

MIKROSKOP

GP II

Stichworte

Geometrische Optik; Abbildung durch Linsen. Auflösungsvermögen und Beugungsbegrenzung; Abbesche Theorie, numerische Apertur.

Ziele des Versuchs

Verständnis der Wirkungsweise eines Mikroskops und Einführung in den Umgang mit optischen Komponenten und Instrumenten.

Literatur

[1]: Kapitel 9.2.1 mit 9.2.6

[4]: Kapitel 1.5.1, 3.9, 3.12

Aufgaben

- Bestimmung der Brennweite einer Linse nach der *Besselschen Methode*.
- Aufbau eines Mikroskop-Strahlenganges. Bestimmung der Vergrößerung für drei verschiedene Tubuslängen und Vergleich der Ergebnisse mit den theoretischen Erwartungen.
- Kalibrierung eines Okularmikrometers (Messokular). Bestimmung des Drahtabstandes (Gitterkonstante) und der Drahtstärke eines Drahtnetzes (Kreuzgitter).
- Überprüfung der *Abbeschen Theorie*. Beobachtung der Auflösungsgrenze des Mikroskops an dem Drahtgitter. Bestimmung der numerischen Apertur für diesen Grenzfall und Vergleich des daraus erwarteten kleinsten auflösbaren Punktabstandes mit den gemessenen Gitterkonstanten.
- Rechenaufgabe: Angabe des kleinsten auflösbaren Punktabstandes für stärkste Objektive (numerische Apertur 1,4 mit Immersionsmittel) und der damit erreichbaren sinnvollen Grenzvergrößerung optischer Mikroskope.

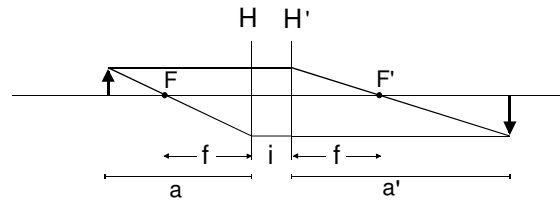
Physikalische GrundlagenAbbildung durch Linsen

Die Abbildung durch eine Linse oder ein zentriertes Linsensystem wird für Lichtbündel in der Umgebung der Symmetrieachse (optische Achse) durch die Abbildungsgleichung beschrieben:

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

mit dem Abbildungsmaßstab $\beta = \frac{a'}{a}$

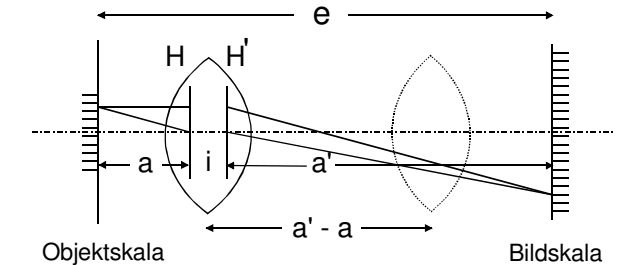
Der *Abbildungsmaßstab* β gibt das lineare Größenverhältnis zwischen dem tatsächlich vorhandenen oder prinzipiell auffangbaren Bild und dem Gegenstand an.



Dabei sind a die Gegenstandsweite, a' die Bildweite und f eine charakteristische Größe des Systems, die *Brennweite*. Das System wird darüber hinaus durch die beiden *Hauptpunkte* H und H' auf der Achse bestimmt. Die zugehörigen *Brennpunkte* F und F' liegen im Abstand der Brennweite von den Hauptpunkten. Ebenso sind die Gegenstands- und die Bildweite die Entfernungen von den zugeordneten Hauptpunkten. Die Hauptpunkte liegen nicht immer in oder nahe bei der Linse; es gibt Linsensysteme mit Hauptpunkten, die mehrere Brennweiten vom letzten Linsenscheitel entfernt außerhalb liegen.

Bei *dünnen Linsen* ist der Hauptpunktabstand i klein und kann praktisch vernachlässigt werden. Im Allgemeinen ist dies jedoch nicht der Fall, so dass eine einfache Messung der Brennweite nach (1) wegen des unbekanntenen Hauptpunktabstands nicht möglich ist. Bei der *Besselschen Methode* (Friedrich Wilhelm Bessel; 1784-1848; dt. Astronom und Mathematiker) werden bei festem Abstand zwischen Gegenstands- und Bildebene

($e > 4 \cdot f$) sowohl die vergrößernde als auch die verkleinernde Abbildung eingestellt. Gemessen werden der Abstand e , die Differenz $a - a'$ (aus der Verschiebung der Linse zwischen den beiden Abbildungen) und der Abbildungsmaßstab β , so dass drei unabhängige Messgrößen vorliegen, mit denen nach (1) die zwei Unbekannten f und i bestimmt werden können (siehe Abbildung).



