

Versuch O9 – Mikroskop		
Name:	Mitarbeiter:	
Gruppennummer:	lfd. Nummer:	Datum:

1. Aufgabenstellung

1.1. Versuchsziel

Bestimmung der Vergrößerung eines Mikroskops und Vermessung kleiner Objekte.

Beschäftigen Sie sich mit folgenden Schwerpunkten des Versuches:

- Bildkonstruktion an einer Linse, reelles und virtuelles Bild
- Strahlengang durch ein Mikroskop
- laterale und longitudinale Vergrößerung, Normsehweite
- Grenzen der Vergrößerung, Beugung und Interferenz, Auflösungsvermögen

1.2. Messungen

1.2.1. Bestimmen Sie die laterale Gesamtvergrößerung des Mikroskops unter Verwendung des Objektmikrometers (0,01 mm / Skalenteil) und des Längenmaßstabes in Verbindung mit dem Gaußschen Spiegel entsprechend Abb. 5 und Gl. (5) für die Kombinationen: Okular(12.5) / Objektiv(10) und Okular(12.5) / Objektiv(40).

1.2.2. Kalibrieren Sie die Okularskala mit dem Objektmikrometer für das Objektiv(10) unter Anwendung von Gl. (7). Wählen Sie mit diesem Objektiv einen Teilbereich des Nervenfasers-Präparates aus und vermessen Sie diesen mit der kalibrierten Okularskala (siehe Abmessungen a und b in Abb. 12). Betrachten Sie dann nach dem Entfernen des Okulars mit der auf den offenen Tubus gelegten Mattscheibe das vom Objektiv(10) erzeugte reelle Zwischenbild des ausgewählten Teilbereiches. Vermessen Sie a und b jetzt mit einem Messschieber.

1.2.3. Kalibrieren Sie die Okularskala mit dem Objektmikrometer für das Objektiv(40) und bestimmen Sie damit den Durchmesser einer einzelnen Nervenfasers.

1.3. Auswertungen

1.3.1. Vergleichen Sie die mittels Gl. (5) berechneten Vergrößerungen mit der Theorie entsprechend Gl. (2) und führen Sie eine Fehlerabschätzung nach Gl. (10) durch. Schätzen Sie hierzu die Messunsicherheit des Abstandes zwischen Längenmaßstab und Okularmitte ΔL_B und den Messfehler bei der Bestimmung der Bildgröße ΔB . Für das Objektmikrometer gibt der Hersteller eine Genauigkeit von $\Delta G = 0,2 \mu\text{m}$ an.

1.3.2. Überprüfen Sie, ob das Verhältnis aus der unter 1.2.2. mittels Messschieber bestimmten Abmessung des Zwischenbildes und seiner mit der Okularskala gemessenen Größe dem Vergrößerungsfaktor des verwendeten Objektivs entspricht und ob der ermittelte Nervenfasers-Durchmesser anatomisch korrekt ist (WIKIPEDIA „Nervenfasers“).

1.3.3. Bei welchen Objektgrößen wären Strukturdifferenzierungen nach Gl. (8) noch möglich?

1.4. Zusatzaufgabe

Die farbige Erscheinung von Schmetterlingsflügeln wird durch die Gitterwirkung von Rippen verursacht, deren gegenseitiger Abstand ca. 200 nm beträgt. Kann man diese Rippen mit einem Lichtmikroskop auflösen, wenn man die kürzeste sichtbare Wellenlänge und ein Immersionsöl ($n = 1,5$) verwenden würde (Öffnungswinkel $\alpha = 120^\circ$)?

2. Grundlagen

Das Ziel dieses Versuches ist, die Funktionsweise eines Mikroskops einschließlich seiner Grenzen zu verstehen. Nach Bestimmung seiner Vergrößerung und einer Kalibrierung der Okularskala ist ein Nervenfasern-Präparat zu vermessen.

2.1. Bildentstehung an einer Linse

Wird mit einer Linse von einem Gegenstand ein Bild erzeugt, so ist entscheidend, ob sich der Gegenstand außerhalb oder innerhalb der Brennweite f der Linse befindet.

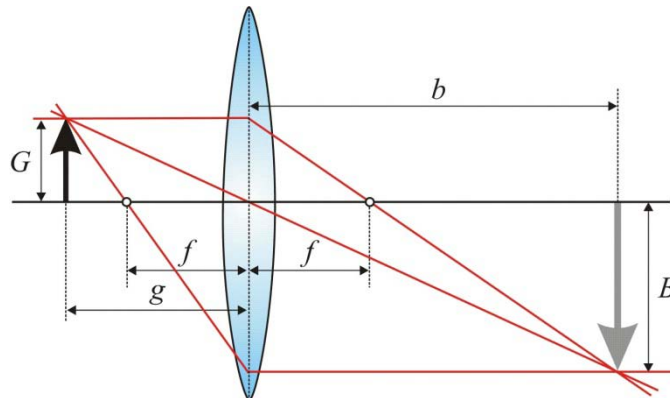


Abb. 1 Strahlengang an einer Linse (Parallel-, Mittelpunkt- und Brennpunktstrahl), bei dem sich der Gegenstand G außerhalb der Brennweite f befindet und ein reelles, umgekehrtes, vergrößertes Bild B entsteht.

