

TU Ilmenau	Physikalisches Grundpraktikum	Versuch O3
Institut für Physik	Mikroskop	Seite 1

1. Aufgabenstellung

- 1.1. Die Brennweite f_{ob} des Mikroskopobjektivs 8x ist durch Messung der Abbildungsmaßstäbe für verschiedene Tubuslängen zu bestimmen.
- 1.2. Die Gesamtvergrößerung des Mikroskops ist bei Verwendung von Objektiv 8x und Okular 8x, 10x, 12x bzw. 16x zu bestimmen. Für alle Okulare sind jeweils die Vergrößerung Γ_{ok} und die Brennweite f_{ok} anzugeben.
- 1.3. Für die Objektive 8x und 20x sind die numerischen Aperturen zu ermitteln und das Auflösungsvermögen für sichtbares Licht ($\lambda = 550 \text{ nm}$) zu berechnen.

2. Grundlagen

Ein Mikroskop ist ein optisches Gerät zur vergrößerten Betrachtung sehr kleiner Objekte. Es besteht aus zwei Linsensystemen, dem Objektiv und dem Okular. Zur Erläuterung der Bildentstehung werden die beiden Linsensysteme jeweils zu einer dünnen Sammellinse zusammengefasst, vereinfacht dargestellt durch ihre Hauptebenen in Abb. 1. Dabei bezeichnen f_{ob} und f_{ok} die Brennweiten von Objektiv und Okular. Die Tubuslänge t entspricht dem Abstand der inneren Brennpunkte F'_{ob} und F_{ok} voneinander.

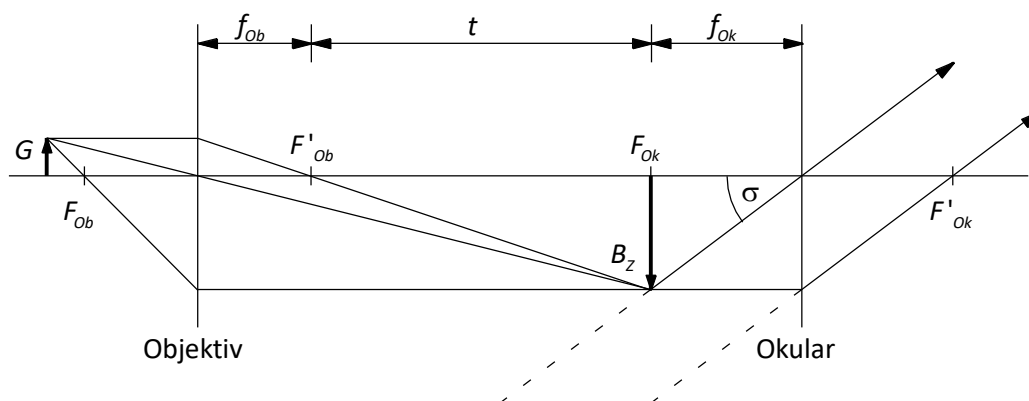


Abb. 1: Prinzipieller Strahlengang in einem Mikroskop bei entspanntem Auge.

Ein Gegenstand G zwischen einfacher und doppelter Brennweite des Objektivs wird als vergrößertes, reelles Zwischenbild B_z außerhalb der doppelten Brennweite des Objektivs abgebildet. Dieses reelle Zwischenbild wird durch das Okular hindurch betrachtet. Befindet sich das Zwischenbild in der einfachen Brennweite des Okulars, so wirkt das Okular wie eine Lupe und das wiederum vergrößerte, nun virtuelle Bild kann vom Auge betrachtet werden. Beim Mikroskopieren mit entspanntem Auge (d.h. nicht akkommodiertem Auge) soll sich das virtuelle Bild möglichst „im Unendlichen“ befinden. Dazu muss das reelle Zwischenbild in der Brennebene des Okulars liegen, wie in Abb. 1 dargestellt.

