



KARL-FRANZENS-UNIVERSITÄT GRAZ
INSTITUT FÜR PHYSIK

23S PHY.L02UB FORTGESCHRITTENENPRAKTIKUM 2
678 Bachelorstudium Physik, UG2002/2021W

IV. Advanced Microscopy

WACHMANN Elias	ZACH Andreas
12004232	12004790
Gruppe 12	

Betreut von
Dr. Georg KOLLER

31.03.2023

Inhaltsverzeichnis

1	Aufgabenstellung	3
2	Voraussetzungen und Grundlagen	3
2.1	Abbildung durch eine Sammellinse	3
2.2	Das 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek	5
2.3	Hellfeld-Transmissionsmikroskop	6
2.4	Dunkelfeldmikroskop	7
2.5	Unsicherheitsanalyse	8
3	Versuchsanordnung	9
3.1	Brennweite der Sammellinse	9
3.2	Van-Leeuwenhoek-Mikroskop	10
3.3	Hellfeld-Transmissionsmikroskop	10
3.4	Dunkelfeldmikroskop	11
4	Geräteliste	12
5	Versuchsdurchführung und Messergebnisse	12
5.1	Brennweite einer Sammellinse	12
5.2	Van-Leeuwenhoek-Mikroskop	14
5.3	Hellfeld-Transmissionsmikroskop	14
5.4	Dunkelfeldmikroskop	18
6	Auswertung	19
6.1	Brennweite einer Sammellinse	19
6.2	Van-Leeuwenhoek-Mikroskop	20
6.3	Hellfeld-Transmissionsmikroskop	20
6.4	Dunkelfeldmikroskop	20
7	Diskussion	21
7.1	Brennweite einer Sammellinse	21
7.2	Van-Leeuwenhoek-Mikroskop	21
7.3	Hellfeld-Transmissionsmikroskop	21
7.4	Dunkelfeldmikroskop	21
8	Zusammenfassung	22

1 Aufgabenstellung [1]

Der vorliegende Laborversuch teilt sich in Unterversuche, welche wie folgt gegeben sind:

- Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse
 - Mittels Lupeneffekt
 - Mittels Abbildungsgleichung
 - Mittels Bessel-Verfahren
- Das 1-Linsen-Mikroskop nach VAN LEEUWENHOEK
 - Aufbau des Mikroskops
 - Qualitatives Betrachten von Objekten
 - Bestimmung der effektiven Fokusslänge
 - Bestimmung des Brechungsindex, ab welchem der Fokuspunkt innerhalb der Kugellinse liegt
- Hellfeld-Transmissionsmikroskop
 - Aufbau des Mikroskops und Einrichtung
 - Aberrationen
 - * Linsenorientierung (Objektiv) und sphärische Aberration
 - * Kohärenz der Beleuchtung
 - * Wellenlängenabhängigkeit und chromatische Aberration
 - Charakteristika des Mikroskops
 - * Gesamtvergrößerung
 - * Auflösungsvermögen
- Dunkelfeldmikroskop
 - Aufbau des Mikroskops und Einrichtung
 - Vergleich mit dem Hellfeld-Transmissionsmikroskop

2 Voraussetzungen und Grundlagen [1]

2.1 Abbildung durch eine Sammellinse

Für den vorliegenden Versuch soll die Fokusslänge/Brennweite f der Sammellinse bestimmt werden. Dazu werden drei verschiedene Methoden angewendet:

Methode 1. Zuerst soll die Brennweite über den „Lupeneffekt“ bestimmt werden, indem ein sehr weit entferntes Objekt (Abstand zur Linse $\gg f$) scharf abgebildet wird.

Methode 2. Die Brennweite kann auch aus der Linsengleichung

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

experimentell bestimmt werden (g Gegenstandsweite, b Bildweite, G Gegenstandsgröße, B Bildgröße; siehe auch Abbildung 2.1). Als Beleuchtung wird eine Halogenlampe und als Objekte zur Verfügung stehende Proben verwendet. Die entsprechenden Abstände b und g werden mittels Lineal und die Größen B und G mittels Kamera gemessen.

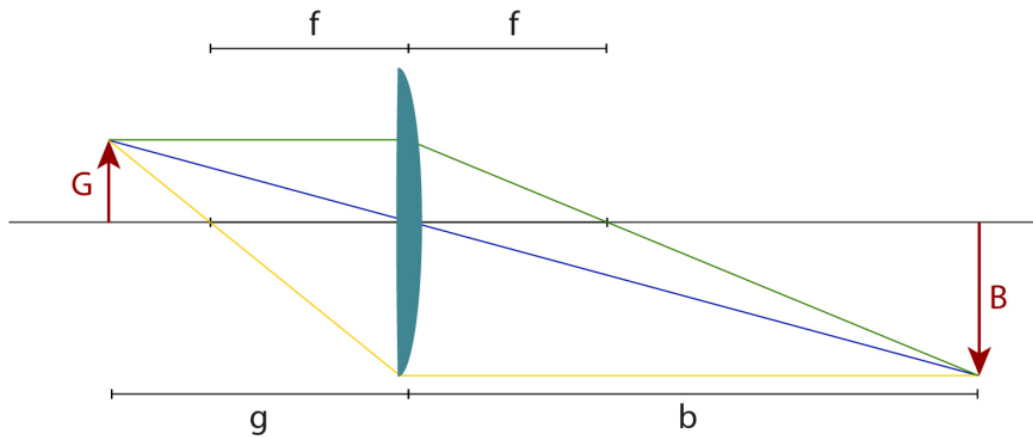


Abbildung 2.1: Strahlengang zur Abbildung mithilfe einer einzelnen Sammellinse zusammen mit den wichtigsten Parametern. Konstruktion eines Bildes: Parallelstrahl wird zum Brennpunktstrahl (grün) und Brennpunktstrahl zum Parallelstrahl (gelb). Schnittpunkt mit Mittelpunktstrahl (blau) definiert Bildweite b und Bildgröße B .