Ist der Gegenstand wie in Abb. 1 vor dem Brennpunkt positioniert, entsteht ein reelles, umgekehrtes, vergrößertes Bild. Zwischen G (Gegenstandsgröße), B (Bildgröße), g (Gegenstandsweite) und b (Bildweite) gelten die Beziehungen

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{g} + \frac{1}{b} \quad (\text{Linsengleichung}) \quad V_{\text{lat}} = \frac{B}{G} = \frac{b}{g} \quad (\text{laterale Vergrößerung}) . \quad (1)$$

Völlig andere Verhältnisse ergeben sich mit einem Gegenstand innerhalb der Linsenbrennweite (s. Abb. 2).

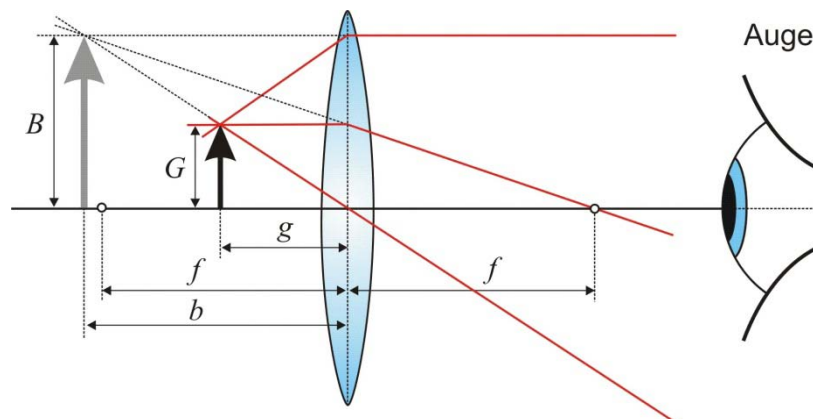


Abb. 2 Entstehung eines vergrößerten virtuellen Bildes durch Positionierung des Gegenstandes innerhalb der Brennweite der Linse.

In diesem Fall kommt es zu keinem Schnittpunkt der vom Gegenstand ausgehenden (roten) Lichtstrahlen wie in Abb.1 und somit nicht zur Entstehung eines reellen Bildes, welches z.B. auf einem Schirm oder einer fotoempfindlichen Schicht in der Bildebene der Linse direkt sichtbar gemacht werden kann, wie das bei einem Projektor oder Fotoapparat erfolgt.

In Abb. 2 führen die rückwärtigen Verlängerungen der Lichtstrahlen zu einem gemeinsamen Schnittpunkt. Infolgedessen hat der Betrachter den Eindruck, als käme das Licht von diesem Punkt, so dass er ein vergrößertes Bild des Gegenstandes wahrnimmt, obwohl dieses nicht auf einem Schirm darstellbar ist und somit nicht im Sinne eines reellen Bildes existiert. Daher spricht man in diesem Fall von einem virtuellen Bild und die Linse, welche dieses erzeugt, wird als Lupe bezeichnet.

2.2. Theoretische Bildentstehung und Vergrößerung in einem Mikroskop

Die beiden Arten der Bildentstehung finden in einem Mikroskop Anwendung. Ein Mikroskop besteht im einfachsten Fall aus einer dem abzubildenden Gegenstand (Objekt) zugewandten Linse, dem Objektiv, und einer zweiten Linse, die dem betrachtenden Auge zugewandt ist, dem sog. Okular (Abb. 3).

