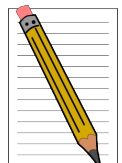


## Mikroskop

In diesem Versuch machen Sie sich mit dem Strahlengang in einem Mikroskop vertraut und verstehen, wie es zu einer Vergrößerung kommt. Sie kalibrieren ein Messokular, um damit die Dicke eines Haares zu bestimmen. Schließlich ermitteln Sie noch das Auflösungsvermögen eines Objektivs: Welchen Abstand können zwei Punkte haben, damit sie mit dem Mikroskop noch getrennt beobachtet werden können?

### Schriftliche VORbereitung:

- Aus welchen Teilen besteht ein Mikroskop?
- Wie berechnet sich die Vergrößerung eines Mikroskops aus den Vergrößerungen des Objektivs und des Okulars?
- Erklären Sie die prinzipielle Funktionsweise eines Mikroskops anhand eines Strahlengang-Diagramms.
- Was sind typische Vergrößerungen, die mit Mikroskopen erreicht werden?
- Was sind die kleinsten Strukturen, die mit Mikroskopen aufgelöst werden können? (Beispiele und/oder Größe in nm)
- Was versteht man unter der sogenannten Numerischen Apertur?



# 1 Grundlagen

Bringt man einen Gegenstand aus der normalen Sehweite  $s_0 = 25 \text{ cm}$  auf  $5 \text{ cm}$  an das Auge heran, so steigt zwar der Sehwinkel auf das Fünffache, die Brechkraft des Auges ist aber zu klein, um ein scharfes Bild auf der Netzhaut zu erzeugen. Dies gelingt mit einer Lupe, die die Brechkraft des Auges unterstützt. Mit guten Lupen lässt sich aber höchstens eine 25-fache Vergrößerung erzielen, mit den Mikroskopen im Praktikum erreicht man etwa eine 500-fache Vergrößerung.

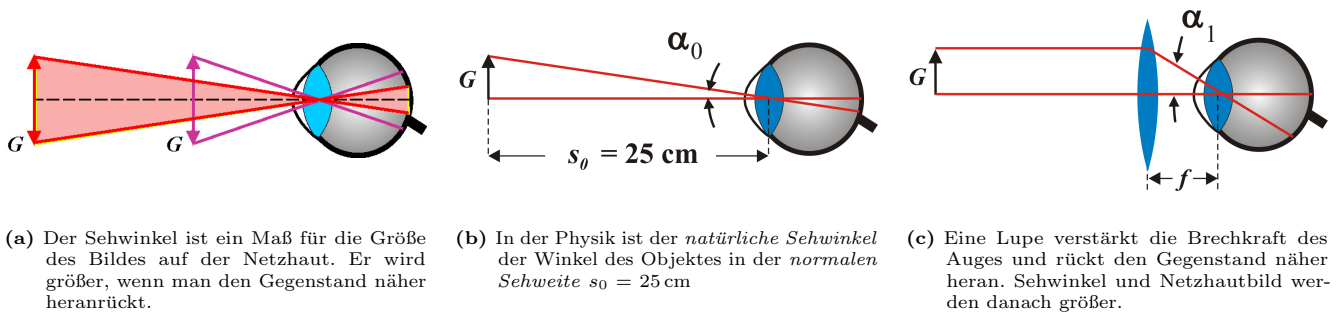


Abb. 1: Auge, Sehwinkel und Lupe

## 1.1 Vergrößerung einer Lupe

Unter der Lupenvergrößerung  $\gamma$  versteht man das Verhältnis

$$\gamma = \frac{\text{Sehwinkel mit Lupe}}{\text{Sehwinkel in 25 cm Entfernung}} = \frac{\alpha_1}{\alpha_0} \quad (1)$$

Für einen Gegenstand in der Brennweite  $f$  (Abbildung 1c) lässt sich  $\gamma$  leicht ausrechnen:

$$\gamma = \frac{\alpha_1}{\alpha_0} = \frac{G}{f} \cdot \frac{s_0}{G} = \frac{s_0}{f}$$

Das Licht von einem Punkt des Gegenstandes fällt dann parallel ins Auge, das Bild liegt im Unendlichen. Das Auge stellt sich daher auf Unendlich ein und ist entspannt. Rückt man den Gegenstand näher an die Lupe (Abbildung 2 rechts), so sieht man ein noch größeres Bild.