Methode 3. Zuletzt wird zur Bestimmung der Brennweite das sogenannte *Bessel-Verfahren* oder *Bessel'sches Verschiebungsverfahren* verwendet. Hierzu wird wieder ein Gegenstand im Versuchsaufbau mit der Linse scharf abgebildet (auf Mattscheibe oder Kamera). Bei festem Abstand l von Gegenstand und Position des scharf abgebildeten Bildes ($l = b + g = \text{const.}$) lässt sich eine zweite Position der Linse finden, für die eine scharfe Abbildung möglich ist ($l = b_1 + g_1 = b_2 + g_2$). Aus dem Gesamtabstand l und den Abstand w zwischen beiden Linsenpositionen lässt sich letztendlich die Brennweite f bestimmen. Dazu gilt folgende Gleichung unter der Annahme dünner Linsen:

$$f = \frac{l^2 - w^2}{4l} \quad (2)$$

2.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek

Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) gilt als einer der ersten erfolgreichen Konstrukteure von einfachen Mikroskopen mit (bis zu seiner Zeit) unerreicht hohen Vergrößerungen und beeindruckender Bildqualität. Durch die hohe Qualität der Linsen und die clevere Konstruktion seiner 1-Linsen-Mikroskope, die teils eher an sehr starke Lupen erinnern, konnte er Auflösungen im Mikrometerbereich erreichen und Mikroorganismen abbilden (und diese dabei auch erstmals nachweisen!). Aufgrund dieser Erfolge wird er auch als Vater der Mikrobakteriologie bzw. Mikrobiologie bezeichnet. Um die genauen Methoden seiner mikroskopischen Messungen ranken sich viele Mythen und Interpretationsversuche, da er die Details bzgl. der Messprozedur sowie der genauen Vorgehensweise zur Herstellung von Linsen, das Kernstück seiner Geräte, stets geheim hielt.

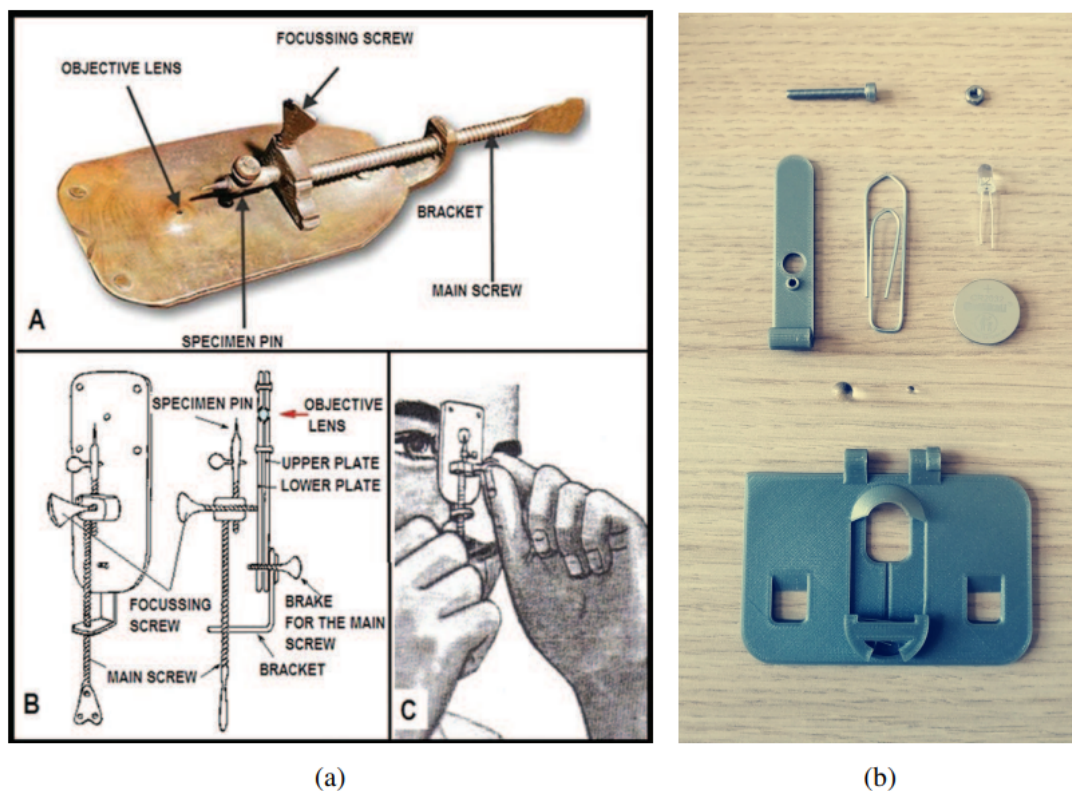


Abbildung 2.2: (a) Bild eines einfachen Mikroskops von van Leeuwenhoek mit Beschreibung der einzelnen Bauteile. (b) Einzelteile des Selbstbau-1-Linsen-Mikroskops angelehnt an van Leeuwenhoek. Auf dem Bild zu sehen sind die 3D-gedruckten Bauteile zur Halterung von Probe, Linsen und Beleuchtung sowie weitere Elemente (Batterie, LED, Schraube, Klammer, Kugellinsen). (c) Fertiggestelltes Selbstbau-1-Linsen-Mikroskop.

Im Folgenden findet sich eine Liste der Bauteile (siehe auch Abbildung 2.2):

- 2 Glaskugeln verschiedenen Durchmessers (2,5 mm und 6,35 mm) als Linsen mit Brechungsindex $n = 1,518$
- 1 Halterung für beide Linsen
- 1 Weißlicht-LED als Beleuchtung
- 1 Batterie (Knopfzelle CR2032)
- 2 Papierklammern (Probenbefestigung)
- 1 Trägerplatte zur Befestigung der Probenhalterung
- 1 Schraube zur Befestigung des Linsenhalters an der Trägerplatte

Zur Bestimmung der geforderten Größen, der Lupenvergrößerung M sowie der effektiven Fokusslänge f werden noch die folgenden Gleichungen benötigt:

$$M = \frac{250 \text{ mm}}{f} \quad (3)$$

$$f = \frac{n \cdot d}{4(n - 1)} \quad (4)$$

Dabei steht d für den Durchmesser der Kugellinse und n bezeichnet die Brechzahl der Linse.

