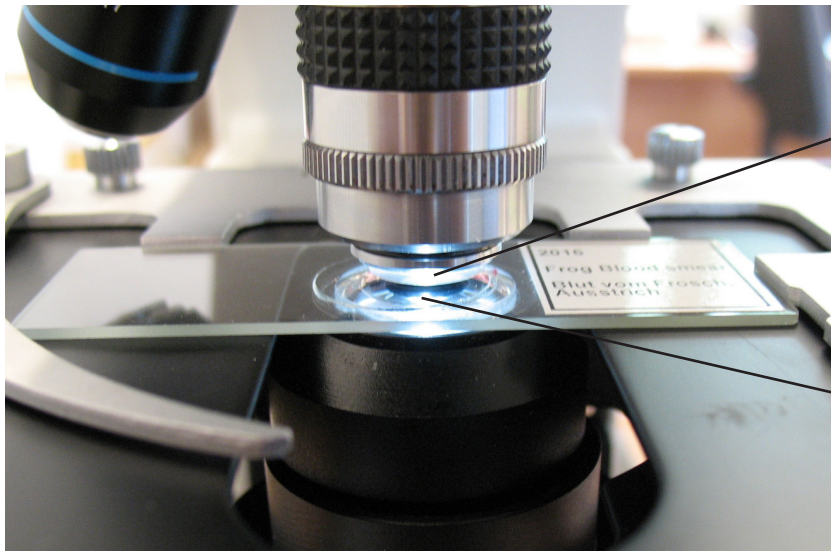
- El objetivo de 10x es el más recomendado para centrar condensadores de gran A.N. como el caso del condensador de campo oscuro. Cuando observe una muestra con el objetivo de 10x, suba o baje el condensador suavemente mediante el mando que encontrará a su izquierda y debajo de la platina hasta conseguir ver un punto en el campo de visión tal y como se muestra en la figura 5 (a). Si el condensador estuviera ya centrado, aparecerá una imagen como en la figura 5 (b). En el caso que el condensador no estuviera centrado, la imagen resultante será como en la figura 5 (c,d). Con los tornillos de centrado del condensador, deberá ajustarlo hasta conseguir una imagen como en la figura 5 (a,b).
- Para poner una gota de aceite de inmersión en el condensador, quitar la preparación de la platina y suavemente bajar el condensador, poner una gota de aceite de inmersión directamente sobre la lente del condensador.



- Vuelva a poner la preparación sobre la platina y sujetar con las pinzas de la platina mecánica. Subir el condensador con el aceite hasta que éste toque la parte inferior de la preparación. Con cuidado observar que no hayan aparecido burbujas de aire. Las burbujas de aire dispersan la luz, es posible verlas retirando el ocular y observar el plano focal posterior del objetivo con un ocular de centrado. En el caso que no hayan burbujas de aire, proceda con el siguiente paso. Si detectara burbujas de aire, quitar el aceite limpiando la preparación y la lente frontal del condensador y repita de nuevo todo el proceso. Asegúrese que todas las superficies estén totalmente limpias de aceite, polvo o suciedad.



- Girar el revólver del microscopio hasta colocar el objetivo de 100x especial en el eje de observación directamente sobre la muestra. Vuelva a girar 1 posición el revolver (a la derecha o izquierda, como le sea más fácil) para acceder fácilmente al objetivo y poner una gota de aceite.
- Aplicar aceite sobre ambos, en la lente del objetivo y sobre la preparación tal y como se describe en el siguiente punto.
- Use un gotero para colocar una pequeña gota de aceite directamente sobre la lente del objetivo de inmersión. A continuación, colocar otra gota de aceite sobre el cubre de la preparación justo por encima del área a explorar.
- A continuación, gire rápidamente el objetivo de 100x con el aceite en su posición por encima de la muestra, hasta la fusión de las dos gotas de aceite (uno en la muestra y uno en el objetivo). Debe producirse un destello brillante (de luz dispersa) al entrar en contacto el aceite del objetivo con el aceite de la preparación.
- Si observara que hubieran aparecido burbujas de aire, rote el revólver una posición (hacia la derecha o izquierda) para quitar el objetivo de su área de visión y quitar el aceite limpiando completamente tanto el objetivo como la preparación. Vuelva a realizar todo el proceso de nuevo.
- Con el ocular de centrado y el objetivo de 100x insertado, compruebe que el condensador está centrado (deberá ver un anillo simétrico) para ello gire suavemente los tornillos de centrado del condensador.