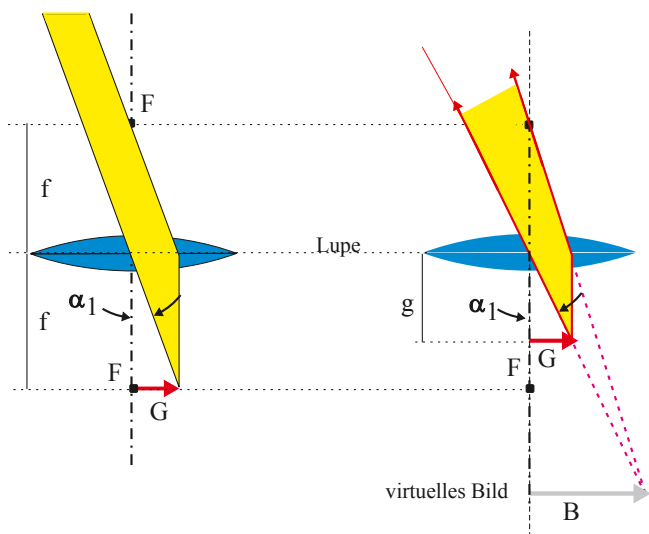


Abb. 2: Strahlengang bei einer Lupe

$$\gamma = \frac{\alpha_1}{\alpha_0} = \frac{G}{g} \cdot \frac{s_0}{G} = \frac{s_0}{f} \left( 1 + \frac{f-g}{g} \right)$$

Es liegt in endlicher Entfernung, so dass sich die Linse im Auge diesmal krümmen muss.

### 1.2 Vergrößerung des Mikroskops

Eine wesentlich stärkere Vergrößerung erreicht man im Mikroskop mit zwei Sammellinsen. Von dem Gegenstand  $G$ , der kurz hinter der Brennweite des Objektivs liegt, wird ein reelles, vergrößertes und umgekehrtes Zwischenbild  $B$  erzeugt. Dieses wird mit dem Okular wie durch eine Lupe betrachtet. Für ein auf Unendlich akkomodiertes Auge (Abbildung 3 links: Licht, das von einem Objektpunkt ausgeht, fällt parallel ins Auge) liegt das Zwischenbild in der genormten Tubuslänge  $t$  hinter der Objektivbrennweite  $f_1$ .

Mit der Objektiv-Vergrößerung  $\gamma_{obj} = \frac{B}{G} = \frac{t}{f_1}$  ergibt sich dann die Mikroskopvergrößerung zu

$$\gamma = \gamma_{ok} \cdot \gamma_{obj} = \frac{s_0}{f_2} \cdot \frac{t}{f_1}$$

Objektiv und Okular aus Abbildung 4 liefern die Gesamtvergrößerung  $\gamma = 100$ . Eine Fehlsichtigkeit oder ein auf endliche Weite akkomodiertes Auge führen im Versuch jedoch manchmal auf abweichende Werte.

Um Abbildungsfehler zu korrigieren, bestehen Objektive in der Regel aus Linsensystemen. Sie enthalten mitunter mehr als 10 Einzellinsen aus verschiedenen Glassorten und erreichen Brennweiten im Millimeterbereich.

Die meisten Okulare bestehen aus zwei Linsen wie in Abbildung 5 gezeigt. Die Kollektivlinse macht das einfallende Licht etwas konvergenter, so dass ein Zwischenbild nicht mehr in der Ebene  $Z^*B^*$ , sondern in  $ZB$  entsteht. Das Zwischenbild wird dadurch zwar kleiner, das beobachtbare Sehfeld aber größer. Außerdem wird die sphärische Aberration (links) korrigiert, weil der Strahl 2 die Kollektivlinse weiter außen, die Auglinse aber weiter innen als Strahl 1 durchsetzt.

Analog wird auch die chromatische Aberration (rechts) verbessert. Ein weißer Lichtstrahl wird von der Kollektivlinse in seine Farbanteile aufgespalten. Weil der rote Strahl weiter außen auf die Auglinse trifft, wird er stärker zur Achse gebrochen als der blaue. Beide fallen parallel ins Auge und das auf  $\infty$  eingestellte Auge sieht wieder weiß. In der Zwischenbildebene  $ZB$  kann man einen Glasmaßstab anbringen. Man sieht dann zugleich dessen Skala und das Zwischenbild scharf und kann so das Bild ausmessen.