2.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Ein konventionelles Mikroskop (griechisch: *mikros* = klein; *skopein* = betrachten) besteht in der Regel aus mindestens zwei Linsen und erlaubt – wie der Name schon vermuten lässt – die Betrachtung bzw. Vergrößerung von Objekten, die sich mit dem bloßen Auge eben nicht erkennen/auflösen lassen. Im einfachsten Falle kommen also zwei Linsen zum Einsatz (siehe Abbildung 2.3), wobei eine davon als Objektiv (nahe dem Objekt) und die andere als Okular (nahe dem Auge, lateinisch: *Oculus*) fungiert. Das Objektiv erzeugt dabei ein vergrößertes Zwischenbild des Objekts, welches seinerseits durch das Okular weiter vergrößert wird (wie durch eine zusätzliche Lupe). Es ergibt sich eine Gesamtvergrößerung des Objekts durch das System. Fallen die Position des Zwischenbildes und des vorderen Brennpunkts des Okulars zusammen, so entsteht ein Bild im Unendlichen (siehe Abbildung 2.3), welches durch die entspannte Augenlinse auf der Netzhaut zu einem scharfen gesamtvergrößerten Bild wird. Befände sich das Zwischenbild näher am Okular, so entsteht ein virtuelles Zwischenbild, welches für das angespannte Auge in einer effektiven Bezugsweite von etwa 25 cm liegt. Es gibt unzählige Arten von Mikroskopen, die alle Vor- und Nachteile mit sich bringen und die finale Wahl der Methode meist vom abzubildenden System abhängt.

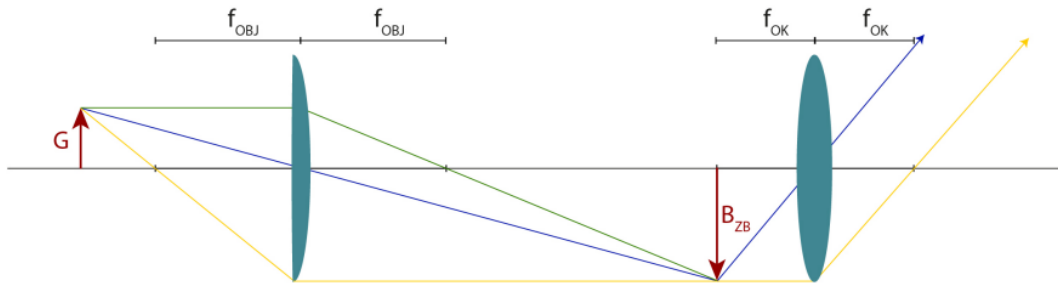


Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau und Bildkonstruktion eines Mikroskops bestehend aus Gegenstand/Objekt, Objektiv-Linse und Okular-Linse. Die entsprechenden Brennweiten und weitere Parameter sind im Bild vermerkt. Das Okular ist hier so platziert, dass dessen Brennpunkt und die Position des Zwischenbildes (ZB) zusammenfallen. Dadurch entsteht ein Bild im Unendlichen. Mithilfe der (entspannten auf Unendlich akkommodierten) Augenlinse oder eben einer Kameralinse entsteht letztendlich ein scharfes, gesamtvergrößertes Bild (hier nicht eingezeichnet). Auch die Beleuchtung des Gegenstandes ist nicht eingezeichnet. Den Abstand zwischen hinterem Brennpunkt des Objektivs und vorderem Brennpunkt des Okulars nennt man optische Tubuslänge t_0 .

Die Bestimmung der Gesamtvergrößerung G erfolgt über die Pixelgröße P_A und die Pixelanzahl P_n sowie das Auflösungsvermögen nach Gleichung 5.

$$G = \frac{P_A P_n}{N} \quad (5)$$

Im zentralen Bereich der Probe befinden sich verschiedene Gruppen, welche jeweils aus mehreren Elementen aufgebaut sind. Jede Gruppe (Nummerierung jeweils oben) besteht aus sechs Elementen (Nummerierung seitlich). Jedes Element besteht dabei aus drei horizontalen und drei vertikalen Balken. Je höher die Nummerierung, desto kleiner die Balken. Die Balkenpaare pro Millimeter werden dabei wie folgt bestimmt:

$$\frac{\text{Balkenpaare}}{\text{mm}} = 2^{\text{Gruppe} + \frac{\text{Element} - 1}{6}} \quad (6)$$

2.4 Dunkelfeldmikroskop

Wie im vorherigen Abschnitt bereits beschrieben spielt die Art der Beleuchtung eine große Rolle. Dabei sind die Wellenlänge oder auch die spektrale Breite, die Homogenität und der Winkelbereich der Beleuchtung von großer Wichtigkeit. Nun sollen diese Aspekte erneut in Bezug auf Dunkelfeld-Beleuchtung bzw. -Mikroskope aufgegriffen werden. Erste Ansätze in Richtung dieser Methode werden van Leeuwenhoek, Hooke und Huygens zugeschrieben. Im Vergleich zu einem Hellfeld-Mikroskop, bei dem die Strukturen einer Probe vor einem hellen Hintergrund erscheinen und sich vor allem durch Absorption und durch Streuung