ACEITE
(PREPARACIÓN-OBJE-
TIVO)

ACEITE
(CONDENSADOR-
PRE-
PARACIÓN)

- El objetivo de 100x contiene un diafragma en su interior diseñado para ajustar la A.N.



GIRAR EL DIAFRAGMA
PARA AJUSTAR EL IRIS
INTERNO

Quite el ocular y coloque en su lugar el ocular telescopio de centrado para observar el plano focal posterior del objetivo. Si viera un anillo brillante de luz alrededor de una región central oscura, la apertura del objetivo es demasiado grande y deberá cerrar el diafragma iris interno.



OCULAR TELESCÓPICO
DE CENTRADO

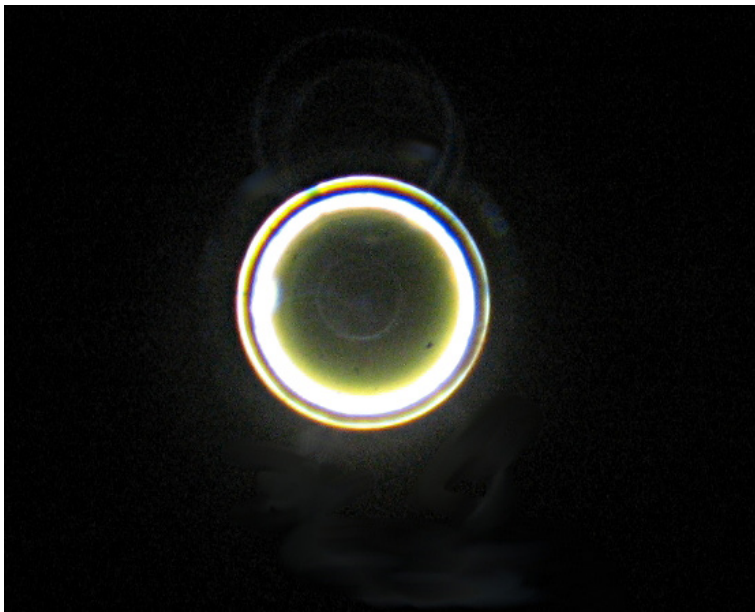
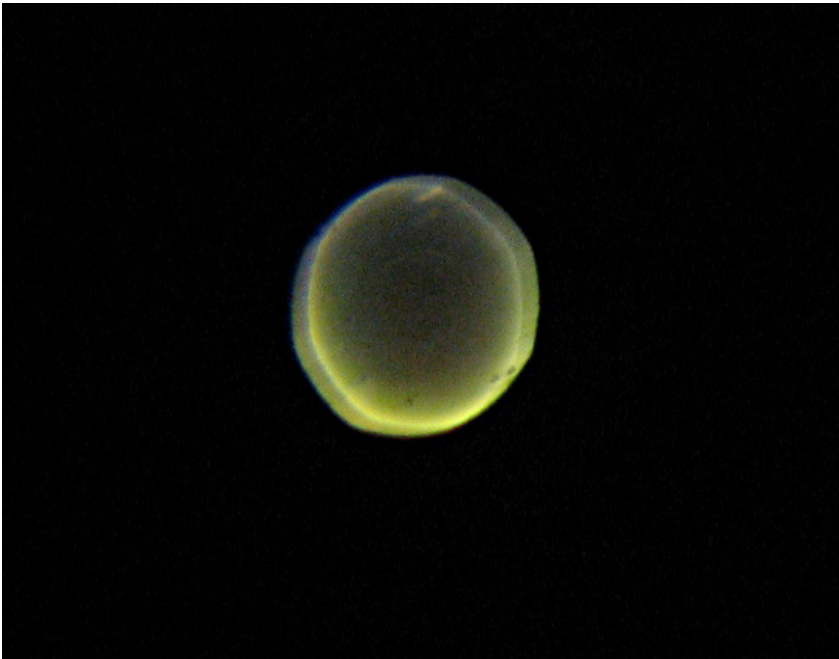