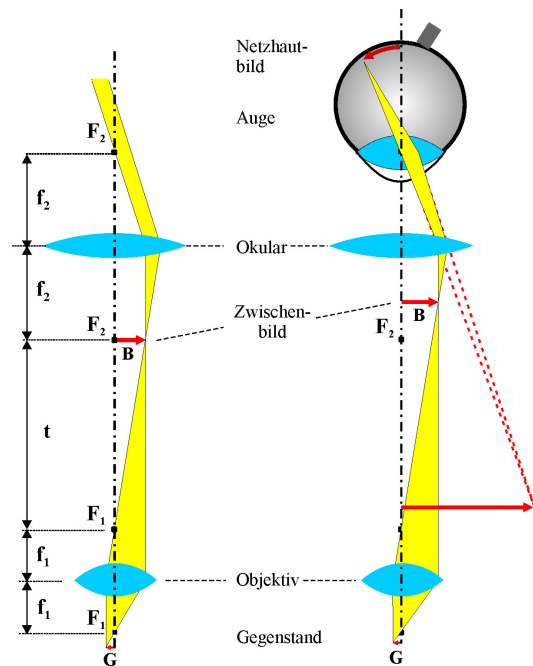


Abb. 3: Strahlengang im Mikroskop



Abb. 4: Objektiv und Okular

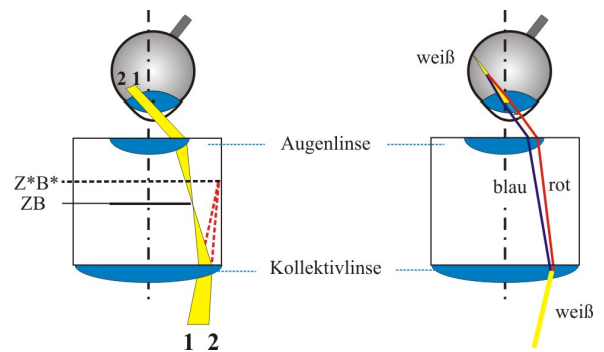


Abb. 5: Das Huygens-Okular besteht aus Kollektiv- und Auglinse. Vgl. [1]

### 1.3 Vergrößerung ist nicht alles . . .

Man könnte das vergrößerte Zwischenbild in [Abbildung 3](#) mit einer weiteren Linse nochmals vergrößern und dieses zweite stark vergrößerte Zwischenbild mit dem Okular betrachten. Dieses Vorgehen ließe sich wiederholen und man könnte so im Prinzip beliebig große Bilder erzeugen, nur wäre der Aufwand dafür allerdings völlig umsonst: In den Bildern würde man keine neuen Einzelheiten erkennen können. Der Grund: Jede Blende, Öffnung erzeugt Beugung.

### 1.4 . . . es kommt auch auf das Auflösungsvermögen an

Infolge von Beugung am Objektiv wird jeder Punkt eines Gegenstandes als ein Beugungsscheibchen abgebildet. In [Abbildung 7](#) ist oben in der Zwischenbildebene die Intensitätsverteilung für die beiden Punkte  $P_1$  und  $P_2$  dargestellt. Links ist der Abstand  $\Delta x$  der beiden Hauptmaxima so groß, dass sie bequem getrennt beobachtet werden können.

Rechts sind die beiden Punkte auf den Abstand  $d_{\min}$  zusammengedrückt. Das Maximum von  $P_1$  fällt jetzt auf den ersten dunklen Ring von  $P_2$  und man kann die beiden Bildpunkte gerade noch getrennt beobachten. Würde man dieses Zwischenbild nochmals vergrößern, so könnte man trotzdem keine weiteren Punkte oder Einzelheiten zwischen  $P_1$  und  $P_2$  erkennen.