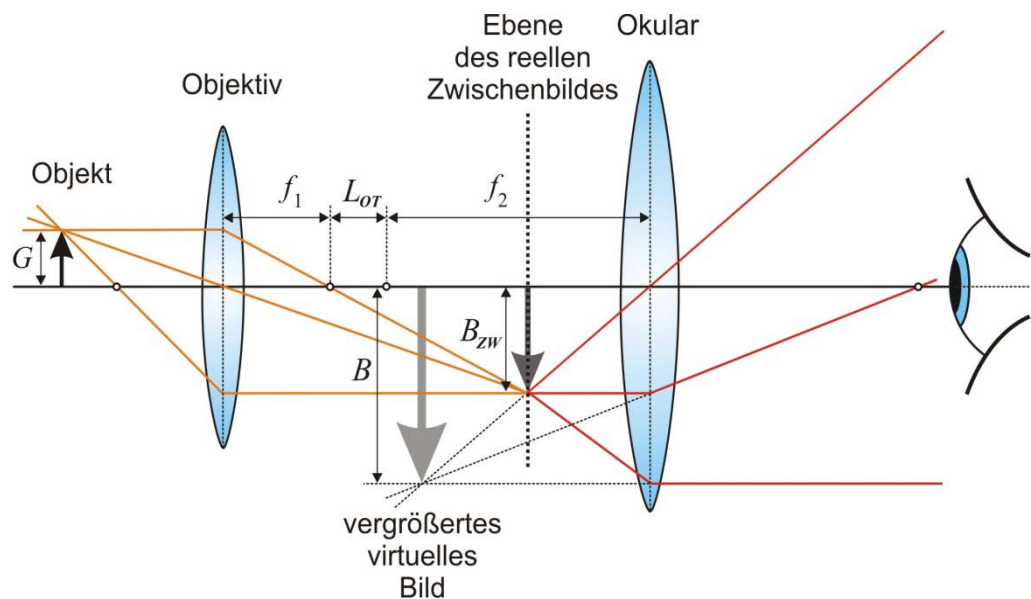


Abb. 3 Bildentstehung an einem aus zwei Linsen (Objektiv und Okular) bestehenden Mikroskop. Durch das Objektiv wird ein reelles Zwischenbild erzeugt, das mit dem als Lupe wirkenden Okular betrachtet wird. Der Abstand L_{OT} der beiden Brennpunkte wird als optische Tubuslänge bezeichnet.

Die laterale Vergrößerung (Abbildungsmaßstab) des Objektivs entspricht nach Gl.(1) dem Verhältnis aus Zwischenbild- B_{ZW} und Objektgröße G . Ebenso ergibt sich die Okularvergrößerung aus dem Verhältnis der lateralen Abmessungen des virtuellen Bildes B und des Zwischenbildes B_{ZW} . Das bedeutet, die laterale Gesamtvergrößerung des Mikroskops entspricht theoretisch dem Produkt aus lateraler Objektiv- und Okularvergrößerung:

$$V_{lat} = \frac{B}{G} = \frac{B_{ZW}}{G} \cdot \frac{B}{B_{ZW}} = V_{lat}^{Objektiv} \cdot V_{lat}^{Okular} \quad (2)$$

2.3. Empirische Bestimmung der Mikroskopvergrößerung

Mit einem Mikroskop nimmt ein Betrachter ein vergrößertes virtuelles Bild des Gegenstandes wahr. Dieses erscheint deshalb größer, weil es vermittels des optischen Gerätes gelingt, den Winkel zu vergrößern, unter dem das Objekt gesehen wird. Das natürliche Maß für die Vergrößerung ist daher das Verhältnis der beiden Winkel, unter denen ein Gegenstand mit dem optischen Gerät ε_{mit} und ohne dieses ε_{ohne} wahrgenommen wird (s. Abb. 4).

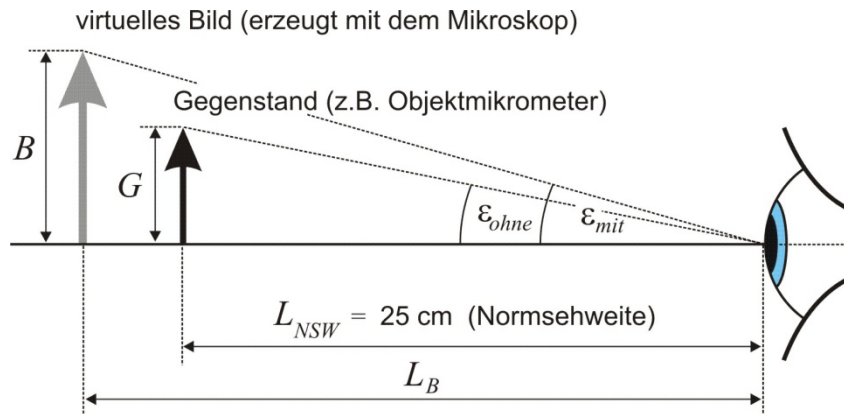


Abb. 4 Darstellung der Zusammenhänge an einem vergrößernden optischen Gerät. G - Gegenstandsgröße, B - Bildgröße, L_{NSW} - Abstand zwischen Betrachter und Gegenstand (Normsehweite 25cm), L_B - Abstand zwischen Betrachter und Bildebene.

Ausgehend von Abb. 4 gilt für die von einem Betrachter registrierte Vergrößerung

$$V = \frac{\varepsilon_{mit}}{\varepsilon_{ohne}} \quad (3)$$

Wählt man z.B. für den Abstand zwischen Auge und Gegenstand die deutliche Sehweite eines Normalbeobachters (Normsehweite), die per Definition $L_{NSW} = 25 \text{ cm}$ beträgt, so ergeben sich unter Berücksichtigung, dass für kleine Beobachtungswinkel $\tan \varepsilon \approx \varepsilon$ gilt, die Beziehungen

$$\varepsilon_{ohne} \approx \tan \varepsilon_{ohne} = \frac{G}{L_{NSW}} \quad \text{und} \quad \varepsilon_{mit} \approx \tan \varepsilon_{mit} = \frac{B}{L_B} \quad (4)$$

$$\text{d.h.} \quad V = \frac{\varepsilon_{mit}}{\varepsilon_{ohne}} \approx \frac{B}{G} \cdot \frac{L_{NSW}}{L_B} = V_{lat} \cdot V_{lon}$$

Danach errechnet sich die Vergrößerung aus 2 Faktoren. Das Verhältnis $V_{lat} = B / G$ entspricht der bekannten lateralen Vergrößerung. Darüber hinaus kann ein optisches Gerät für den Betrachter auch eine Vergrößerung infolge einer Abstandsänderung bewirken, die als longitudinale Vergrößerung $V_{lon} = L_{NSW} / L_B$ bezeichnet wird.