IMAGEN INTERNA A TRAVÉS DEL
OCULAR TELESCÓPICO Y EL
CONDENSADOR BIEN CENTRA-
DO

Ajuste el diafragma iris del objetivo hasta que el anillo de luz desaparezca del campo de visión.



VISTA A TRAVÉS DEL OCULAR TELESCÓPICO CUANDO EL ANILLO DE LUZ ESTÁ OSCURECIDO CERRANDO EL DIAFRAGMA IRIS DEL OBJETIVO

Si observa una luz en forma de media luna, entonces el condensador no está alineado correctamente en el centro del eje óptico del microscopio. Use los tornillos de centrado LED para alinear el condensador por lo que el arco desaparece o se convierte en un círculo completo de la luz.

- Vuelva a colocar el ocular y el enfoque de la muestra, que ahora debe aparecer brillante y uniformemente iluminada sobre un fondo oscuro.

Recomendamos poner siempre una especial y cuidadosa atención en el proceso de alineación del microscopio, independientemente de si el modo de iluminación sea de campo claro, campo oscuro, contraste de fase o alguna otra técnica de contraste. El tiempo invertido en esta tarea le será recompensado en el excelente funcionamiento del microscopio, tanto para la observación de rutina o microfotografía.



Hay numerosos problemas comunes asociados con la microscopía de campo oscuro y microfotografía. Estos van desde la iluminación insuficiente y falta de alineación del condensador, el uso de un diafragma de campo de tamaño erróneos, etc. La mayoría de los problemas de iluminación de campo oscuro se asocian con el condensador y esto debe ser el primer punto a controlar cuando las cosas no funcionan correctamente. Los siguientes problemas y las soluciones deben utilizarse como una guía al tomar las imágenes especímenes utilizando esta técnica

Problema No hay suficiente luz para visualizar la muestra o la muestra es visible, pero muy débil.

Solución Compruebe que el condensador está correctamente colocado. Además, verifique el eje de luz para color y / o filtros de densidad neutra, polarizadores, placas de retardación o cualquier otro componente que podrían reducir la intensidad de luz.

Controlar el condensador para asegurarse que la lente superior, donde hemos aplicado el aceite de inmersión, esté perfectamente en contacto con la parte inferior de la preparación. Si el contacto de inmersión no es adecuado, volver a aplicar aceite de inmersión y situar el condensador de manera que la parte superior de la lente esté completamente sumergida en el aceite y en contacto con la parte inferior de la preparación

Problema Aparece un punto oscuro en el centro del campo de visión reduciendo la intensidad de luz pero los objetos de la periferia están bien iluminados y aparecen normales.

Solución El condensador está mal colocado. Con cuidado suba o baje el condensador mientras observa la muestra. Compruebe también que ambos, la apertura del condensador y el diafragma de campo están abiertos.

De vez en cuando surge este problema cuando se utilizan porta-objetos de espesor excesivo (mayor que el estándar de un milímetro). Utilice un micrómetro o un conjunto de calibradores para determinar el espesor de la preparación y el cubre-objetos.

Problema La imagen tiene una periferia de campo claro con o sin zonas oscuras en el centro.

Solución Este problema es típico cuando el condensador no está centrado. Volver a la posición de observación en campo claro y restablecer las condiciones de iluminación, a continuación, repita el procedimiento en campo oscuro, asegurándose de que el condensador esté centrado.

Si hay un diafragma de iris en el interior del objetivo, reducir el tamaño de la apertura del iris para determinar si hay demasiada iluminación oblicua entrando por el objetivo.