Der Sehwinkel σ ist der Winkel, unter dem ein Gegenstand vom Augemittelpunkt aus gesehen wird. Er hängt von der Größe des Objektes und seinem Abstand ab. Die Vergrößerung Γ ist definiert als das Verhältnis zwischen der scheinbaren Größe eines Objektes mit optischem Instrument zur scheinbaren

TU Ilmenau	Physikalisches Grundpraktikum	Versuch O3
Institut für Physik	Mikroskop	Seite 2

Größe ohne Instrument in der deutlichen Sehweite s (25cm vom Auge entfernt). Bezeichnen σ und σ_0 die Sehwinkel mit und ohne Gerät, so ergibt sie sich zu:

$$\Gamma = \frac{\tan \sigma}{\tan \sigma_0} \approx \frac{\sigma}{\sigma_0}. \quad (1)$$

Gemäß Definition gilt $\tan \sigma_0 = \frac{G}{s}$ und aus Abb. 1 erhält man $\tan \sigma = \frac{B_z}{f_{Ok}}$ und $\frac{B_z}{G} = \frac{t}{f_{Ob}}$. Damit errechnet sich die Gesamtvergrößerung des Mikroskops zu:

$$\Gamma_{ges} = \frac{B_z}{f_{Ok}} \frac{s}{G} = \frac{s t}{f_{Ok} f_{Ob}}. \quad (2)$$

Theoretisch muss man also die Brennweiten der Linsensysteme klein und den Abstand zwischen ihnen groß wählen um eine hohe Vergrößerung zu erzielen.

2.1. Abbildungsmaßstab und Brennweite des Objektivs

Der Abbildungsmaßstab des Objektivs γ_{Ob} bezeichnet das Verhältnis der Zwischenbildgröße B_z zur Gegenstandsgröße G . Um die Größe eines Gegenstandes G im Mikroskop zu messen, bringt man an die Stelle des reellen Zwischenbildes einen Maßstab. Dieses sogenannte Okularmikrometer ist dann gemeinsam mit dem Bild scharf zu sehen und dient als Größenvergleich. Den Abbildungsmaßstab des Objektivs kann man nun bestimmen, indem man ein Objekt definierter Größe (Objektmikrometer) mit dem Okularmikrometer vergleicht.

Für dünne sphärische Linsen gilt die Abbildungsgleichung

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{g} + \frac{1}{b} \quad (3)$$

mit f - Brennweite, g - Gegenstandsweite und b - Bildweite. Sie ist auch bei dicken Linsen oder Linsensystemen anwendbar, wenn die Bildkonstruktion mittels Hauptebenen erfolgt. Man erhält mit dem Strahlensatz und Gl. (3) folgenden Zusammenhang zwischen Abbildungsmaßstab und Brennweite des Objektivs:

$$\gamma_{Ob} = \frac{B_z}{G} = \frac{b}{g} = \frac{b}{f_{Ob}} - 1. \quad (4)$$

2.2. Okularvergrößerung und -brennweite

Beim Mikroskop setzt sich die Gesamtvergrößerung Γ_{ges} , d.h. das Verhältnis von Gegenstands- zu Bildgröße, aus dem Abbildungsmaßstab des Objektivs γ_{Ob} und der Okularvergrößerung Γ_{Ok} zusammen:

$$\Gamma_{ges} = \frac{B}{G} = \gamma_{Ob} \Gamma_{Ok}. \quad (5)$$

Im vorliegenden Versuchsaufbau erfolgt die Messung der Gesamtvergrößerung Γ_{ges} durch direkten Längenvergleich zweier Skalen. Man schaut mit Hilfe eines Strahlteilers gleichzeitig sowohl auf das

TU Ilmenau	Physikalisches Grundpraktikum	Versuch O3
Institut für Physik	Mikroskop	Seite 3

vergrößerte Bild eines Objektmikrometers als auch auf einen in der Sehentfernung $s = 25 \text{ cm}$ fixierten Millimetermaßstab. Bei bekanntem Abbildungsmaßstab des Objektivs wird zunächst die Vergrößerung des Okulars bestimmt und aus den Gleichungen (2) und (5) folgt

$$\Gamma_{ok} = \frac{s}{f_{ok}}, \quad (6)$$

worüber sich die Okularbrennweite berechnen lässt.