Um die laterale Gesamtvergrößerung eines Mikroskops V_{lat} messtechnisch zu bestimmen, ist für L_B die Normsehweite zu wählen, denn mit $L_B = L_{NSW} = 25 \text{ cm}$ gilt

$$V = V_{lat} = \frac{B_{25\text{cm}}}{G} \quad (5)$$

Das bedeutet, es muss ermittelt werden, wie groß das Bild des Gegenstandes dem Betrachter in einem Abstand von $L_{NSW} = 25 \text{ cm}$ erscheint ($B_{25\text{cm}}$). Dies wird dadurch realisiert, dass ein in diesem Abstand positionierter Längenmaßstab mittels eines teildurchlässigen Spiegels (Gaußscher Spiegel) seitlich in den Strahlengang des optischen Gerätes projiziert und die Bildgröße damit vermessen wird (Abb. 5).

Als Objekt (Gegenstand) dient eine Skala bekannter Abmessung (Objektmikrometer 0,01 mm / Skalenteil), von der eine festgelegte Anzahl von Strichabständen als Gegenstandsgröße G zu definieren ist.

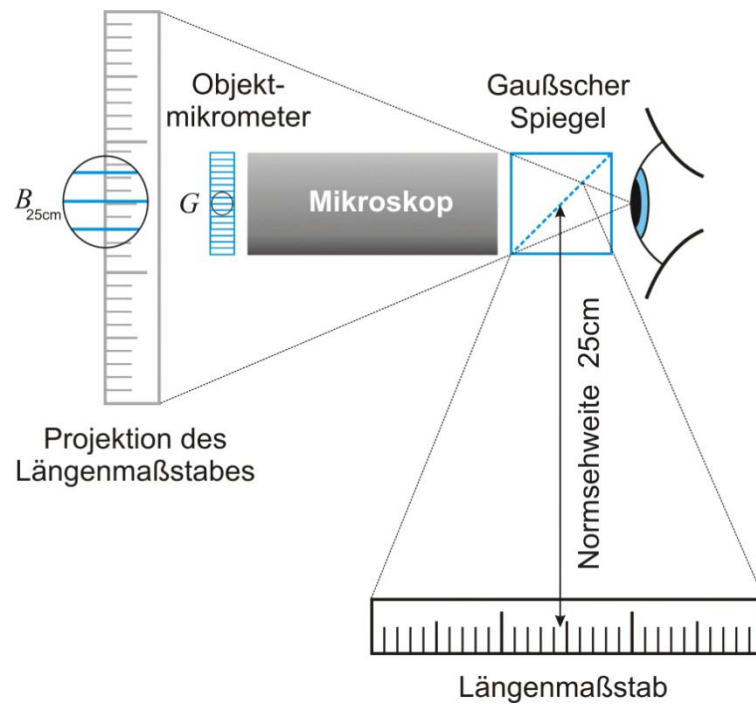


Abb. 5 Anordnung zur Vermessung der Größe des virtuellen Bildes des Objektmikrometers mit einem im Abstand von 25 cm positionierten Längenmaßstab.

In der Praxis werden Mikroskope so konstruiert, dass das reelle Zwischenbild, anders als in Abb. 3, nahezu im Okular-Brennpunkt (Brennweite f_2) entsteht. In diesem Fall gilt unter Beachtung von Gln. (5) und (1) und der optischen Tubuslänge L_{OT} (Abb. 3)

$$V_{lat} = \frac{B_{25cm}}{G} = \frac{B_{ZW}}{G} \cdot \frac{B_{25cm}}{B_{ZW}} = \frac{b_{Objektiv}}{g_{Objektiv}} \cdot \frac{L_{NSW}}{g_{Okular}} = V_{lat}^{Objektiv} \cdot V_{lat}^{Okular}$$

mit $g_{Okular} \approx f_2$ und $b_{Objektiv} \approx f_1 + L_{OT} \rightarrow V_{Okular} \approx \frac{L_{NSW}}{f_2}$ (6)

wegen $\frac{1}{f_1} = \frac{1}{g_{Objektiv}} + \frac{1}{b_{Objektiv}}$ folgt $V_{Objektiv} = \frac{b_{Objektiv}}{g_{Objektiv}} \approx \frac{L_{OT}}{f_1}$.