Verringert man den Abstand von  $P_1$  und  $P_2$  noch weiter, so fließen die beiden Hauptmaxima ineinander und man sähe nur noch einen größeren verschwommenen Lichtfleck. Der Winkel zwischen den beiden trennbaren Bildpunkten beträgt daher

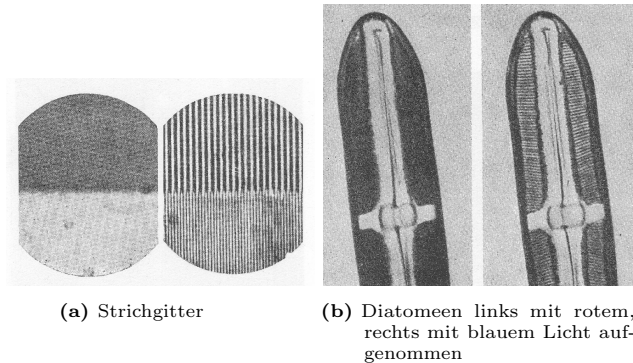
$$\varepsilon \approx \alpha_{\min} \approx \frac{\lambda}{D}$$

Da der Gegenstand fast genau in der Brennweite des Objektivs liegt, ergibt sich der kleinste auflösbare Punktabstand aus:

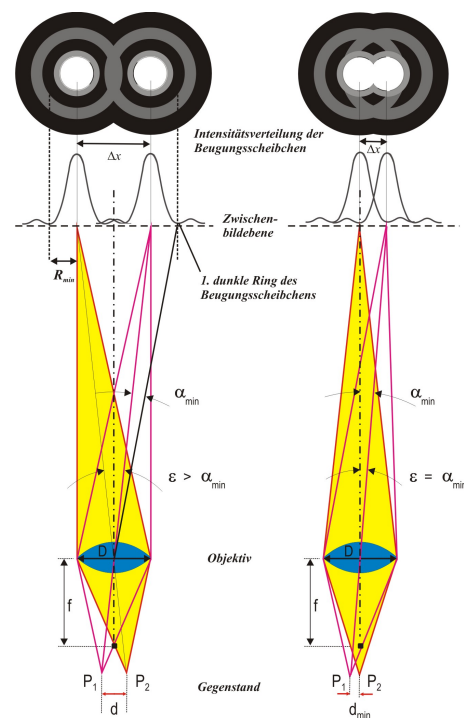
$$d_{\min} \approx \varepsilon \cdot f = \frac{\lambda \cdot f}{D}$$

Die Größe  $D/2f$  nennt man Numerische Apertur (NA), ihr Wert ist auf jedem Objektiv nach der Vergrößerung angegeben. Mit dem Wert auf dem Objektiv in [Abbildung 4](#) erhält man näherungsweise

$$d_{\min} \approx \lambda \cdot \frac{f}{D} = \frac{\lambda}{2 \cdot NA} \approx \frac{600 \text{ nm}}{2 \cdot 0,3} = 1000 \text{ nm} = 1 \mu\text{m} = 0.001 \text{ mm}$$



**Abb. 6:** Bei gleicher Vergrößerung ist jeweils in der linken Abbildung die Auflösung kleiner, wohingegen jeweils rechts mehr Einzelheiten zu erkennen sind.



**Abb. 7:** Die Breite der Hauptmaxima wird durch den ersten dunklen Ring um sie begrenzt. Er liegt im Winkel  $\alpha_{\min} = \lambda/D$  um das Hauptmaximum, wird also durch den Durchmesser  $D$  des Objektivs bestimmt, dabei ist  $\lambda$  die Wellenlänge des Lichts.

## 2 Messungen und Auswertungen

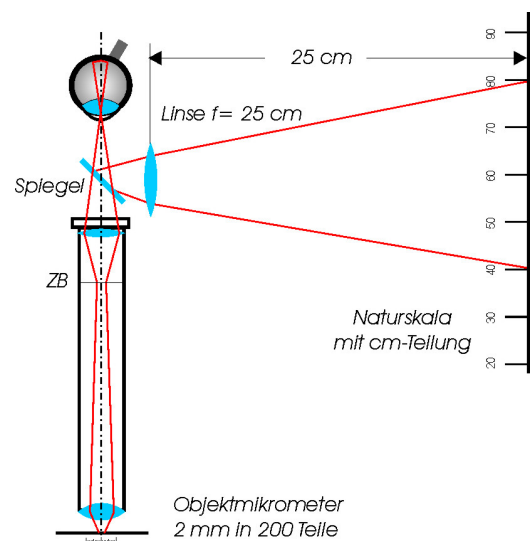
In diesem Teil verwenden Sie das Mikroskop mit unterschiedlichen Objekten. Bitte seien Sie beim Einstellen des Mikroskops vorsichtig, damit das Mikroskop nicht auf das Objekt stößt. Es empfiehlt sich, beim Scharfstellen immer beim kleinstmöglichen Abstand zu beginnen (wenn das Objektiv das Objekt fast berührt) und dann den Abstand zu vergrößern.