2.3. Auflösungsvermögen

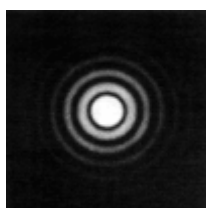


Abb. 3a

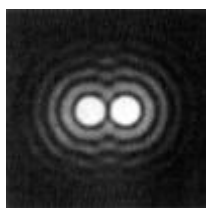


Abb. 3b

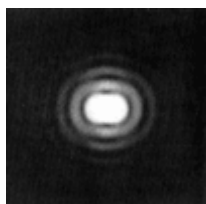


Abb. 3c

Das Auflösungsvermögen gibt an, welchen minimalen Abstand zwei Punkte haben müssen, dass sie unter dem Mikroskop getrennt wahrgenommen werden können. Diese wird begrenzt durch die Beugung des Lichtes an den im Strahlengang befindlichen Linsenfassungen, insbesondere an der Fassung des Objektivs (Öffnungsblende mit Durchmesser D). Der Beugungseffekt führt dazu, dass von einem Objektpunkt ausgehendes Licht mit der Wellenlänge λ in der Zwischenbildebene nicht in einem Punkt zusammentrifft, sondern ein Beugungsscheibchen entsteht, das ein zentrales Intensitätsmaximum hat und konzentrisch von hellen und dunklen Ringen umgeben ist (Airy-Scheibchen, Abb. 3a).

Für die weiteren Betrachtungen unterstellen wir ein selbstleuchtendes Objekt, so dass die Bedingung der inkohärenten Überlagerung der entstehenden Beugungsfiguren gegeben ist. Zwei dicht benachbarte Objektpunkte erzeugen demnach ein Beugungsmuster, das wie im Beispiel nach Abb. 3b noch gut aufgelöste Bildpunkte zeigt. Die Auflösungsgrenze ist definitionsgemäß erreicht, wenn das Intensitätsmaximum des einen Beugungsmusters mit dem ersten Minimum des zweiten zusammenfällt (Rayleigh-Kriterium, Abb. 3c). Die Beugungstheorie für kreisförmige Aperturen liefert hierfür einen minimalen Abstand y_{\min} der Objektpunkte A und B (vgl. Abb. 4):

$$y_{\min} \approx w_{\min} f_{ob} = 1,22 f_{ob} \frac{\lambda}{D} = 0,61 \frac{\lambda_0}{A_N}. \quad (7)$$

Hierbei ist $\lambda = \lambda_0 / n_G$ die Wellenlänge des Lichtes im Gegenstandsraum, die durch Immersionsöl mit einer gegenüber Luft höheren Brechzahl n_G noch reduziert werden kann. A_N ist die *numerische Apertur*, sie ist mit dem Öffnungswinkel $2u$ des Mikroskops verknüpft:

$$A_N = n_G \sin u \approx n_G \frac{D}{2f_{ob}}. \quad (8)$$

In Abb. 4 ist außerdem noch der Radius R der entstehenden Airy-Scheibchen bis zum ersten Minimum eingezeichnet. Der Kehrwert von Gl. (7) heißt *Auflösungsvermögen* A des Mikroskops und wird üblicherweise in $1/\text{mm}$ angegeben:

$$A = \frac{n_G \sin u}{0,61 \lambda_0}. \quad (9)$$

TU Ilmenau	Physikalisches Grundpraktikum	Versuch O3
Institut für Physik	Mikroskop	Seite 4