D.h., kurze Linsenbrennweiten und große Tubuslängen erhöhen die Vergrößerung.

2.4. Vermessung von Objekten

Mit dem Mikroskop können Objekte nicht nur vergrößert, sondern auch vermessen werden. Dazu ist das linke Okular (Okular 1) mit einer Skala ausgestattet, die in der Ebene des Zwischenbildes (Abb. 3) angeordnet ist und zusammen mit dem Bild des Objektes scharf auf der Netzhaut des Auges abgebildet wird. Die Okularskala ist mit der im Tubus lose steckenden drehbaren Okularlinse verbunden, so dass die Vermessung durch Bedienung des in zwei Richtungen verschiebbaren Objektisches zweidimensional erfolgen kann. Hierzu ist eine Kalibrierung der Okularskala durch einen Vergleich mit der Skala des Objektmikrometers erforderlich. Dabei gilt:

$$SKE_{OM} \cdot \text{Anzahl SKT}_{OM} = SKE_{OK} \cdot \text{Anzahl SKT}_{OK}$$

$$\rightarrow SKE_{OK} = \frac{\text{Anzahl SKT}_{OM}}{\text{Anzahl SKT}_{OK}} \cdot SKE_{OM} \quad (7)$$

In diesem Zusammenhang sind $SKE_{OM} = 0,01 \text{ mm / Skalenteil}$, die Skaleneinheit des

Objektmikrometers, $Anzahl\ SKT_{OM}$, die Anzahl der Skalenteile des Objektmikrometers, SKE_{OK} , die Skaleneinheit der Okularskala und $Anzahl\ SKT_{OK}$, die Anzahl der Skalenteile der Okularskala.

2.5. Kleinstmögliche erkennbare Objektgröße

Der Zweck eines Mikroskops ist die Verdeutlichung der Struktur von Objekten, welche ohne dieses Gerät dem menschlichen Auge nicht mehr zugänglich sind. Die Augenlinse entwirft von allen Punkten eines Gegenstandes oder Bildes entsprechende Lichtpunkte auf der Netzhaut, die nur dann als getrennte Erscheinungen wahrgenommen werden, wenn sie nicht auf die gleiche lichtempfindliche Zelle (Zäpfchen oder Stäbchen) der Netzhaut fallen. Daher dürfen zwei Punkte, vom Auge aus gesehen, keinen kleineren Winkelabstand als ca. $0,019^\circ$ (Bogenmaß $0,00033\text{ rad}$) haben. Dies entspricht bei einer Entfernung von 100 m einem Punkteabstand von 3,3 cm und in der Normsehweite (0,25 m) einem Punkteabstand von ca. 0,08 mm. Daher muss die Größe eines von einem Mikroskop erzeugten und auf die Normsehweite bezogenen Bildes größer als 0,08 mm sein, um eine Struktur zu erkennen. D.h. nach Gl. (5):

$$G = \frac{B_{25cm}}{V_{lat}} \geq \frac{0,08\text{ mm}}{V_{lat}} \quad . \quad (8)$$

Ist die Vergrößerung eines Mikroskops bekannt, so steht demzufolge auch fest, wie klein die Abmessungen eines Objekts sein dürfen, um noch eine Struktur differenzieren zu können.

2.6. Auflösungsvermögen

Die Leistungsfähigkeit eines Mikroskops wird neben der Vergrößerung durch sein Auflösungsvermögen bestimmt. Dieses wird einerseits durch die erläuterten Eigenschaften der Netzhaut des Auges eingeschränkt, andererseits gibt aber es eine objektive Grenze, über die hinaus eine Vergrößerung nicht mehr sinnvoll ist. Die Grenze folgt aus der Wellennatur des Lichtes beim Zusammenspiel von Beugung und Interferenz an bzw. hinter Objekten, deren Größe mit der Wellenlänge vergleichbar ist.

Werden zwei benachbarte Objektpunkte von einer ebenen Welle getroffen, so gehen von ihnen entsprechend dem Huygensschen Prinzip [1,3] Kugelwellen aus, die sich überlagern und interferieren. Bei einem zu kleinen Punkteabstand sind die entstehenden Beugungsbilder nicht mehr trennbar (Abb. 6 u. 7).

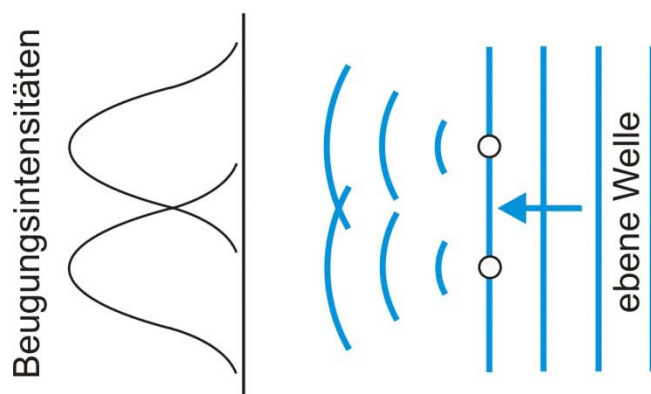


Abb. 6 Illustration der Beugung einer Welle an zwei Objektpunkten mit den dabei resultierenden Beugungsintensitäten.