### 2.1 Ermittlung der Vergrößerung

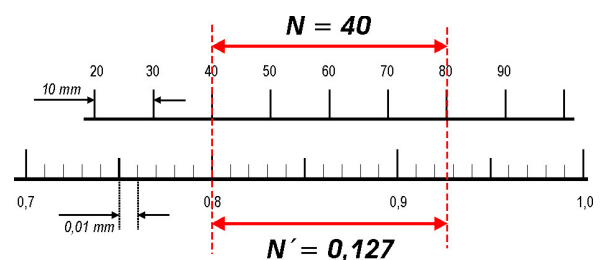
Die Vergrößerung  $\gamma$  wird bestimmt, indem der Sehwinkel in normaler Sehweite  $s_0 = 25\text{ cm}$  mit dem vom Mikroskop vergrößerten Sehwinkel verglichen wird, wie bei einer Lupe (Gleichung 1).

Sie gehen dazu wie folgt vor:

- Legen Sie den Objektträger mit der Mikrometerskala (Objektmikrometer) in das Mikroskop. Ein Skalenabschnitt beträgt  $0.01\text{ mm}$ .
- Verwenden Sie das Okular mit 5-facher Vergrößerung ohne Messskala. Stellen Sie das Objektmikrometer scharf ein.
- Platzieren Sie den Holzmaßstab (Naturskala) in  $25\text{ cm}$  Entfernung und leuchten diesen mit der Tischlampe an.
- Setzen Sie den Aufsatz auf das Okular. In dem Aufsatz befindet sich ein halbdurchlässiger  $45^\circ$ -Spiegel und eine Linse mit einer Brennweite  $f = 25\text{ cm}$ . Durch den Aufsatz können Objektmikrometer und Naturskala gleichzeitig betrachtet werden.
- Regulieren Sie die Beleuchtung so ein, dass beide Skalen gut erkennbar sind.
- Stellen Sie die Naturskala so, dass beide Skalen paralaxefrei übereinander liegen. (D. h. die Bilder bewegen sich nicht gegeneinander bei seitlicher Bewegung des Auges.)
- Vergleichen Sie die beiden Skalen im gewählten Intervall ( $N$  Naturskala und  $N'$  Objektmikrometerskala).



**Abb. 8:** Durch den Aufsatz können Objektmikrometer durch das Mikroskop und Naturskala gleichzeitig betrachtet werden.



**Abb. 9:** Oben: Naturskala, unten: Objektmikrometerskala. Die Vergrößerung beträgt hier  $\gamma = 40/0,127 \approx 315$ .

Es sei  $\alpha$  der Sehwinkel unter dem  $1\text{ mm}$  der Naturskala erscheint und  $\alpha'$  der Sehwinkel, unter dem  $1\text{ mm}$  der vergrößerten Skala des Objektmikrometers erscheint. Aus dem Vergleich der Intervallwinkel  $N \cdot \alpha = N' \cdot \alpha'$  ergibt sich für die Vergrößerung

$$\gamma = \frac{\alpha'}{\alpha} = \frac{N}{N'}$$

## Messung

Verwenden Sie zuerst das 5x Okular und das 10x Objektiv.

(M1) Messen Sie  $N$  und  $N'$  für 3 verschieden große Intervalle in der *Mitte* des Gesichtsfeldes.

(M2) Messen Sie  $N$  und  $N'$  am *Rand* des Gesichtsfeldes für ein 10 mm- und ein 20 mm-Intervall.

Verwenden Sie nun das 5x Okular und das 40x Objektiv.

(M3) Messen Sie  $N$  und  $N'$  für 3 verschieden große Intervalle in der *Mitte* des Gesichtsfeldes.

(M4) Messen Sie  $N$  und  $N'$  am *Rand* des Gesichtsfeldes für ein 10 mm- und ein 20 mm-Intervall.

## Auswertung

Für Ihre erste Messung mit 5x Okular und 10x Objektiv ist eine Vergrößerung von  $\gamma = 50$  zu erwarten. Welche Vergrößerung erwarten Sie bei der zweiten Messung mit 5x Okular und 40x Objektiv? Ihre Messwerte werden von diesen theoretischen Werten zum Teil erheblich abweichen.

(A1) Wie groß ist die gemessene Vergrößerung tatsächlich? Bestimmen Sie die Vergrößerung als Mittelwert der Messungen jeweils getrennt für die Mitte des Gesichtsfelds und den Rand des Gesichtsfelds.