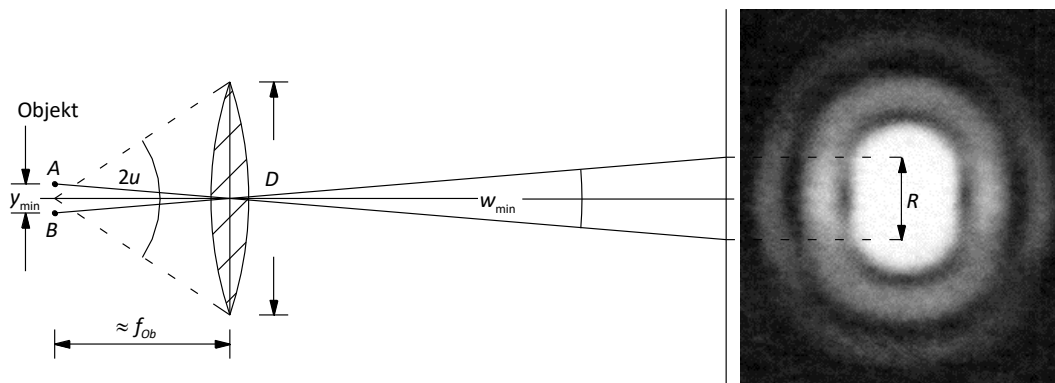


Abb. 4: Minimale Winkelauflösung w_{\min} und minimaler Punktabstand y_{\min} des Mikroskops

3. Messanleitung und Auswertung

Achtung: Bitte gehen Sie sorgsam mit dem Aufbau um. Achten Sie insbesondere beim Arbeiten mit dem Objektmikrometer und der Feinskala darauf, dass das Objektiv nicht so weit herabgesenkt wird, dass es auf dem Objekt aufstößt. Dazu kontrolliert man das Herabsenken des Mikroskops von der Seite und dreht dann während des Durchblickens nur hoch!

3.1. Abbildungsmaßstab und Brennweite des Objektivs

Die Objektivbrennweite f_{ob} wird gemäß Gl. (4) aus den Abbildungsmaßstäben γ_{ob} für verschiedene Bildweiten bestimmt. Hierzu schraubt man die X-Y-Verschiebeeinheit an der oberen Kante des Mikroskopisches fest. Das Objektmikrometer wird so eingelegt, dass man den eingätzten Schriftzug des Herstellers auch noch unter das Objektiv bewegen kann. Das Suchen und Scharfstellen dieses groben Objektes ist wesentlich einfacher als das Suchen des eigentlichen Objektmikrometers.

Skalierung des Objektmikrometers: 1/100, d. h. 1 mm in 100 Skalenteile geteilt

In das Spezialokular „Ortho 17x“ setzt man das Okularmikrometer ein, indem man die Verschraubung an der Unterseite löst und es dann in die vorgesehene Aussparung legt. Nach Verschrauben und Einsetzen des Okulars in das Tubusrohr befindet sich das Okularmikrometer genau in der Ebene des Zwischenbildes. Mit dem Dioptrienausgleich kann die Skala jetzt individuell scharf gestellt werden.

Skalierung des Okularmikrometers: 5/100, d. h. 5 mm in 100 Skalenteile geteilt

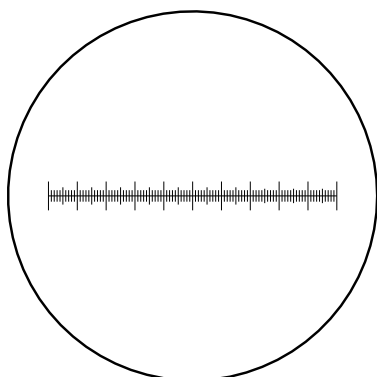


Abb.5: Objektmikrometer

Der Okularhalter erlaubt eine definierte Vergrößerung der Tubuslänge in 1 cm-Schritten. Man beginnt zunächst mit voll eingeschobenem Tubusrohr und stellt das Objektmikrometer unter dem Objektiv scharf. Die Skala ist noch einmal von einem dunklen Ring umgeben, welcher das Auffinden erleichtert (Abb. 5).

Beim Vergleich und Auszählen der Skalenabschnitte achtet man auf eine möglichst große Distanz. Man stellt am besten die linken Skalenenden übereinander und sucht sich dann zwei wieder übereinstimmende Skalenteile. Insgesamt bestimmt man für 10 verschiedene Tubusverlängerungen c die zugehörigen Abbildungsmaßstäbe γ_{ob} des Objektivs. In einem Diagramm stellt man

TU Ilmenau	Physikalisches Grundpraktikum	Versuch O3
Institut für Physik	Mikroskop	Seite 5

γ_{Ob} über c dar und berechnet die Ausgleichsgerade. Dazu kann beispielsweise das Praktikumsprogramm *PhysPract* verwendet werden.