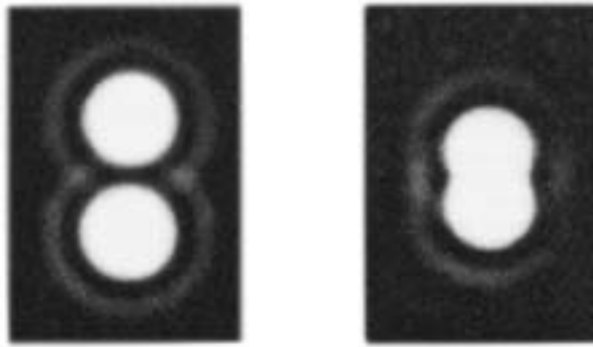


Abb. 7 Beugungsbilder zweier punktförmiger Objekte, gut auflösbar (links) und gerade noch auflösbar (rechts).

Als Auflösungsvermögen A wird das Reziproke des kleinsten Abstandes d_{min} definiert, den zwei Punkte voneinander haben dürfen, um sie noch als getrennte Objekte wahrzunehmen. Für das Auflösungsvermögen eines Durchlichtmikroskops gilt:

$$A = \frac{1}{d_{min}} = 1,64 \cdot \frac{n}{\lambda} \cdot \sin\left(\frac{\alpha}{2}\right) \quad , \quad (9)$$

d.h. es hängt von der Wellenlänge des verwendeten Lichtes λ (sichtbarer Bereich ca. 380–700 nm), dem Öffnungswinkel α des Objektivs sowie dem Brechungsindex n des optischen Mediums zwischen dem Objekt und der Eintrittslinse des Objektivs ab (Abb. 8) [1, 3].

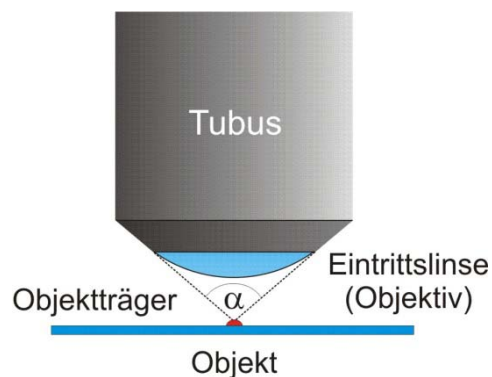


Abb. 8 Definition des Öffnungswinkels des Objektivs.

Eine Steigerung des Auflösungsvermögens kann z.B. dadurch erreicht werden, dass der Raum zwischen Objektträger und Objektiv mit einem Immersionsöl ($n = 1,5$) ausgefüllt wird. Um das Auflösungsvermögen um mehrere Größenordnungen zu verbessern, benutzt man Elektronenmikroskope, die anstelle von Licht (Photonen) mit hoch beschleunigten Elektronen arbeiten. Auf diese Weise lassen sich sehr viel kleinere Wellenlängen erzeugen (Welle-Teilchen-Dualismus) [1].

3. Experiment

3.1. Geräte und Materialien

- Durchlichtmikroskop
- Gaußscher Spiegel (teildurchlässiger Spiegel)
- beleuchteter Längenmaßstab
- Objektmikrometer
- Mattscheibe
- Nervenfaserpräparat

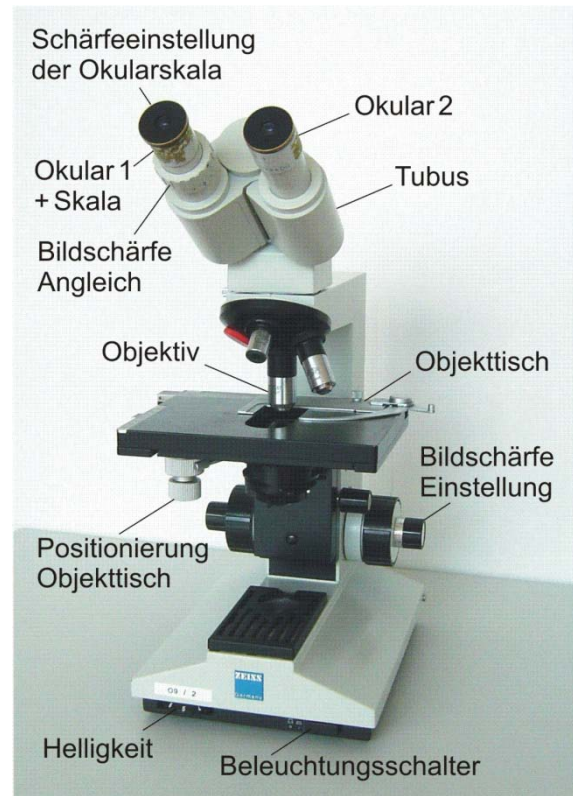


Abb. 9 Mikroskop mit seinen wesentlichen Bestandteilen.