(A2) Wie genau ist Ihre Messung? Bestimmen Sie die Unsicherheit.

Zur Erinnerung finden Sie hier die entsprechenden Formeln, um die gesuchten Werte zu bestimmen:

Mittelwert:	$\langle \gamma \rangle = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \gamma_i$
Standardabweichung des Mittelwertes:	$u(\gamma) = \sqrt{\frac{1}{n \cdot (n-1)} \sum_{i=1}^n (\langle \gamma \rangle - \gamma_i)^2}$
Ergebnis:	$\gamma = \langle \gamma \rangle \pm u(\gamma)$

## 2.2 Mikroskopische Längenmessung

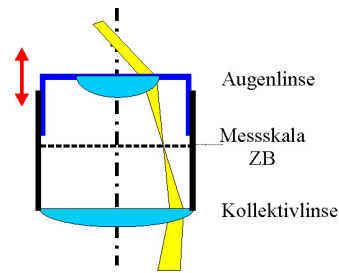
Auch wenn man die Vergrößerung genau kennt, kann man trotzdem die Ausdehnung des beobachteten Objekts noch nicht bestimmen. Dies gelingt erst mit einem Messokular.

### 2.2.1 Kalibrierung eines Messokulars

In einem Messokular ist zwischen Augenlinse und Kollektivlinse eine Messskala eingebaut (siehe [Abbildung 10](#)). Diese Skala wird zunächst mit dem Objektmikrometer (2 mm/200) als Objekt kalibriert.

Sie gehen dazu wie folgt vor:

- Stellen Sie die Augenlinse scharf auf die Messskala ein und verändern Sie diesen Abstand danach nicht mehr.
- Stellen Sie dann das Mikroskop so scharf, bis das Zwischenbild (*ZB*) der Objektmikrometerskala scharf auf/neben der Messskala erscheint.



**Abb. 10:** In einem Messokular ist zwischen Augen- und Kollektivlinse eine Messskala. Der Abstand Augenlinse-Messskala lässt sich verändern.

### Messung

(M5) Messen Sie in der Mitte des Gesichtsfeldes für sechs verschieden große Intervalle (jede\*r von Ihnen dreimal). Lesen Sie die Endpunkte eines gewählten Intervalls der einen Skala auf der anderen ab.

### Auswertung

(A3) Berechnen Sie den Skalenfaktor in mm/Skt. als Mittelwert der Messungen für den Skalenfaktor sowie die Standardabweichung des Mittelwertes.

#### 2.2.2 Messung mit dem Messokular

Führen Sie eine Messung mit dem kalibrierten Messokular durch. Sie könnten zum Beispiel die Dicke eines Ihrer Haare bestimmen, wie im Folgenden beschrieben. Wenn Sie andere interessante Objekte haben, deren Größe Sie bestimmen möchten, dann diskutieren Sie dies bitte mit Ihrem Tutor oder Ihrer Tutorin.

### Messung

Die Vorgehensweise zur Bestimmung der Dicke eines Ihrer Haare ist wie folgt. Zur Vermessung anderer Gegenstände passen Sie die Vorgehensweise in Absprache mit Ihrem Tutor oder Ihrer Tutorin an.

Kleben Sie eines Ihrer Haare auf einen Objektträger auf. Drehen Sie das Messokular so, dass es senkrecht zum Haar erscheint.

(M6) Messen Sie die Dicke an fünf verschiedenen Stellen (jede\*r einmal, insgesamt 10 Messungen). Lesen Sie die Haardicke auf 0,2 Skt. genau ab.

### Auswertung

Bestimmen Sie die Dicke des Haars mittels des Skalenfaktors aus dem vorherigen Versuchsabschnitt und Ihrer insgesamt 10 Messungen.

(A4) Bestimmen Sie die Dicke des Haars als Mittelwert der 10 Messungen sowie die Standardabweichung.

## 2.3 Bestimmung des Auflösungsvermögens

Um das Auflösungsvermögen berechnen zu können, muss zunächst die Numerische Apertur  $NA = D/2/f$  des Objektivs bestimmt werden. Diese ist zwar auf dem Objektiv angegeben, sie lässt sich aber auch direkt bestimmen. Das gelingt über den maximalen Öffnungswinkel  $2u$ , der vom Objektiv erfasst wird. Diesen Winkel bestimmen Sie aus der Größe  $x$  eines erkennbaren Rasters  $R$  wie in [Abbildung 11](#) gezeigt.