Die Ausgleichsgerade hat dann den Anstieg $1/f_{Ob}$, ihr Absolutglied ist ein gemittelter Wert für den Abbildungsmaßstab γ_{Ob} bei minimaler Tubuslänge und sollte mit dem Nennwert für das Objektiv (Aufdruck) übereinstimmen. Der experimentell bestimmte Wert γ_{Ob} bei $c=0$ wird für die Berechnungen in Versuchsteil 3.2 verwendet.

3.2. Okularvergrößerung und -brennweite

Die Gesamtvergrößerung des Mikroskops, die sich aus Gl. (5) ergibt, wird durch direkten Vergleich der Sehwinkel des vergrößerten Objektmikrometers mit dem einer Millimeterskala bestimmt. Für die Messungen muss das Tubusrohr komplett eingeschoben werden.

Man beginnt am besten mit dem Okular 8x und sucht das Bild des Objektmikrometers wie unter 3.1 beschrieben. Dann setzt man den im Okularkästchen vorhandenen Aufsatz mit Strahlteiler und Linse auf das Okular und richtet die Blicköffnung auf den Millimetermaßstab. Mit Hilfe einer separaten Mikroskopierleuchte kann die Helligkeit des Maßstabs der des Mikroskopbildes angepasst werden. Man notiert für die Okulare 8x, 10x, 12x und 16x das Verhältnis möglichst langer Skalenabschnitte. Da nicht das gesamte Gesichtsfeld des Mikroskops mehr überblickbar ist, kann eine seitliche Kopfbewegung für die Erfassung größerer Skalenlängen erforderlich sein.

Nach Gl. (5) erhält man die Okularvergrößerung aus Γ_{ges} und dem Abbildungsmaßstab γ_{Ob} des Objektivs aus Versuchsteil 3.1. Die Brennweiten f_{Ok} der Okulare berechnet man nach Gl. (6).

3.3. Numerische Apertur und Auflösungsvermögen

Das Auflösungsvermögen der am Versuchsmikroskop vorhandenen Objektive wird abgeschätzt, indem man ihre Öffnungswinkel u bestimmt und daraus gemäß Gl. (8) die numerischen Aperturen A_N sowie nach Gl. (9) das Auflösungsvermögen berechnet.

