

Mikroskop

1 Lernziele

Bauteile und Funktionsweise eines Mikroskops, Linsenfunktion und Abbildungsgesetze, Bestimmung des Brechungsindex, Limitierungen in optischen Abbildungen.

2 Vorausgesetzte Kenntnisse

1. Brechungsgesetz, Linsenfunktion, Linsenabbildungsgesetze, Linsenfehler
2. Abbildungsmaßstab, Vergrößerung, Mikroskop
3. Beugung am Spalt, Auflösungsvermögen, Rayleigh-Kriterium, Vorteile anderer Mikroskoptypen

3 Literatur

Bergmann-Schäfer, Band III *Optik*; Hecht *Optik*; Gerthsen *Physik*; Alonso-Finn *Physik*; Westphal *Physik* und *Physikalisches Praktikum*; Walcher *Praktikum der Physik*; Literaturmappe.

4 Grundlagen

Ein Lichtmikroskop besteht aus mindestens zwei Linsen, die in einem bestimmten Abstand zueinander angeordnet sind. Das Mikroskop-Objektiv erzeugt in der Zwischenbildebene ein reelles, vergrößertes Zwischenbild B_Z des Präparates G . Dieses reelle Zwischenbild betrachtet der Beobachter mit dem als Lupe wirkenden Okular. Das Okular erzeugt dabei vom reellen Zwischenbild B_Z ein virtuelles, vergrößertes Bild B_V in der Sehweite z (siehe Abb. 1). Objektiv und Okular sind zur Verringerung der Abbildungsfehler (im Gegensatz zur Skizze) meist aus mehreren Linsen zusammengesetzt. An der Stelle des Zwischenbildes befindet sich im Okular oft eine Strichskalenplatte, die eine Vermessung des Präparates ermöglicht.

5 Aufgaben

Vorbereitungsaufgabe, vorher zu Hause zu bearbeiten:

1. Konstruieren Sie eine reelle und eine virtuelle Abbildung mit einer Sammellinse, sowie die zusammengesetzte Abbildung des Mikroskops.

Präsenzaufgaben: **Die Genauigkeit aller Messungen ist durch Fehlerrechnung zu beurteilen.**

2. Bestimmen Sie V nach 6.1, β nach 6.2, und V_L nach 6.3 für die vorliegende Objektiv – Okular - Kombination; berechnen Sie die Brennweite f_1 des Objektivs nach 6.4, die Gegenstandsweite g sowie das Verhältnis g/f_1 von Gegenstandsweite zu Brennweite nach 6.5.
3. Bestimmen Sie die numerische Apertur NA und die kleinste optisch noch auflösbare Strukturgröße d nach 6.6.
4. Bestimmen Sie die Brechzahl n einer Glasprobe nach 6.7.