- Problema** La periferia del campo de visión es brillante en un solo lado.
- Solución** Compruebe el revolver para asegurarse que el objetivo está correctamente colocado en el eje óptico del microscopio. Hay una parada de retén en el revolver que debe producir un sonido como “clic” cuando el objetivo está colocado adecuadamente.
- Problema** Las imágenes de la muestra no son claras, falta contraste y detalles.
- Solución** La muestra puede no ser adecuada para microscopía de campo oscuro. Muchos ejemplares no dispersan la luz suficiente para ser claramente reflejado en condiciones de campo oscuro. El espesor de la muestra también puede ser un problema, porque las muestras muy delgadas a menudo no se reflejan bien con los rayos de luz oblicuos emitidos desde el condensador de campo oscuro. Cambiar a campo claro o contraste de fase para determinar si mejora el contraste de la muestra.
- Problema** Las zonas brillantes que están fuera de foco obstruyen la visualización para la fotomicrografía en campo oscuro.
- Solución** Probablemente es debido a que hay polvo, fibras y/o algún objeto contaminante sobre la superficie del condensador. Limpiar a fondo el porta-objetos y el condensador, en ocasiones, éste problema también es causado por haber suciedad en la lente del objetivo. Cuidadosamente afloje el objetivo del revolver desenroscándolo lentamente mientras observa la muestra a través de los oculares. Si la obstrucción gira junto con el objetivo, entonces es probable que sea debido al polvo en su lente frontal. Retire el objetivo y humedecer la lente frontal exhalando suavemente sobre ella, luego limpiar con papel special para lentes o con un poco de algodón como los bastoncillos que se usan para limpiar los oídos.
Insertar de nuevo el objetivo y compruebe que ahora no haya suciedad.
- Problema** La imagen de la lámpara de condensador ilumina parcialmente el campo de visión, oscureciendo detalles de la muestra.
- Solución** La muestra puede ser demasiado delgada o el condensador puede que esté ajustado demasiado alto. Mida el espesor de la preparación, también compruebe que no esté rota. Si encuentra dificultad para mantener la parte inferior de la preparación engrasada, pruebe a utilizar una preparación más gruesa.



Problema Cuando observe organismos acuáticos en una solución acuosa, las muestras van a la deriva en una dirección haciendo la observación y la microfotografía más difícil.

Solución Las corrientes de convección se crean debido a la lenta evaporación en los bordes del cubre-objetos. Aplique un poco de vaselina alrededor de la periferia del cubre-objetos para sellarlo firmemente sobre el porta-objetos. Se comercializan productos que se añaden al agua para ralentizar el movimiento de estos minúsculos organismos, lo que facilita su fotografía. (consulte al proveedor)

Problema Si observando con el objetivo de 10x aparece un punto alargado sobre el campo de visión

Solución La bombilla del condensador puede que esté mal enfocada. Re-centrar el condensador

Problema El campo de visión tiene puntos brillantes y da problemas para conseguir un enfoque nítido de la muestra.

Solución Puede que hayan burbujas de aire entre la lente frontal de condensador y la parte inferior de la preparación. Quitar un ocular para observar el plano focal posterior del objetivo donde las burbujas son normalmente más visibles. Limpiar ambas lentes con un trapo de algodón, asegúrese que no queden restos de aceite de inmersión y vuelva a empezar aplicando de nuevo una gota de aceite en cada parte. Si el problema persiste limpie todos los componentes ópticos que hayan estado en contacto con el aceite para asegurarse que están completamente limpios.

Problema A grandes aumentos, las partículas coloidales muestran anillos de Newton incompletos y parecen estar iluminado de manera desigual.

Solución El condensador está posiblemente descentrado. Cambie a un objetivo de menor aumento y centre el condensador.