verloren gegangenes Licht von diesem abheben, wird beim Dunkelfeld-Prinzip nur dort Licht aufgesammelt, wo die Probe Licht in eine Aufsammeloptik (Linse/Objektiv) hineinstreut. Bereiche, in denen es zu keiner Streuung kommt, erscheinen im Bild also schwarz. Dies kann bei wenig absorbierenden Proben von großem Vorteil in Sachen Bildkontrast sein. In Abbildung 2.4 ist ein Vergleich aus Hellfeld- und Dunkelfeld-Beleuchtung gezeigt. Man sieht deutlich, wie im Falle einer Hellfeld-Beleuchtung (Abbildung 2.4, links) die Probe ausgeleuchtet und das transmittierte Licht gemessen wird. Wird Licht vom Objekt reflektiert, absorbiert oder so gestreut, dass es die Aufsammeloptik nicht erreicht, so wird dort im Bild die Intensität geringer sein, als an Orten, an denen das Licht nahezu ungehindert die Probe durchlaufen konnte. Das Bild erscheint also als dunklerer Bereich auf hellem Hintergrund. Fand wenig Absorption, Streuung oder Reflexion statt, ist der Kontrast (Helligkeitsunterschied) sehr gering. Wenn hingegen Abbildung 2.4 (rechts) betrachtet wird, so sieht man deutlich, dass die Dunkelfeld-Beleuchtung zu einer vollkommen anderen Bilderzeugung führt, deren Kontrastmechanismus auch stark von der Hellfeld-Methode abweicht. Das Licht, welches die Probe nahezu ungehindert durchläuft, liegt außerhalb des Winkelbereichs der Aufsammeloptik (streifender Einfall der Beleuchtung). Entsprechende Bereiche werden im Bild als Hintergrund also schwarz/dunkel erscheinen. Werden aber Teile des Lichts in Bereiche des Objekts gestreut und dabei so umgelenkt, dass sie aufgesammelt werden können, so zeichnen sich diese Bereiche also hell ab. Es entsteht ein entsprechender Kontrast. Die Absorption spielt hierbei eine untergeordnete Rolle.

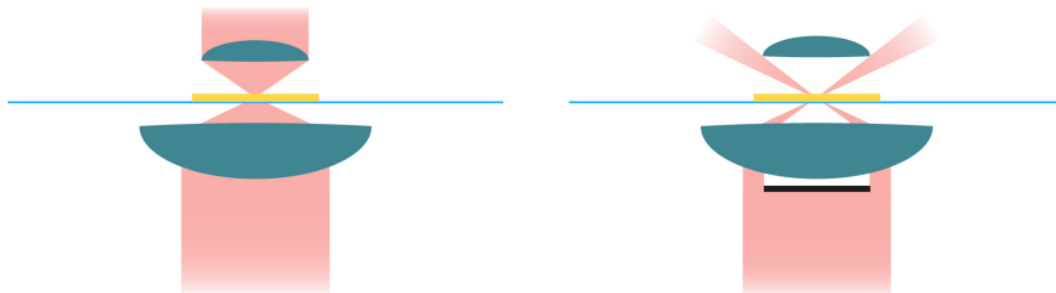


Abbildung 2.4: Vergleich Hellfeld- (links) und Dunkelfeld-Methode (rechts). Beleuchtung/Licht (rot) von unten kommend. Zentralblende (rechts; schwarz) lässt nur Randstrahlen passieren.

2.5 Unsicherheitsanalyse

Die explizit angegebenen Unsicherheiten der ermittelten Messgrößen basieren auf Berechnungen durch die Unsicherheitsangabe nach den Datenblättern der verwendeten Messgeräte. Diese sind in Tabelle 4.1 vermerkt beziehungsweise referenziert.

Die Fehlerfortpflanzung der berechneten Werte basiert auf der Größtunsicherheitsmethode nach Gauß. Um diese Berechnungen zeiteffizient durchführen zu können, wird für jeden Unterpunkt der Laborübung ein Skript in **Python** implementiert. Kernstück dessen ist das package **uncertainties** [2], das intern die Fehlerfortpflanzung berechnet. Gerundet

wird nach den Angaben des Skriptums der Lehrveranstaltung „Einführung in die physikalischen Messmethoden“ [3].

3 Versuchsanordnung

3.1 Brennweite der Sammellinse

Die Bestimmung der Brennweite wird, wie in Abschnitt 1 angeführt, mittels dreier verschiedener Ansätze vorgenommen.

Der Aufbau ist für die unterschiedlichen Verfahren größtenteils gleich, Abweichungen davon werden in Abschnitt 5 beschrieben. Die Bauteile werden allesamt auf einer Aluminiumschiene fixiert, wodurch eine möglichst lineare Anordnung und dadurch auch ein möglichst paralleler Strahlengang erreicht werden kann. Der grundsätzliche Aufbau ist Abbildung 3.1 zu entnehmen.