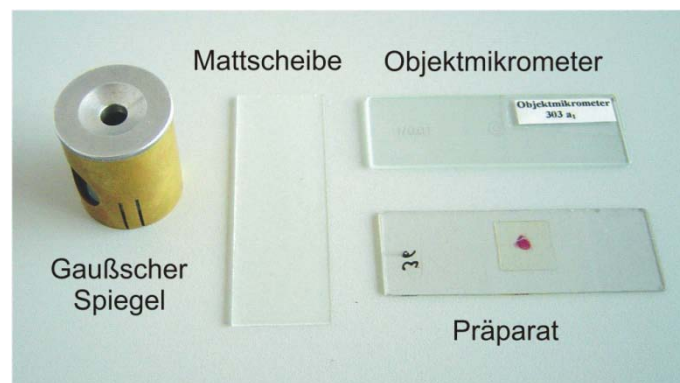


Abb. 10 Zubehör der Versuchsanordnung.

Die wichtigsten Elemente des Mikroskops (Abb. 9) sind das **Okular** und das **Objektiv**, zwei Linsensysteme, die durch den Tubus miteinander verbunden sind. Zur Realisierung unterschiedlicher Vergrößerungen können mehrere Objektive mit dem Okular kombiniert werden. Die Einzelvergrößerungen sind eingraviert. Unmittelbar unter dem Objektiv befindet sich der Objektisch, der durch zwei Positionierschrauben in einer Ebene beliebig verschoben werden kann, um das zu untersuchende Präparat exakt zu positionieren.

Das Präparat (Objekt) wird mit einem Beleuchtungssystem durchstrahlt, dessen Helligkeit regelbar ist (Durchlichtmikroskop). Zur Einstellung der Bildschärfe kann der Objektisch mit einem Grob- und Feinstelltrieb nach oben und unten bewegt werden.

Das Okular 1 enthält eine Skala (Okularskala), die nach entsprechender Kalibrierung zur Vermessung der Präparate genutzt werden kann. Da das Okular drehbar im Tubus steckt, kann die Skala auf die Verschiebungen des Objektisches ausgerichtet werden. Die Schärfereinstellung der Okularskala erfolgt durch ein separates Schraubrad am oberen Teil von Okular 1 (unteren Teil festhalten). Darüber hinaus erlaubt eine Schraubvorrichtung unterhalb von Okular 1 das Angleichen der Bildschärfen zwischen beiden Okularen.

Zur Bearbeitung der Aufgaben werden weitere Teile benötigt (Abb. 10). Insbesondere steht für die Bestimmung der Gesamtvergrößerung sowie zur Kalibrierung der Okularskala ein Objektträger mit einem definierten Strichmaß (**Objektmikrometer**) zur Verfügung. Der Linienabstand des Objektmikrometers beträgt 0,01 mm.

3.2. Versuchsanordnung

Zur Bestimmung der Gesamtvergrößerung des Mikroskops wird der teildurchlässige **Gaußsche Spiegel** (Abb. 11) auf das Okular 2 gesteckt, wodurch der beleuchtete **Längenmaßstab** seitlich in den Strahlengang des Mikroskops eingespiegelt und das Bild des Objektmikrometers vermessen werden kann (s. Abb. 5).

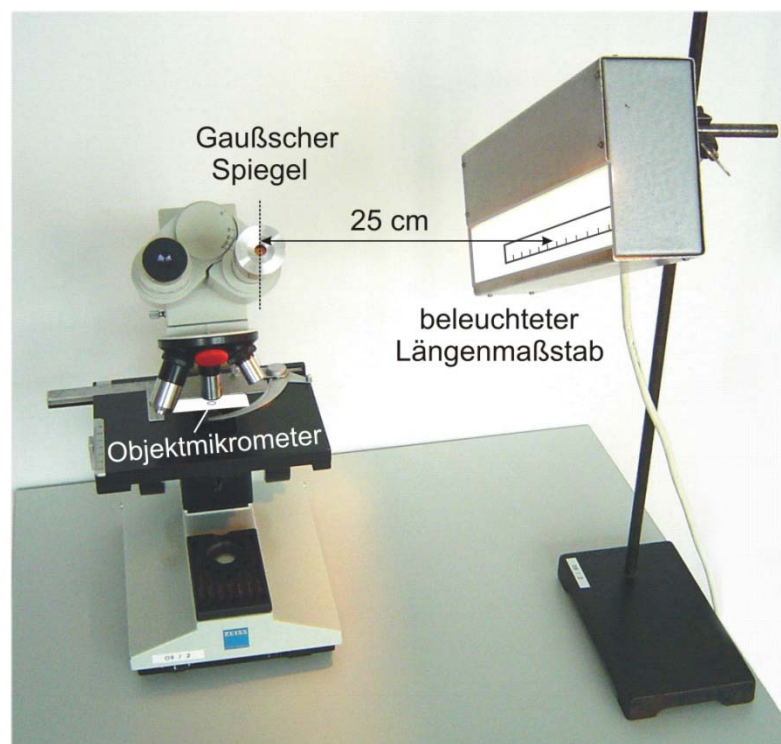


Abb. 11 Versuchsanordnung zur Bestimmung der Mikroskopvergrößerung.