La primera norma en microscopía es mantener las partes ópticas limpias de suciedad, de aceite, de disolventes o cualquier otro objeto contaminante. El microscopio debe estar situado sobre una base estable, sin ningún tipo de vibraciones, en una habitación tan limpia como sea posible y aire también lo más limpio posible. Utilice una funda protectora para cubrir el equipo cuando no esté en uso así como guardar todos sus accesorios en recipientes herméticos. Evite el uso de disolventes corrosivos para limpiar cualquier parte del microscopio, y el uso de agua jabonosa sólo diluida para limpiar las superficies NO ópticas. El aceite de inmersión debe usarse en la siguientes técnicas y teniendo en cuenta la siguientes precauciones:

- El primer paso es localizar la muestra con un objetivo de pocos aumentos poniendo la preparación sobre la platina del microscopio de manera que el área de interés (a observar) quede en ángulo recto a la parte central de la apertura de la platina. Enfocar la muestra hasta conseguir ver una imagen nítida a través de los oculares. Para lograr resultados óptimos cuando se utiliza la técnica de inmersión en aceite y campo oscuro es importante aplicar también aceite a la parte inferior del porta-objetos y a la parte superior de la lente condensadora para formar una gota de aceite entre los dos, como se describe a continuación.
Para la aplicación de aceite a la lente superior del condensador, utilice las siguientes consideraciones:
- Asegúrese de que la platina mecánica del microscopio tiene una abertura de tamaño suficiente para permitir la exploración de la muestra con aceite sin derramar aceite al resto de la platina. Retire el porta-objetos de la platina del microscopio antes de aplicar aceite a la lente superior del condensador.
- Colocar una gota de aceite en la parte inferior de la preparación y aplicar una gota similar a la lente frontal de la lente condensadora. Asegúrese de bajar un poco el condensador antes de reemplazar el porta-objetos de la platina. Después que la preparación se ha colocado de nuevo en la platina, suba el condensador a la posición correcta mientras observa cuidadosamente las gotitas de aceite de la lente condensadora y del porta-objetos de microscopio. Estas gotas deben fundirse en una sola en cuanto el condensador se pone en la posición adecuada.
- Colocar la muestra a observar en el centro de la platina por donde pasa el eje óptico, enfocar utilizando objetivos de pocos aumentos. Gire el revolver hasta emplazar el objetivo de inmersión (sin aceite) en el eje óptico y verá una imagen de la muestra en el centro aunque poco definida. Para poner aceite, gire 1 posición el revolver (hacia la derecha o izquierda) para dejar espacio entre la preparación y el objetivo, aplique una gota de aceite sobre la preparación y otra en la lente inferior del objetivo.



- Use un gotero para colocar una pequeña gota de aceite directamente sobre la lente inferior del objetivo de inmersión. A continuación, colocar otra gota de aceite sobre el cubre inmediatamente por encima del área a explorar.
- A continuación, gire rápidamente el revolver hasta que el objetivo quede en posición correcta para la fusión de ambas gotas de aceite (una en la muestra y otra en el objetivo) permitiendo una imagen resultante nítida.
- A medida que va observando diferentes áreas de la muestra y mueva periódicamente la posición de la platina con respecto a la lente objetivo y la parte delantera del condensador compruebe que haya siempre aceite entre los elementos ópticos. Al desplazar la muestra sobre un área grande en un porta-objetos, a menudo es necesario volver a aplicar un poco de aceite para asegurar la continuidad del medio de formación de imágenes.

Después de su uso, limpie siempre todas las lentes y partes ópticas de aceite.

Compruebe siempre que las lentes del microscopio (objetivo, condensador y preparación) se mantengan limpios y libres de aceite de inmersión. Utilice un papel sin pelusa o un paño para limpiar suavemente el exceso de aceite después de trabajar con el equipo. Después de retirar el aceite, utilizar un disolvente adecuado para eliminar las trazas de aceite de inmersión que pudieran quedar. La falta de limpieza adecuada puede producir pequeños cristalitos que se forman en la superficies cuando se seca el aceite o bien encontrar polvo u otras partículas contaminantes de la atmósfera.

6.0 ELECTRICIDAD

Corriente eléctrica: 90-240 V, 50/60 Hz

Fuente de luz: 3W LED blanco de gran eficiencia



Selecting the power supply

- En la parte trasera del microscopio encontrará un boton de encendido con 3 posiciones.