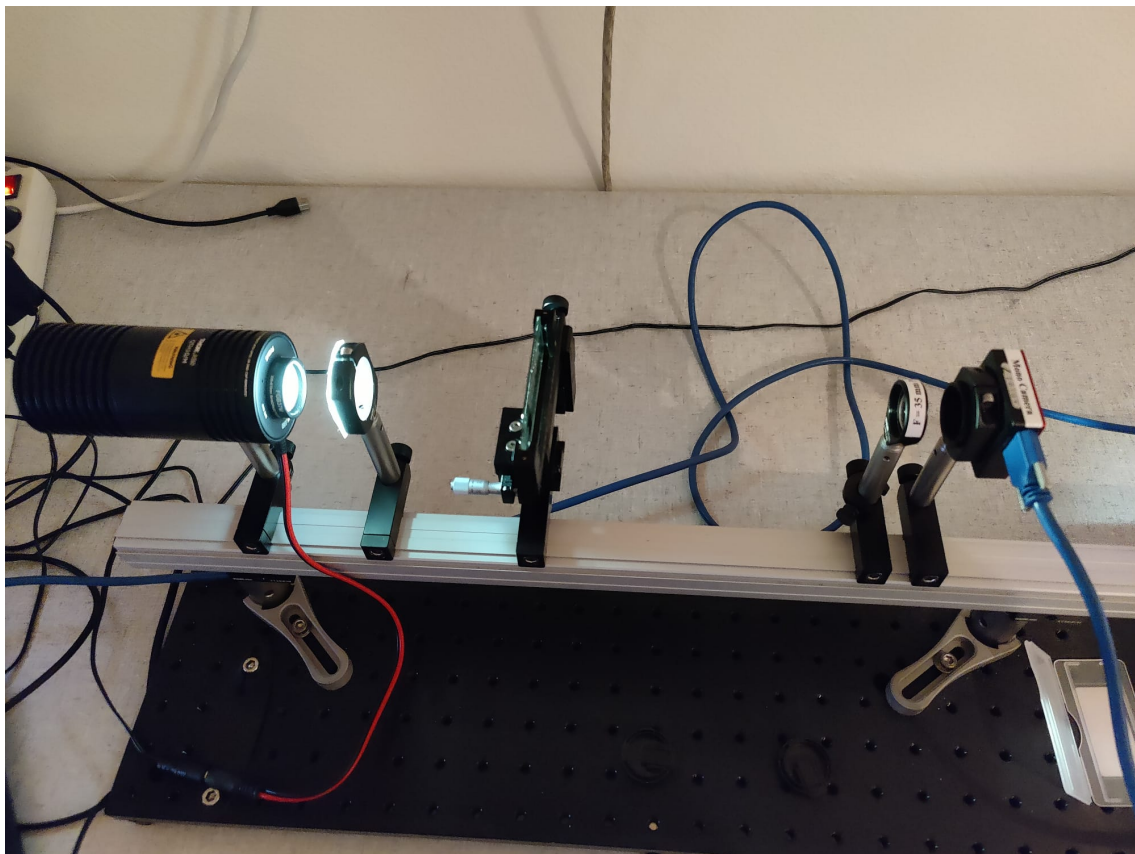


Abbildung 3.1: Aufbau zur Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse. Komponenten von links nach rechts: Lampe, Diffusor, Probenhalter inkl. Probe, plankonvexe Linse (planare Seite objektseitig), Kamera

3.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Das Van-Leeuwenhoek-Mikroskop wird nach den Beschreibungen in [1] zusammengebaut. Dazu wird die Knopf-batterie in das dafür vorgesehene Fach gegeben und die beiden LED-Kontakte mit der richtigen Polarität zwischen Plastik und Zelle eingeklemmt. Die LED dient der Beleuchtung der Proben. Nun bringt man mittels der Schraube noch den Arm mit den beiden Linsen an und der Aufbau ist vollständig.

3.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Der Versuchsaufbau aus Unterabschnitt 3.1 wird übernommen und anschließend wie folgt geändert: Zuerst wird die plankonvexe Linse gegen eine Linse mit $f = 35 \text{ mm}$ (objektiv-seitig) ausgetauscht. Diese Linse wird in einem Abstand g_{obj} von $(44 \pm 1) \text{ mm}$ eingesetzt. Das Okular mit Brennweite $f = 50 \text{ mm}$ wird im Abstand von $(210 \pm 6) \text{ mm}$ von der Probe eingebaut. Die Kamera wird mit angeschraubter Linse mit $f = 150 \text{ mm}$ im Abstand von $(200 \pm 5) \text{ mm}$ angebracht. Der Aufbau wird nochmals in Abbildung 3.2 verdeutlicht.

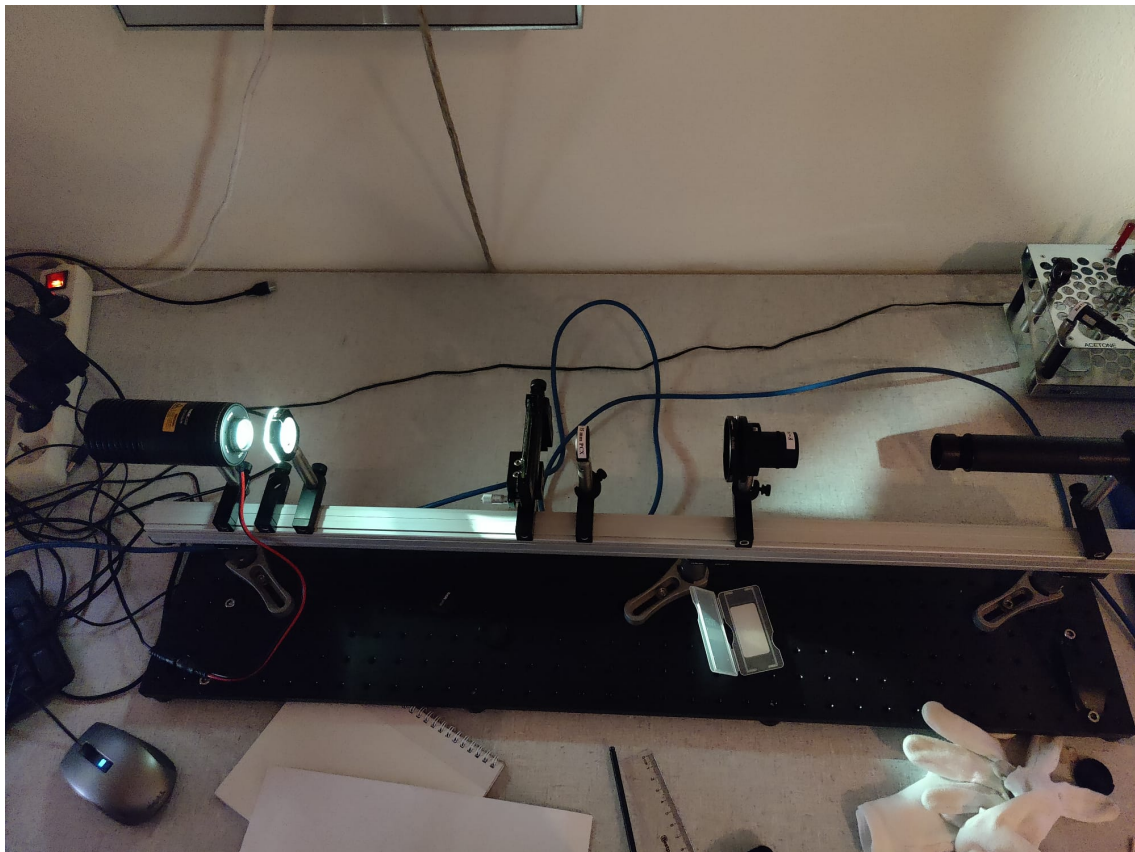


Abbildung 3.2: Aufbau eines Hellfeld-Transmissionsmikroskops

3.4 Dunkelfeldmikroskop

Nun wird der Diffusor aus dem Strahlengang genommen und ein spezielles Objektiv eingesetzt, dieses hat bereits eine Blende integriert, welche nur einen peripheren Ring zur Beleuchtung der Probe offenlässt. Nach der Probe wird anstelle der in den vorherigen Versuchen benutzten Linsen eine achromatische Linse mit $f = 25\text{ mm}$ eingebracht und die Kamera abermals ohne angeschraubte Linse befestigt. Die achromatische Linse verfügt zudem noch über eine Irisblende, um nur das Streulicht der Probe, nicht aber das direkte Licht in die Kamera zu lassen. Der Aufbau wird in Abbildung 3.3 dargestellt.