Löst man die Abbildungsgleichung nach a' bzw. a auf, und ersetzt das Verhältnis a'/a durch β , so erhält man für die Brennweite:

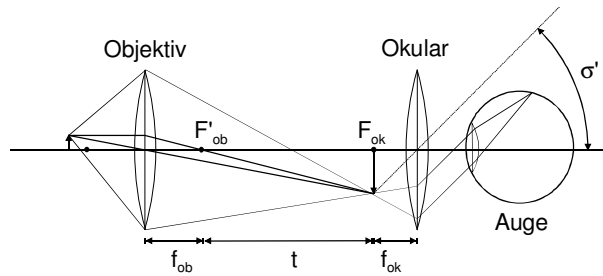
$$(2) \quad f = \frac{a - a'}{\frac{1}{\beta} - \beta}$$

und für den Hauptpunktabstand i aus der Entfernung e (siehe Abbildung):

$$(3) \quad i = e - (a + a') = e + (a - a') \frac{\beta + 1}{\beta - 1}$$

Mikroskop

Ein Mikroskop ist ein zweistufiges Abbildungssystem zur Vergrößerung in der Nähe liegender Objekte. Mit einem *Objektiv* wird ein reelles Zwischenbild eines Objekts erzeugt, das mit einem als Lupe wirkendem *Okular* betrachtet wird. Den Abstand t zwischen den beiden zugewandten Brennpunkten von Objektiv und Okular nennt man die *optische Tubuslänge* des Mikroskops (siehe Abbildung auf der folgenden Seite).



Als *Vergrößerung* eines optischen Instrument bezeichnet man die Vergrößerung des *Sehwinkels*, der die scheinbare Größe eines betrachteten Objekts bestimmt. Die Vergrößerung Γ ist definiert als:

$$(4) \quad \Gamma = \frac{\text{Tangens des Sehwinkels mit Instrument}}{\text{Tangens des Sehwinkels ohne Instrument}} = \frac{\tan \sigma}{\tan \sigma_0}$$

Dabei wird der Sehwinkel ohne Instrument auf die sogenannte *konventionelle Sehweite* $a_0 = 250 \text{ mm}$ bezogen. Die Begriffe Vergrößerung und Abbildungsmaßstab sind zu unterscheiden.

Die Gesamtvergrößerung eines Mikroskops setzt sich multiplikativ aus dem Abbildungsmaßstab des Objektivs und der Lupenvergrößerung des Okulars zusammen:

$$(5) \quad \Gamma = \beta_{Ob} \Gamma_{Ok}$$

Für den Sehwinkel, unter dem ein (virtuelles) Bild eines Objekts vor der Lupe (Okular) erscheint, gilt:

$$(6) \quad \tan \sigma_{Ok} = \frac{y'}{a'} = \frac{y}{a}$$

Damit erhält man als Vergrößerung:

$$(7) \quad \Gamma_{Ok} = \frac{a_0}{a}$$

Für ein auf Unendlich akkomodiertes Auge ist $a = f_{Ok}$, d.h.:

$$(8a) \quad \Gamma_{Ok}(\infty) = \frac{a_0}{f_{Ok}}$$

Bei der Versuchsdurchführung wird gleichzeitig zum mikroskopischen Bild eine in a_0 entfernte Vergleichsskala betrachtet, so dass das Auge auf die konventionelle Sehweite akkomodiert ist ($a'=a_0$). Aus der Abbildungsgleichung lässt sich dann die Gegenstandsweite a berechnen (Vorzeichen beachten!), und es folgt:

$$(8b) \quad \Gamma_{Ok}(a_0) = \frac{a_0}{f_{Ok}} + 1$$

Die Lupenvergrößerung wächst mit abnehmender Brennweite, was wegen der notwendigen kleinen Krümmungsradien eine Verkleinerung des Linsendurchmessers und damit eine Reduzierung des Auflösungsvermögens zur Folge hat. Zudem ist bei starken Lupen der freie Arbeitsabstand zwischen Auge und Objekt unbequem klein. Wegen dieser Nachteile verwendet man Lupen bis zu höchstens 30-facher Vergrößerung.