Posición I: entrada de luz desde de la red principal

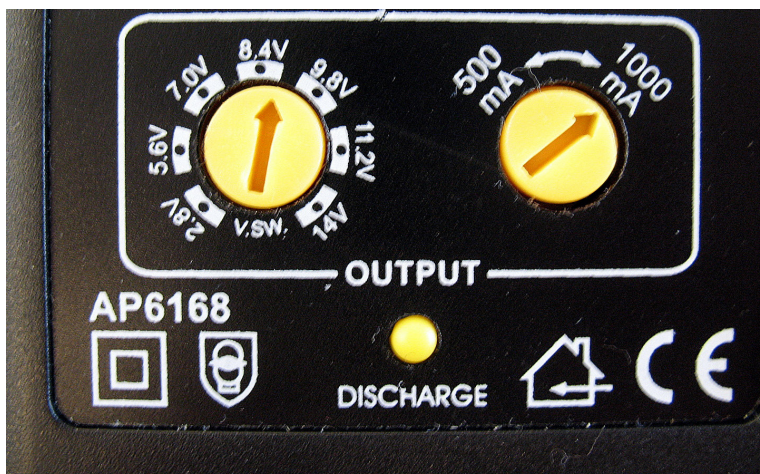
Posición 0: OFF – apagado

Posición II: entrada de luz a través de la batería. interna

- Una carga completa de la batería proporciona aproximadamente 2 horas de uso continuo con una intensidad máxima de la luz, o aproximadamente 3 horas a intensidad media.
- La vida útil típica de la batería interna es de unos 500 ciclos de carga / descarga.

Utilización de la baterías recargables

- Con el fin de garantizar una óptima duración de la batería y su eficiencia, siga estos pasos para la recarga:
 - ◆ Conecte el cargador a la tensión de línea de 230V (**ADVERTENCIA: no es compatible con 110Vac**)
 - ◆ Compruebe los ajustes de voltaje y corriente de carga:



Voltage: **8,4V**

Corriente: **1000mA**

Nunca cambiar esta configuración a fin de evitar daños a la batería:

- ◆ Conecte el cargador a la toma de corriente en la parte trasera



- ◆ Pulse el botón “descargar” hasta que el LED se vuelva de color amarillo.
- ◆ Después de la fase de descarga, el cargador iniciará automáticamente el proceso de carga y el LED se pondrá rojo.
- ◆ Cuando las baterías se cargan completamente, el LED se volverá verde (esto podría tardar alrededor de 3 horas). El cargador aplica una carga de mantenimiento, siempre y cuando este conectado al microscopio.
- ◆ Desconecte el conector del cargador de la parte trasera.
- ◆ Desconecte el cargador de la red eléctrica de 230V

Tome nota:

- Después de 2 horas de uso a plena intensidad, deje de utilizar la fuente de alimentación de la batería, incluso si la luz LED de aviso sigue encendida. La descarga excesiva puede dañar las baterías.
- Las baterías están sujetas a auto-descarga: después de 30 días de inactividad, la batería se reduce un 40% de su capacidad, por lo que se sugiere recargar la batería como se ha descrito anteriormente.
- Mientras que la batería se está cargando, puede utilizar el microscopio conectándolo a la red principal de corriente, colocando el interruptor principal en la posición I.