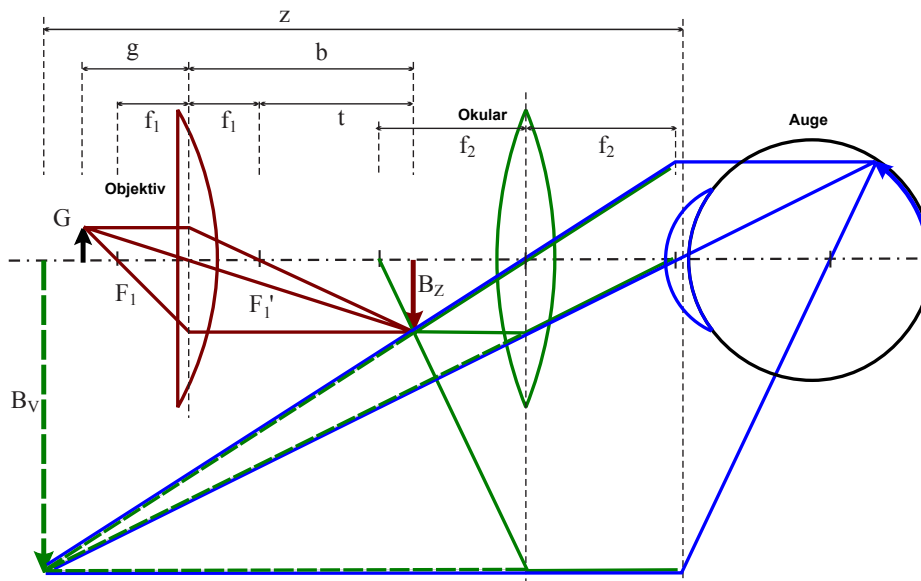


Abbildung 1: Optischer Strahlengang im Mikroskop

6 Versuchsdurchführung

6.1 Messverfahren für V

Die Vergrößerung V eines optischen Geräts ist definiert als das Verhältnis der beiden Sehwinkel, unter denen ein Gegenstand einmal *mit* Benutzung des optischen Instruments, und einmal *ohne* Instrument dem Betrachter erscheint:

$$V = \frac{\omega_{\text{mit}}}{\omega_{\text{ohne}}} \stackrel{\text{für kleine Winkel}}{\cong} \frac{\tan \omega_{\text{mit}}}{\tan \omega_{\text{ohne}}} \quad (1)$$

Der Sehwinkel mit Instrument ω_{mit} lässt sich mit der Bildgröße B_V und dem Bildabstand z gemäß $\tan \omega_{\text{mit}} = B_V/z$ berechnen. Zur Bestimmung der Bildgröße B_V beobachtet man mit dem einen Auge das Auflösungsobjekt durch das Mikroskop, und gleichzeitig mit dem anderen Auge am Mikroskop vorbei die gravierte Messingskala, sodass sich die Bilder der beiden Skalen überdecken. Das vergrößerte Bild B_V wird nun an der Messingskala vermessen. Der Abstand z zwischen dem Auge des Beobachters und dem Bild B_V wird vom Praktikumpartner mit dem Lineal bestimmt.

Entsprechend lässt sich der Sehwinkel ohne optisches Instrument ω_{ohne} aus der Gegenstandsgröße G und der *Norm-Sehweite* $s = 250 \text{ mm}$ gemäß $\tan \omega_{\text{ohne}} = G/s$ berechnen.

Für die Vergrößerung gilt dann:

$$V = \frac{B_V \cdot s}{z \cdot G} \quad (2)$$

6.2 Abbildungsmaßstab β des Objektivs

Die Gesamtvergrößerung V des Mikroskops ist das Produkt aus dem Abbildungsmaßstab β des Objektivs und der Vergrößerung V_L des als Lupe verwendeten Okulars:

$$V = \beta \cdot V_L \quad (3)$$

Zur Bestimmung von β misst man die Größe des Zwischenbildes B_Z eines bekannten Objektes. Dazu stellt man das Mikroskop zunächst scharf ein und wechselt dann das Okular gegen einen Mattscheibeneinsatz mit Millimeterskala aus, ohne dabei die Mikroskopeinstellung zu ändern. Durch Verschieben im Tubus bringt man die Mattscheibe an den Ort des Zwischenbildes. An der Skala auf dem Mattscheibeneinsatz kann nun die Größe des Zwischenbildes B_Z gemessen und somit β bestimmt werden.

Als Objekt dient das transparente Rechteck (Länge $360 \mu\text{m}$), in dem die Mikrometerskala aufgedruckt ist.

6.3 Okularvergrößerung V_L

Die Okularvergrößerung wird aus β und V berechnet.

6.4 Objektivbrennweite f_1

Die Objektivbrennweite f_1 lässt sich aus dem Abbildungsmaßstab β und der optischen Tubuslänge t nach der Linsenformel berechnen (vgl. Abb.1). Hierbei gilt:

$$\beta = \frac{b}{g} = \frac{b - f_1}{f_1} = \frac{t}{f_1} \quad ; \quad f_1 = \frac{t}{\beta} \quad (4)$$

Die optische Tubuslänge t bei den vorhandenen Mikroskopen ist praktisch gleich der mechanischen Tubuslänge von 160mm.

Bemerkung: Bei den meisten Mikroskopobjektiven ist auf der Fassung eingraviert, für welche optische Tubuslänge sie berechnet wurden (d.h. ihre Abbildungsfehler am kleinsten sind).