Für die Gesamtvergrößerung des Mikroskops erhält man mit (5) und (8a bzw. 8b) je nach Akkomodation des Auges:

$$(9a) \quad \Gamma_{\infty} = \frac{t}{f_{Ob}} \frac{a_0}{f_{Ok}} \quad \text{bzw.}$$

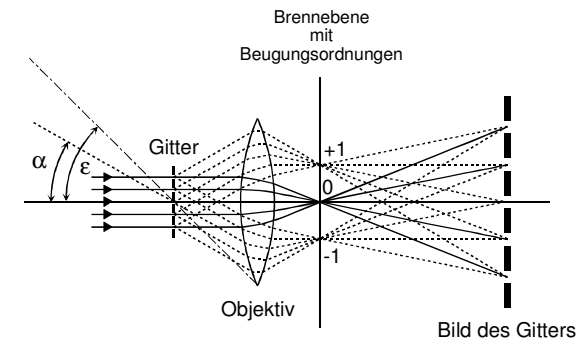
$$(9b) \quad \Gamma_o = \frac{t}{f_{Ob}} \left[\frac{a_0}{f_{Ok}} + 1 \right]$$

Auflösungsvermögen des Mikroskops

Im Rahmen der geometrischen Optik sollte es möglich sein, bei genügend großen Tubuslängen und kleinen Objektivbrennweiten gemäß (9a,b) die Vergrößerung beliebig zu erhöhen. Dem entgegen wird jedoch eine Begrenzung des Auflösungsvermögens beobachtet,

zu dessen Erklärung wellenoptische Betrachtungsweisen herangezogen, d.h. Interferenz und Beugung berücksichtigt werden müssen.

Die *Abbesche Theorie* der Abbildung (*Ernst Abbe*; 1840 – 1905; dt. Physiker und Sozialreformer) wählte als Objektmodell ein Strichgitter (mit einer Gitterkonstanten d), das von einer ebenen Welle beleuchtet wird (siehe Abbildung).



In der Brennebene der Linse entsteht nach dem *Huygens'schem Prinzip* (*Christian Huygens*; 1629 – 1695; nld. Physiker, Mathematiker und Astronom) und durch Interferenz ein ebenfalls linienförmiges Beugungsmuster des Gitters (Beugungsdiagramm). Intensitätsmaxima ergeben sich, wenn alle Teilwellen konstruktiv interferieren, d.h., wenn die Phasendifferenzen der Wellen benachbarter Spalte ein ganzzahlig Vielfaches der Wellenlänge λ betragen. Dies ist erfüllt, wenn:

$$(10) \quad \frac{d \sin \alpha}{\lambda} = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$$

Charakteristisch ist dabei, dass der Beugungswinkel α umso größer wird, je kleiner der Abstand d der Gitterstriche ist.

Im weiteren Verlauf der Strahlen entsteht wiederum durch Interferenz in der Bildebene Z das Bild des Gitters (siehe Abbildung). Für ein Bild minimaler Ähnlichkeit (periodische Intensitätsverteilung) müssen mindestens die Teilwellen von zwei benachbarten Beugungsordnungen von der Linse erfasst werden, d.h., der Winkel für die 1. Beugungsordnung darf höchstens gleich

dem objektseitigen Öffnungswinkel sein. Damit gilt für die minimale auflösbare Gitterkonstante:

$$(11) \quad d_{\min} = \frac{\lambda}{\sin \epsilon}$$

Der auflösbare Abstand wird kleiner, wenn der Raum zwischen Objekt und Objektiv durch ein Medium mit dem Brechungsindex n ausgefüllt wird (Immersionmittel), in dem sich die Wellenlänge um den Faktor n verkleinert. Die Größe:

$$(12) \quad A = n \sin \epsilon$$

die zusammen mit der Wellenlänge das Auflösungsvermögen des Mikroskops bestimmt, heißt *numerische Apertur* des Objektivs.

Das Bild in dem oben geschilderten Grenzfall entspricht dem eines Gitters mit \sin^2 -förmiger Transmission. Einzige Information -neben der Orientierung- ist die Gitterkonstante. Um z.B. das Verhältnis der Spaltbreite im Gitter zur Gitterkonstanten zu bestimmen, müssen weitere Beugungsordnungen zur Abbildung beitragen. Die für das Strichgitter angestellten Überlegungen haben auch für beliebig strukturierte Objekte Bedeutung, die formal durch eine Überlagerung von Gittern mit verschiedenen Gitterkonstanten beschrieben werden können (Fourier-Zerlegung; siehe auch Versuch *BEUGUNG UND INTERFERENZ*).