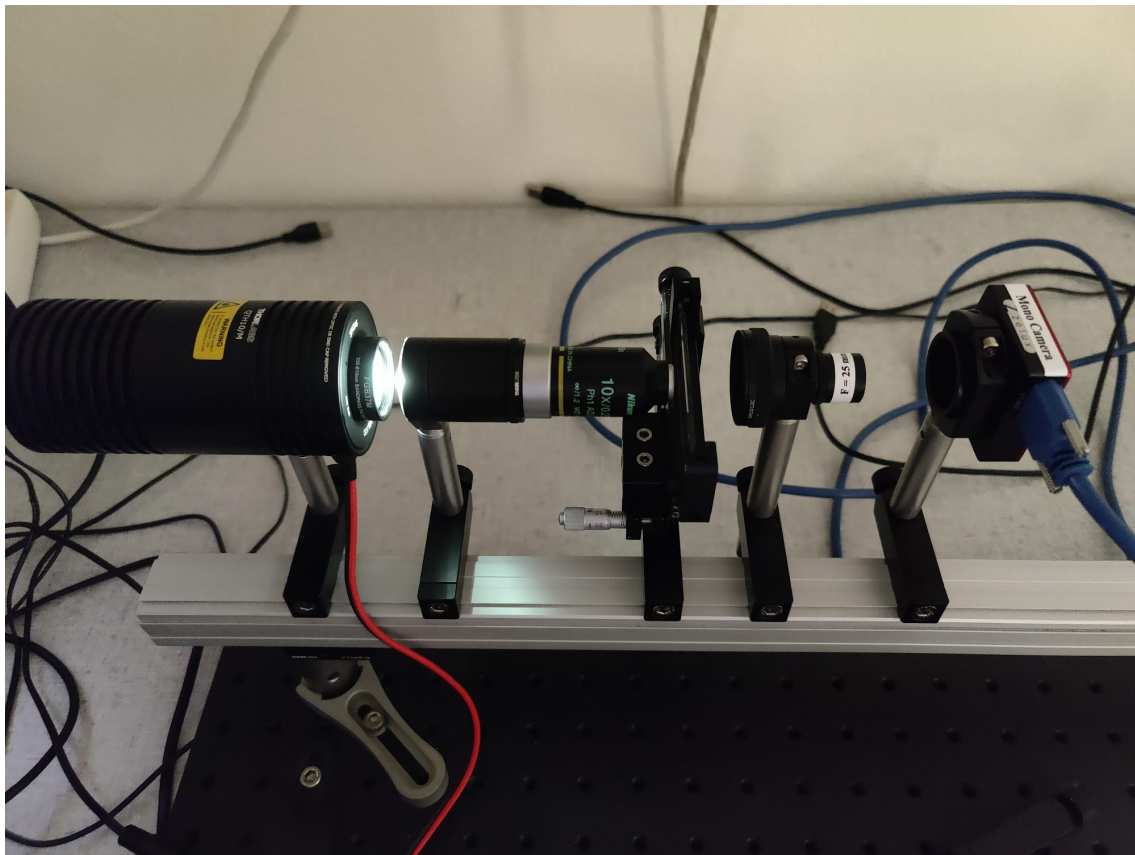


Abbildung 3.3: Aufbau eines Dunkelfeldmikroskops

4 Geräteliste

Tabelle 4.1: Verwendete Geräte und wichtige Materialien

Gerät	Hersteller	Modell	Inventar-Nr.	Anmerkung
QTH10/M	THORLABS	-	-	inkl. Infrarot Filter
LED 2×	THORLABS	-	-	rot & blau
Diffusor	-	-	-	-
Probenhalter XYF1	THORLABS	-	-	-
Probe	THORLABS	-	-	-
Plankonvexe Sammellinsen	-	-	-	unbekannte Brennweite
Optischer Tisch	-	-	-	inkl. Befestigungsschienen
Van Leeuwenhoek Mikroskop	3D-Drucker	-	-	inkl. Schraube, LED & Batterie
Kamerasensor	CS165MU/M	-	-	1,6 Mpx – Pixelgröße: 3,45 μm
Kameraobjektiv	-	-	-	$f = 150 \text{ mm}$
Objektiv	-	-	-	$f = 35 \text{ mm}$
Okular	-	-	-	$f = 50 \text{ mm}$
Mikroskopobjektiv	Nikon	-	-	Vergrößerung: 10×
Achromatische Linse	-	-	-	$f = 25 \text{ mm}$, inkl. Irisblende

5 Versuchsdurchführung und Messergebnisse

5.1 Brennweite einer Sammellinse

Der Aufbau wird, wie auf Abbildung 3.1 gezeigt, hergestellt.

Lupeneffekt. Um zuallererst die Brennweite mittels Lupeneffekt abzuschätzen, gilt die Annahme, dass das Bild im Unendlichen entsteht. Als beweglicher Schirm für das reelle Bild fungiert ein weißes Blatt Papier. In einem Zusammenspiel aus Veränderung der Linseposition relativ zur optischen Probe und dem Schirm in Form des weißen Blatt Papiers wird eine Anordnung gefunden, bei welcher das Bild in großer Entfernung von der Linse scharf wirkt. Unter der Annahme, dass die Strahlen parallel verlaufen, ist dieses Bild auch im Unendlichen noch scharf. Bei dieser Konfiguration wird die Gegenstandsweite g – der Abstand von optischer Probe zur Linse – vermessen und mit

$$g = (20 \pm 2) \text{ mm}$$

beziffert.