3.3. Hinweise zum Experimentieren und Auswerten

Der Abstand zwischen der Mitte des Okulars 2 und dem Längenmaßstab muss 25 cm betragen und ist mit einem geeigneten Lineal auszumessen. Es ist günstig, zuerst die Skala des Objektmikrometers scharf einzustellen und erst danach den Längenmaßstab über den Gaußschen Spiegel einzublenden. Beide Skalen müssen gleichzeitig gut sichtbar und parallel ausgerichtet sein. Als Gegenstandsgröße sind mehrere Skalenteile des Objektmikrometers $G \geq 10 SKT_{OM}$ festzulegen.

Dieselbe Versuchsanordnung kann auch zur Kalibrierung der Okularskala genutzt werden, welche im Okular 1 sichtbar ist. Nach einem Bildschärfeabgleich zwischen beiden Okularen ist darauf zu achten, dass auch die Okularskala scharf eingestellt und zum Skalenvergleich parallel zur Skala des Objektmikrometers ausgerichtet ist.

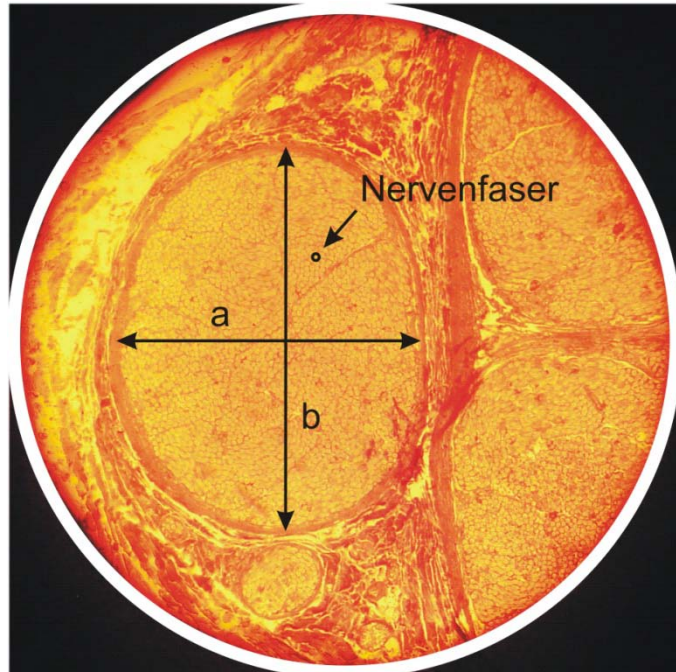


Abb. 12 Nervenfasern-Präparat.

Das vom Objektiv erzeugte reelle Zwischenbild eines Präparates kann man betrachten, indem eines der beiden im Tubus steckenden Okulare entfernt und eine Mattscheibe (siehe Zubehör Abb. 10) auf den offenen Tubus gelegt wird.

Die Abmessungen des Teilbereiches a und b können mit der kalibrierten Okularskala bestimmt werden. Setzt man den für a oder b ermittelten Wert zu der Abmessung ins Verhältnis, die a bzw. b im reellen Zwischenbild des Objektivs(10) aufweist (Vermessung mittels Messschieber), so ergibt sich die Vergrößerung des Objektivs, d.h. in diesem Fall der Faktor 10.

Die durchschnittliche Abmessung der Nervenfasern ist unter Verwendung des Objektivs(40) zu bestimmen.

Die Messunsicherheit der Vergrößerung ΔV wird in erster Linie bei der Vermessung der Bildgröße B mit dem Längenmaßstab und durch die Unsicherheit bei dessen Positionierung in einem Abstand von $L_B = 25$ cm verursacht. Ausgehend von Gl. (4) gilt

$$\Delta V = \sqrt{\left(\frac{\partial V}{\partial L_B} \cdot \Delta L_B\right)^2 + \left(\frac{\partial V}{\partial G} \cdot \Delta G\right)^2 + \left(\frac{\partial V}{\partial B} \cdot \Delta B\right)^2} \quad (10)$$

Die Messunsicherheiten ΔB und ΔL_B sind zu schätzen, ΔG beträgt nach Herstellerangaben $0,2 \mu\text{m}$.

4. Literatur

- [1] H. Vogel: Gerthsen Physik. Springer-Verlag, 1997
- [2] W. Ilberg: Physikalisches Praktikum. Teubner-Verlagsgesellschaft, 1985
- [3] E. Grimsehl: Lehrbuch der Physik Bd. 4. Teubner-Verlagsgesellschaft, 1988