Sustitución de la batería

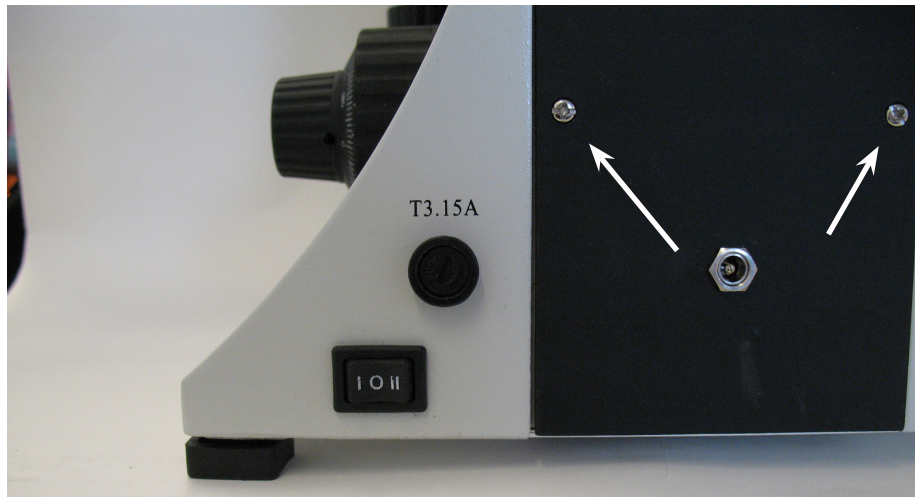
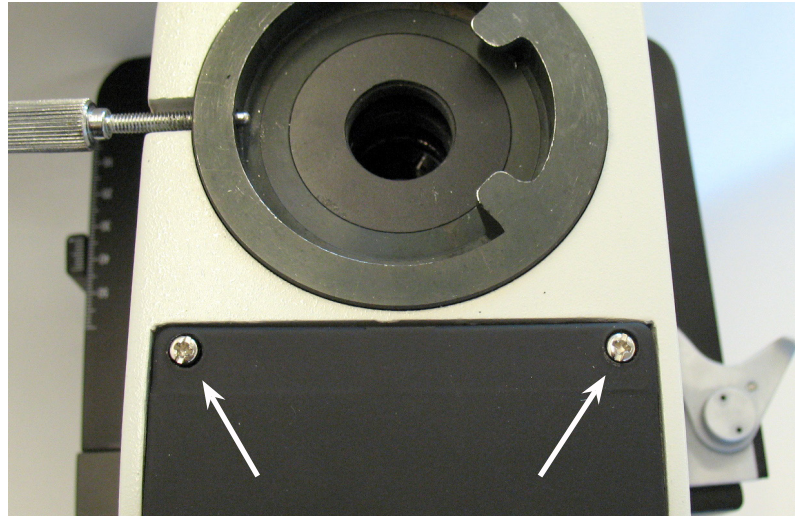
Utilice solamente éste tipo de batería: AA NiMH 1.2V, capacidad de al menos 2500mAh

Después de unos 500 ciclos de carga / descarga, las baterías internas pierden su capacidad y la autonomía comienza a disminuir. Con el fin de cambiar las pilas, siga estos pasos:

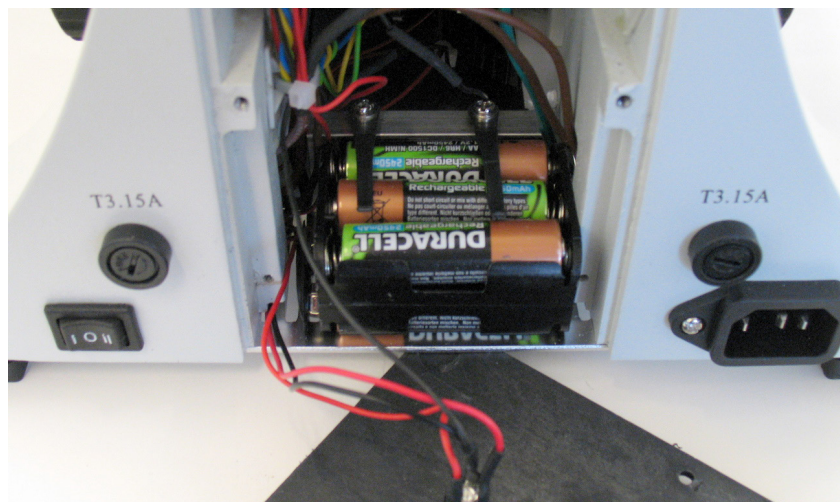


7.0 UTILIZACIÓN DE LA BATERÍAS RECARGABLES

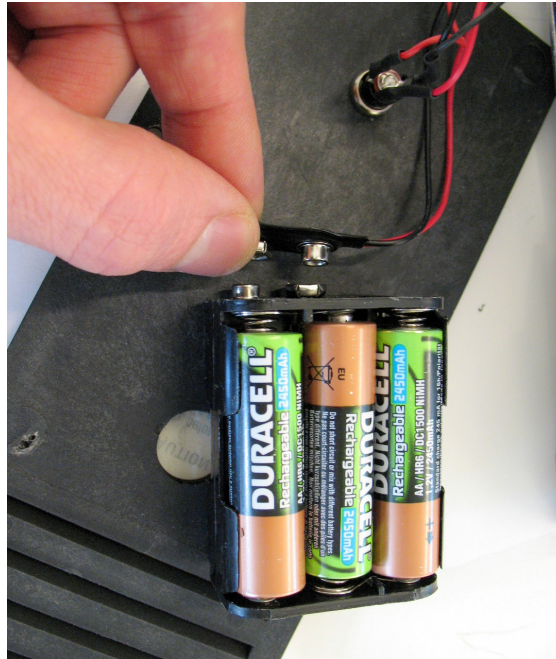
- Desconecte el cable de alimentación de la parte posterior del microscopio.
- Afloje los cuatro tornillos que fijan la cubierta de plástico de nuevo



- Quite la cubierta de plástico y colóquela suavemente en la parte posterior del microscopio (no tire de él con demasiada fuerza, ya que tiene los cables conectados a la misma).
- En el interior de la parte inferior se puede ver la sujeción de baterías



- Tire del soporte de la pila hacia usted, con el fin de extraerlo.
- Retire el conector de dos polos de la batería:



- Quite las pilas de dentro del soporte y reemplacelas con las nuevas (prestar atención a la correcta polaridad de cada pila).
- Vuelva a conectar el conector de dos polos y reemplazar el soporte de la batería en el interior del microscopio
- Cierre la cubierta de plástico de nuevo con los cuatro tornillos

Tome nota:

Utiice solamente éste tipo de pilas: AA NiMH 1.2V, con capacidad de al menos 2500mAh

respetar su normativa local para la eliminación de baterías de níquel-hidruro metálico



8.0 MEDIDAS ECOLÓGICAS

En conformidad con el Art. 13 del D.L. de 25 julio 2005 nº151.Actuación de las Directivas 2002/95/CE, 2002/96/CE y 2003/108/CE, relativas a la reducción del uso de sustancias peligrosas en la instrumentación eléctrica y electrónica y a la eliminación de residuos.



El símbolo del contenedor que se muestra en la instrumentación o en su embalaje indica que el producto cuando alcanzará el final de su vida útil se deberá recoger de forma separada del resto de residuos. La gestión de la recogida selectiva de la presente instrumentación será llevada a cabo por el fabricante. Por lo tanto, el usuario que desee eliminar la presente instrumentación tendrá que ponerse en contacto con el fabricante y seguir el sistema que éste ha adoptado para permitir la recogida selectiva de la instrumentación. La correcta recogida selectiva de la instrumentación para su posterior reciclaje, tratamiento y eliminación compatible con el ambiente contribuye a evitar posibles efectos negativos al ambiente y a la salud y favorece su reutilización y/o reciclado de los componentes de la instrumentación.

La eliminación del producto de forma abusiva por parte del usuario implicaría la aplicación de las sanciones administrativas previstas en la normativa vigente.



OPTIKA S.R.L.

Via Rigla 30, Ponteranica (BG) - ITALY

Tel.: ++39 035 571392 (6 linee) Telefax: ++ 39 035 571435

MAD Iberica Aparatos Cientificos

c/. Puig i Pidemunt, nº 28 1º 2ª - (Pol. Ind. Pla d'en Boet) 08302 MATARO
(Barcelona) España Tel: +34 937.586.245 Fax: +34 937.414.529

Alpha Optika Microscopes Hungary

2030 ÉRD, Kaktusz u. 22.- HUNGARY

Tel.: (23) 520-077 Fax: (23) 374-965