Abbildungsgleichung. Als Nächstes wird die Brennweite der Linse über die Abbildungsgleichung (Gleichung 1) bestimmt. Hierzu wird der Abstand des Gegenstands, also der Probe, sowie der Abstand des entstehenden Bilds zur Linse gemessen. Diese Messung wird je zweimal wiederholt, allerdings mit unterschiedlichen Positionen der Linse, sodass zwei unabhängige Kombinationen von g und b ergeben. Die Messergebnisse finden sich in Tabelle 5.1.

Tabelle 5.1: Messergebnisse des Teilversuchs zur Bestimmung der Brennweite einer Linse mittels Abbildungsgleichung. g bezeichnet die Gegenstandsweite, b die Bildweite, i den Laufindex der Position der Linse. Unsicherheiten: Δg , Δb .

$i / 1$	g / mm	$\Delta g / \text{mm}$	b / mm	$\Delta b / \text{mm}$
1	126	3	35	2
2	44	2	54	2

Bessel-Verfahren. Zuletzt wird die Brennweite der Linse noch über das Bessel-Verfahren, wie in Unterabschnitt 2.1 beschrieben, vermessen. Es wird eine beliebige Position der Linse gewählt und sowohl die Gegenstandsweite g als auch die Bildweite b vermessen. Die Summe dieser beiden ergibt die Gesamtlänge l . Danach wird eine neue Position der Linse gewählt, sodass sich die Gesamtlänge nicht verändert. Die gemessenen Bildweiten und Gegenstandsweiten befinden sich in Tabelle 5.2.

Tabelle 5.2: Messergebnisse des Teilversuchs zur Bestimmung der Brennweite einer Linse mittels Bessel-Verfahren. g bezeichnet die Gegenstandsweite, b die Bildweite, i den Laufindex der Position der Linse. Unsicherheiten: Δg , Δb .

$i / 1$	g / mm	$\Delta g / \text{mm}$	b / mm	$\Delta b / \text{mm}$
1	23	2	125	3
2	112	3	36	3

5.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Der Aufbau wird, wie in Unterabschnitt 3.2 beschrieben, hergestellt. Anschließend werden als zu untersuchende Proben eine Kugelschreiberspitze und ein Blatt Papier herangezogen. Durch die Kugellinse konnten dann tatsächlich vergrößerte Bilder der genannten Proben betrachtet werden, obgleich es nicht ganz einfach war, die richtige Position zu finden, bei der man dann tatsächlich ein Bild erkennen konnte. Mithilfe der Makro-Kamera des Smartphones eines Experimentierenden konnten sogar digitale Abbildungen der vergrößerten Bilder aufgenommen werden. Dies ist jedoch nur mit der größeren Kugellinse möglich, das Bild der kleineren lässt sich mit der Kamera nicht auflösen. Die Abbildungen der größeren Linse finden sich in den Abbildungen 5.1 und 5.2.

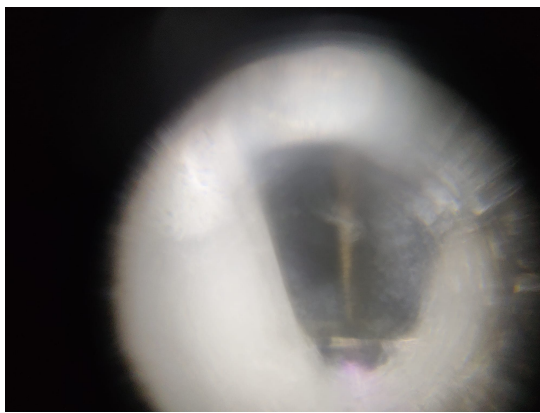


Abbildung 5.1: Durch die größere Linse des Van-Leeuwenhoek-Mikroskop vergrößerte Kugelschreiberspitze

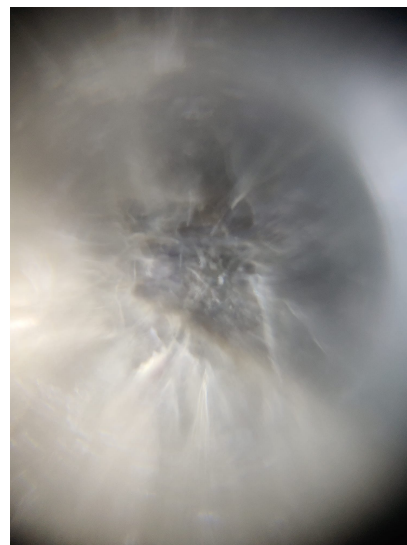


Abbildung 5.2: Durch die größere Linse des Van-Leeuwenhoek-Mikroskop vergrößertes Blatt Papier

Betrachtet man weiters den Unterschied der beiden am Mikroskoparm angebrachten Linsen so wird ersichtlich, dass die Kugellinse mit größerem Durchmesser eine stärkere Vergrößerung als die mit kleinerem Durchmesser aufweist. Gemein ist beiden Linsen jedoch eine deutlich erkennbare Bildfeldwölbung.

TODO

5.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Der Aufbau wird, wie in Unterabschnitt 3.3 beschrieben, hergestellt.

Anschließend werden relevante Abstände der Aufbau vermessen: Der Abstand der Objektlinse (mit Brennweite $f_{\text{obj}} = (35,0 \pm 0,4) \text{ mm}$) zur optischen Probe wird vermessen und

mit $g_{\text{obj}} = (44 \pm 1)$ mm beziffert. Der Abstand zwischen Objektiv- und Okularlinse beträgt $d_{\text{obj-okul}} = (50 \pm 1)$ mm und die Brennweite der Okularlinse ist $f_{\text{oku}} = (10,0 \pm 0,1)$ mm. Die Brennweite der verwendeten Okularlinse beträgt $f_{\text{oku}} = 50.0(4)$ mm und deren Abstand zur Probe beträgt $d_{\text{prob-okul}} = (210 \pm 5)$ mm.

Als Nächstes wird die Auswirkung von Aberrationseffekten auf das Bild der Linse untersucht.