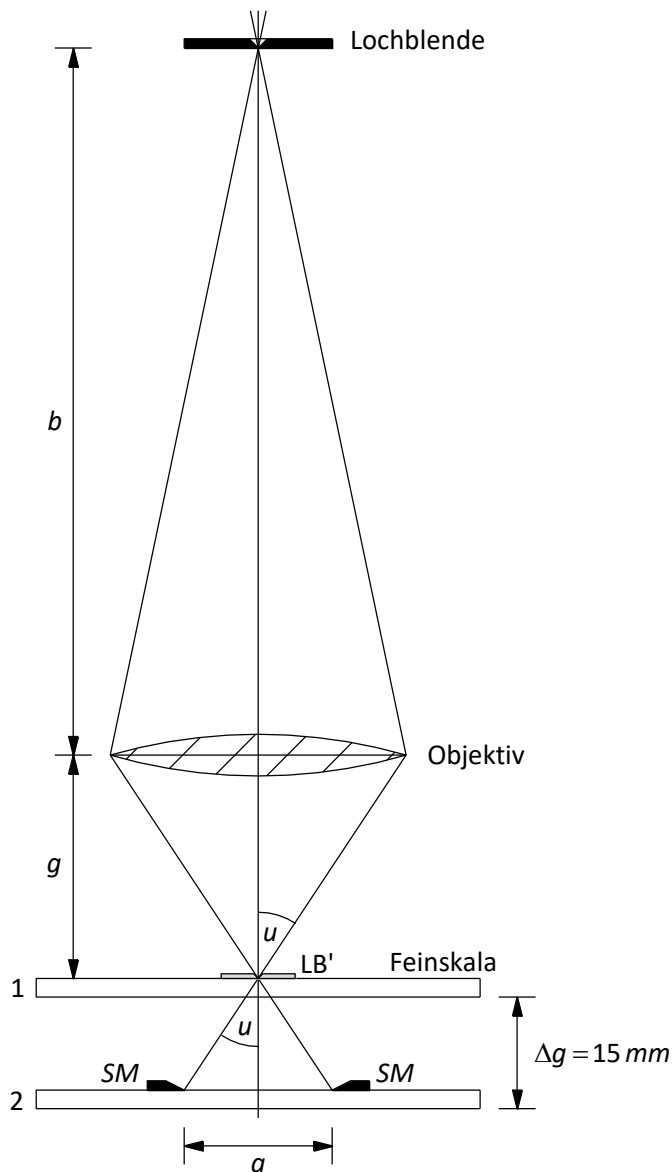
Zunächst schraubt man die für die ersten beiden Versuchsteile benötigte X-Y-Verschiebeeinheit vom Mikroskoptisch ab und platziert ihn in die dafür vorgesehene Aufbewahrungsbox. Nahe der Unterkante des Mikroskoptisches befinden sich zwei kurze Stifte, auf die ein Metallblock mit verschiebbaren Schneiden (Schiebemarken *SM*) fixiert wird. Über diese setzt man ein 15 mm hohes Distanzstück, legt die Feinskala mit 0,5 mm -Teilung (nicht das Objektmikrometer!) auf und stellt eine scharfe Abbildung ein (Stellung 1, vgl. Abb. 6).

Verwendetes Okular: „Ortho 17x“

Bei unveränderter Höhe des Mikroskoptisches entfernt man nun das Distanzstück unter der Feinskala und schiebt letztere unter die Aussparungen der Schiebemarken (Stellung 2). Die nunmehr um einen Betrag Δg vergrößerte Gegenstandsweite verschiebt das Zwischenbild weit in den Tubus des Mikroskops hinein.

Vorsichtig wird jetzt das Okularmikrometer gegen die schwarze Lochblende gleicher Baugröße ersetzt und die Okularlinse (oben) herausgeschraubt. Schaut man mit dem bloßen Auge in den Tubus des Mikroskops, ergeben sich folgende optische Verhältnisse:

TU Ilmenau	Physikalisches Grundpraktikum	Versuch O3
Institut für Physik	Mikroskop	Seite 6



Die Lochblende befindet sich an genau der Stelle, wo das Zwischenbild der Feinskala mit untergelegtem Distanzstück war. Wegen der Umkehrbarkeit der Lichtwege entsteht an dem ursprünglichen Ort der Feinskala ein Bild der Lochblende (LB' , verkleinert grau gezeichnet). Durch dieses sieht man die Umrandung des Objektivs und kann die metallischen Schiebemarken SM genau an die Enden des Sehfeldes positionieren. Die Irisblende der Beleuchtungseinrichtung darf dabei nicht zu klein eingestellt sein.

Der Winkel u ist aus dem gemessenen Abstand a der Schiebemarken und der Höhe des Distanzstückes $\Delta g = 15 \text{ mm}$ bestimmbar:

$$\tan u = \frac{a}{2\Delta g} \quad (10)$$

Bei der Berechnung des Auflösungsvermögens nach Gl. (9) wird exemplarisch für sichtbares Licht $\lambda = 550 \text{ nm}$ angenommen. Für sämtliche Messgrößen sind die Abweichungen abzuschätzen bzw. aus der Ausgleichsrechnung zu entnehmen. Daraus sind die Unsicherheiten der formulierten Ergebnisse zu berechnen.

Abb. 6: Zur Bestimmung der numerischen Apertur

4. Kontrollfragen

1. Welches sind die wesentlichen optischen Komponenten eines Mikroskops?
2. Was versteht man unter der Vergrößerung eines Mikroskops? Wovon hängt sie ab?
3. Was gibt das Auflösungsvermögen an? Wodurch wird es begrenzt?