6.5 Gegenstandsweite sowie das Verhältnis von Gegenstandsweite zu Objektivbrennweite

Aus dem Abbildungsmaßstab β und der Linsenformel für das Objektiv lässt sich die Gegenstandsweite g berechnen:

$$g = f_1 \cdot \left(1 + \frac{1}{\beta} \right) \quad (5)$$

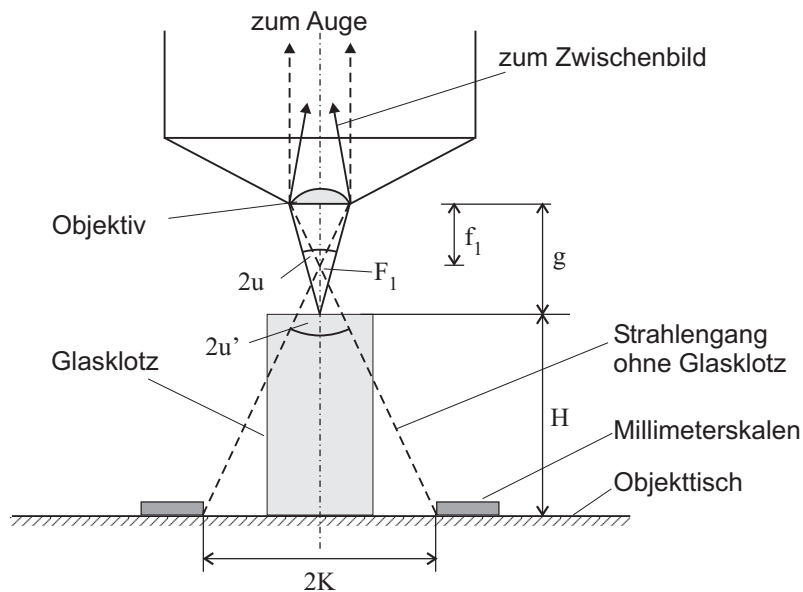


Abbildung 2: Bestimmung der numerischen Apertur

6.6 Auflösungsvermögen

Der Effekt der Beugung ist von grundlegender Bedeutung für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit optischer Instrumente. Für den Fall inkohärenter Beleuchtung wird infolge der Beugung des Lichtes an der kleinsten Begrenzung (Apertur) im Strahlengang ein Punkt nicht als Punkt abgebildet, sondern als Lichtscheibchen (Beugungsscheibchen). Die Größe des Beugungsscheibchens bestimmt das Auflösungsvermögen. Wenn zwei Objektpunkte (z.B. Gitteröffnungen) so nahe beieinander liegen, dass sich ihre Beugungsscheibchen überdecken, können sie im Bild nicht mehr als getrennte Punkte wahrgenommen werden (vgl. „Rayleigh-Kriterium“). Beim Mikroskop kann diese Theorie angewandt werden, solange das Objekt das auftreffende Licht diffus zerstreut.

Es sei λ die Wellenlänge des verwendeten Lichtes, n der Brechungsindex des Mediums zwischen Objekt und Objektiv und $2u$ der Öffnungswinkel des vom Objektiv aufgenommenen Lichtbündels. Dann darf nach der Abbè'schen Theorie der Abstand zweier Objektpunkte nicht kleiner sein als

$$d \approx \frac{\lambda}{n \cdot \sin u}, \quad (6)$$

wenn die beiden Punkte im Bild noch getrennt erscheinen sollen. Die Größe $n \cdot \sin u$ heißt **numerische Apertur (NA)**. **Bemerkung:** Die numerische Apertur ist bei den meisten Mikroskopobjektiven auf der Fassung eingraviert.