Apparatur und Geräte

Zwei 40-mm-Linsen (als Objektiv und Okular). Zwei beleuchtete 1-mm-Skalen als Objekt und Vergleichsskala.

1/10-mm-Skala auf Glasträger (Okularmikrometer). Halbdurchlässiger Spiegel zum Einblenden der Vergleichsskala.

Drahtgitter. Verschiedene Lochblenden.

Versuchsdurchführung und Auswertung

Der experimentelle Aufbau wurde nach didaktischen Gesichtspunkten gewählt, um einen übersichtlichen und anschaulichen Versuchsaufbau mit offenen Experimentiermöglichkeiten zu schaffen. Das hat jedoch eine geringe Qualität der optischen Abbildung mit zum Teil schwierigeren Messbedingungen zur Folge, so dass die

im Praktikum sonst übliche Messgenauigkeit hier nicht erreicht werden kann.

Aufgaben 1-3 können bei normaler Beleuchtung durchgeführt werden, und nur zur Beobachtung der Auflösungsgrenze in Aufgabe 4 muss der Raum abgedunkelt werden.

Zu Aufgabe 1

Als Objektskala sind eine beleuchtete mm-Skala und als Bildskala eine 1/10-mm-Skala auf einem Glasträger vorhanden. Die Bildskala ist rückseitig auf den Glasträger aufgebracht, das heißt, sie befindet sich objektseitig, wenn sie seitenrichtig im Gesichtsfeld der Lupe (des Okulars) erscheint. Eine günstige Entfernung für die beiden Skalen ist $e = 250$ mm. Direkt vor die auszumessende Linse wird eine (einstellbare) Lochblende aufgestellt, mit der die Helligkeit des Bildes geregelt und Abbildungsfehler durch Begrenzung auf achsennahe Strahlen reduziert werden können. Das Bild und die Bildskala werden mit der zweiten Linse als Lupe betrachtet. Kriterium für eine einwandfreie Abbildung ist *Parallaxenfreiheit*.

Bei der Fehlerrechnung ist zu berücksichtigen, dass der Abbildungsmaßstab β nach (3) mehrfach in die Auswertgleichungen eingeht. Entweder muss das *Gaußsche Fehlerfortpflanzungsgesetz* in der allgemeinen Form (partielle Ableitungen), oder ein anderes sinnvolles Schätzverfahren angewandt werden.

Zu Aufgabe 2

Aus den beiden Linsen wird ein Mikroskop-Strahlengang mit Tubuslängen von $t = 150, 200$ und 300 mm aufgebaut. Zur Reduzierung der Abbildungsfehler und zur Helligkeitsanpassung wird wieder die Lochblende (vom Objekt aus) direkt hinter das Objektiv aufgestellt.

Zur Bestimmung der Vergrößerung wird (vom Auge aus) vor die Okularlinse ein halbdurchlässiger Spiegel im Winkel von etwa 45° aufgestellt, mit dem eine zweite mm-Skala im Abstand von $a_0 = 250$ mm eingespiegelt und mit der vergrößerten Skala gleichzeitig betrachtet werden kann. Zur Bestimmung der Vergrößerung ist ein möglichst großes Intervall zu vergleichen und die Strichstärke der Skalenteilung zu berücksichtigen.

Zu Aufgabe 3

Die Tubuslänge für diese Aufgabe muss 300 mm betragen, um eine ausreichende Vergrößerung zum Ausmessen des Drahtnetzes zu erhalten. In die Zwischenbildebene des Mikroskops wird die 1/10-mm-Skala eingesetzt und durch Vergleich mit der Objektskala kalibriert (Okularmikrometer). Anschließend werden an dem Gitter sowohl der Gitterabstand als auch die Drahtstärke gemessen.

Zu Aufgabe 4

Die Lochblende wird 40 mm hinter dem Objektiv aufgestellt, so dass sie in der Brennebene der Linse liegt. Dabei ist es ausreichend, die Position mit dem Maßstab in etwa festzulegen. Man betrachtet das Drahtnetz und verringert die wirksame Öffnung des Mikroskops durch kleinere Lochblenden soweit, bis die periodische Struktur des Gitters verschwindet. Der Öffnungswinkel ϵ kann dabei aus dem Blendendurchmesser B und der Objektivbrennweite f bestimmt werden:

$$(13) \quad \tan \epsilon = \frac{B/2}{f}$$