### Messung

Zur Bestimmung der Numerischen Apertur benutzen Sie ein Raster wie in [Abbildung 11](#) gezeigt. Benutzen Sie bitte das 5x Okular und das 40x sowie das 10x Objektiv. Führen Sie Messungen (M8) bis (M10) jeweils einmal für beide Objektive durch.

- (M7) Messen Sie zuerst die Höhe  $h$  der Blendenplatte mit einem Messschieber.
- (M8) Im zweiten Schritt stellen Sie Ihr Mikroskop auf die 0.4mm-Lochblende in der Objektebene scharf ein (hellste Beleuchtung). Diese Einstellung des Mikroskops bleibt unverändert!
- (M9) Ersetzen Sie das Okular durch ein Hilfsmikroskop. Der Tubus des Hilfsmikroskops lässt sich herausziehen und auf das Rasterbild  $R'$  scharf einstellen. Alternativ können Sie das Hilfsmikroskop auch einfach aus dem Aufbau entfernen und das Rasterbild mit dem Auge (oder Ihrer Handykamera) betrachten.
- (M10) Bestimmen Sie nun die Ausdehnung  $x$ , indem Sie die Rasterskala über das gesamte Gesichtsfeld auszählen.

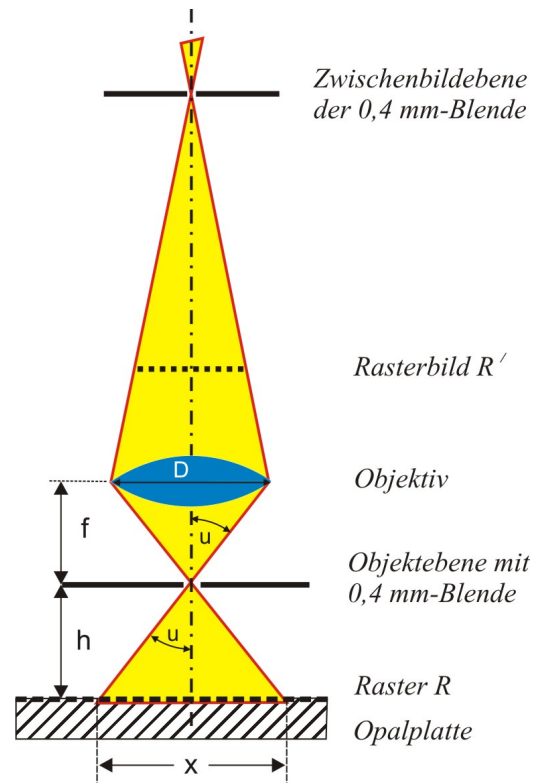


Abb. 11: Das Raster ist zur Hälfte in 1/1mm und zur anderen Hälfte in 1/5mm geteilt.

### Auswertung

Für kleine Winkel  $u$  gilt näherungsweise  $u \approx \tan u = \frac{x/2}{h}$ . Da sich das Objekt praktisch in der Brennebene der Objektivlinse befindet, gilt auch  $u \approx \frac{D/2}{f}$ . Die Numerische Apertur  $NA = n \sin u$  können Sie für  $n \approx 1$  in Luft und mit der Näherung  $\sin u \approx u$  dann mittels der Formel

$$NA = n \sin u \approx u \approx \frac{x/2}{h}$$

- (A5) Berechnen Sie für beide Objektive die Numerische Apertur (NA).
- (A6) Vergleichen Sie Ihre Werte mit den Angaben auf den Objektiven.
- (A7) Bestimmen Sie den kleinsten auflösbaren Punktabstand  $d_{\min} = \lambda/(2NA)$  für die Wellenlänge  $\lambda = 500 \text{ nm}$ .

Sie werden feststellen, dass die Näherungen für die relativ großen Öffnungswinkel der Objektive nicht mehr sehr gut funktionieren. Genauer wird Ihre Rechnung, wenn Sie die Winkel aus Ihren Messungen mittels trigonometrischer Formeln bestimmen.

## Literatur

- [1] Dieter Meschede. *Gerthsen Physik*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2015.
- [2] Wolfgang Demtröder. *Optische Instrumente*, pages 331–353. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2017.