Da eine direkte Bestimmung der numerischen Apertur durch eine Vermessung der Objektivgeometrie nicht ohne Probleme möglich ist, kann alternativ folgendes Messverfahren angewandt werden:

Der Winkel u wird nach dem in Abb.2 dargestellten Verfahren bestimmt. Man legt einen Gegenstand (Glasklotz hochkant) auf den Objektisch und stellt auf dessen (matte) Oberfläche scharf ein. Die Höhe H des Gegenstandes wird mit der Schieblehre gemessen. Dann entfernt man den Gegenstand sowie das Okular (da man ja die numerische Apertur des **Objektivs** bestimmen möchte) und lässt alles übrige am Mikroskop eingestellt (Schärfeneinstellung **nicht** verändern). Nun schiebt man die beiden Messingschieber auf dem Objektisch soweit zueinander, dass sie gerade im Gesichtsfeld des Objektivs erscheinen (beachten Sie die Umkehrung der Abbildung). Diese Entfernung $2 \cdot K$ wird mit der Schieblehre gemessen und aus K und H der Winkel u' berechnet. Bei hinreichend großem Abbildungsmaßstab β des Objektivs (vergleiche 6.5 und Aufg.1) gilt:

$$g \cong f_1 \quad ; \quad u \cong u' \quad (7)$$

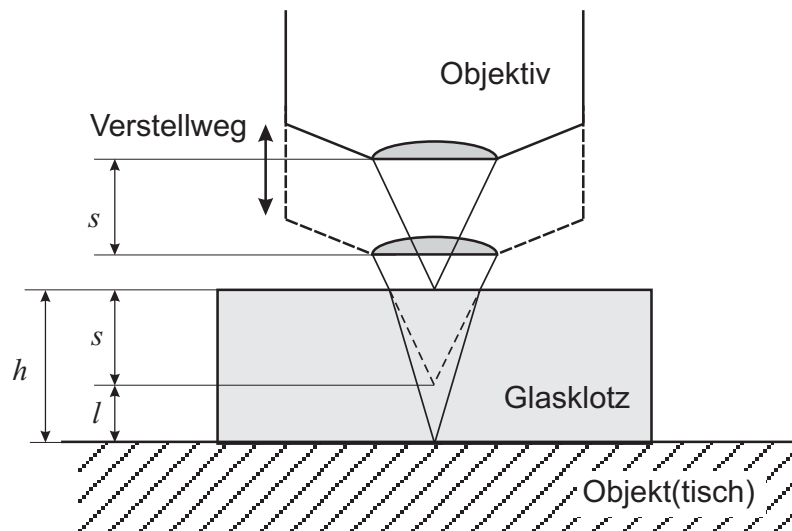


Abbildung 3: Bestimmung des optischen Brechungsindex

6.7 Bestimmung der Brechzahl durch Messung der optischen Dicke

(Methode des Duc de Chaulnes 1712-1777) Ein Stück Glas erscheint beim Durchsehen dünner als es tatsächlich ist. Das Verhältnis zwischen der tatsächlichen *geometrischen Dicke* h und der *scheinbaren optischen Dicke* s ist näherungsweise (bei achsnahen Strahlen exakt) gleich der Brechzahl.

$$n \cong \frac{h}{s} \quad (8)$$

Achtung:

Je nach Mikroskoptyp (schwarzes oder graues) wird Messverfahren 1 oder 2 angewandt!

Messverfahren 1 (schwarze Mikroskope):

Zur Messung des Brechungsindex der Glasprobe stellt man zunächst auf die Oberfläche und anschließend auf die Unterfläche der (nun liegenden) Glasprobe scharf und liest den entsprechenden Verstellweg s an der kalibrierten Rändelschraube am Mikroskop ab. Mit der geometrischen Dicke h , die per Schieblehre ermittelt wird, kann nun nach Gleichung (8) direkt der Brechungsindex bestimmt werden.

Messverfahren 2 (graue Mikroskope):

Da bei den grauen Mikroskopen (oder bei dicken Glasproben) der Verstellweg des Feintriebes des Mikroskops nicht ausreicht, geht man folgendermaßen vor:

Man stellt das Mikroskop zunächst auf ein Objekt scharf, wobei zwischen Objektiv und Objekt der Glasklotz gelegt wurde. Dann entfernt man den Glasklotz und stellt erneut scharf. Aus diesem Verstellweg l und der geometrischen Dicke h ergibt sich die optische Dicke $s = h - l$. Damit lautet Gleichung (8) für die Brechzahl also

$$n \cong \frac{h}{h-l} \quad (9)$$