Objektivlinsenorientierung und sphärische Aberration. Nachdem bereits ein scharfes Bild zustande gebracht worden ist, wird dieses mittels Kamera aufgenommen und abgespeichert. Es gilt als Referenzbild im Ausgangszustand der Anordnung. Dieses Bild findet sich in Abbildung 5.3.

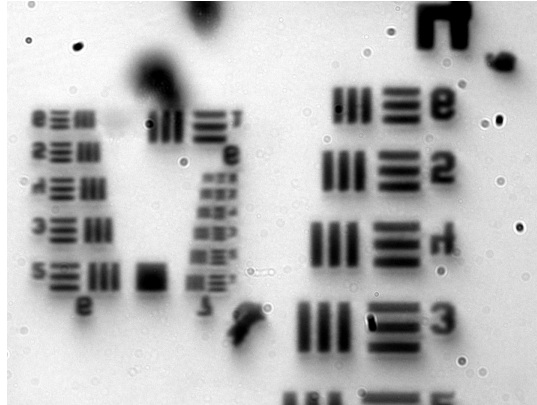


Abbildung 5.3: Referenzbild des Teilversuchs zur Untersuchung der Auswirkung der Objektivlinsenorientierung und der sphärischen Aberration auf das entstehende reelle Bild.

Anschließend wird die Objektiv-Linse mitsamt Halterung um 180° gedreht. Nun weist die gekrümmte Seite der Linse in Richtung Probe. Erneut wird ein Bild aufgenommen, dieses ist jedoch nicht scharf. Mit dem Feinregler wird die Position der Probe justiert, sodass wieder ein scharfes Bild entsteht. Das scharfe sowie unscharfe Bild sind nebeneinander in den Abbildungen 5.4 und 5.5 dargestellt.

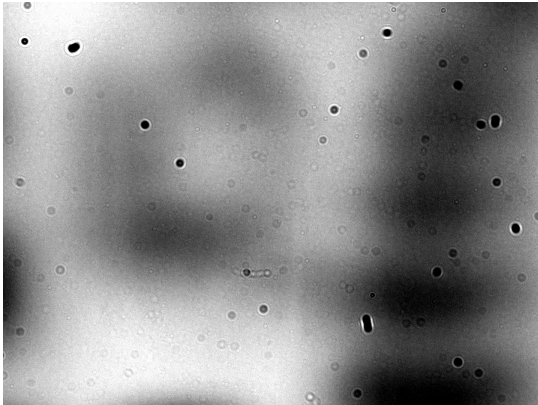


Abbildung 5.4: Unscharfe Abbildung bei um 180° gedrehter Objektiv-Linse (konvexe Seite zeigt zur Probe)

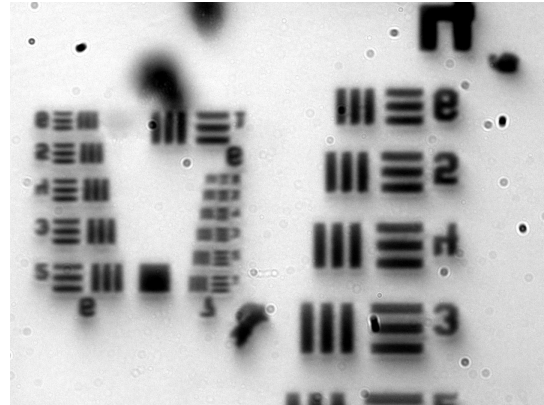


Abbildung 5.5: Scharfe Abbildung bei um 180° gedrehter Objektiv-Linse (konvexe Seite zeigt zur Probe)

Kohärenz. Als Nächstes wird die Auswirkung der Kohärenz der Beleuchtung auf die Bildgebung untersucht. Hierzu wird der Diffusor zwischen Lichtquelle und Probe aus dem Aufbau entfernt. Die Position der restlichen Komponenten bleiben unverändert. Es ergibt sich abermals ein unscharfes Bild, welches diesmal jedoch nicht scharfgestellt werden konnte. Dieses Bild befindet sich auf Abbildung 5.6.

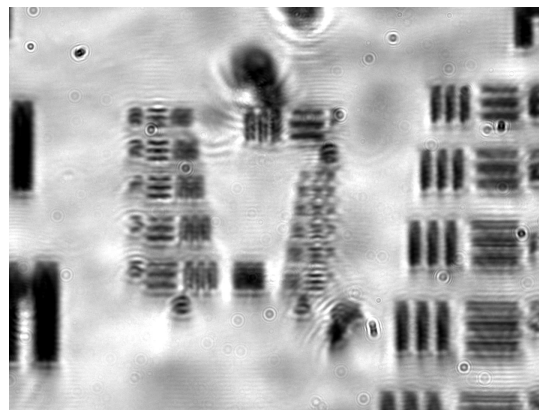


Abbildung 5.6: Bildgebung nach Entfernung des Diffusors aus dem Aufbau

Wellenlängenabhängigkeit und chromatische Aberration. Zu guter Letzt wird die Wellenlängenabhängigkeit des Bilds untersucht. Hierzu wird die Halogenlampe, die bis eben als Lichtquelle gedient hat, durch eine blaue LED ersetzt. Diese wird über einen USB-Port, welcher mit dem PC verbunden wird, mit Strom versorgt. Es wird wieder ein (unscharfes) Bild aufgenommen (Abbildung 5.7) und scharfgestellt (Abbildung 5.8). Anschließend wird die blaue LED durch eine rote LED ersetzt. Auch hier wird wieder ein Bild aufgenommen und scharfgestellt. Die Bilder sind in Abbildung 5.9 und Abbildung 5.10 dargestellt. Für beide LED-Lichtquellen wird darüber hinaus notiert, um welche Distanz die Probe

mittels Mikrometerschraube verschoben werden musste, um ein scharfes Bild zu erhalten, relativ zum von derselben Position ausgehenden unscharfen Bild. Für die blaue LED ergibt sich eine Verschiebung von $d_{\text{blau}} = (1,85 \pm 0,05) \text{ mm}$ und für die rote LED von $d_{\text{rot}} = (1,78 \pm 0,05) \text{ mm}$.

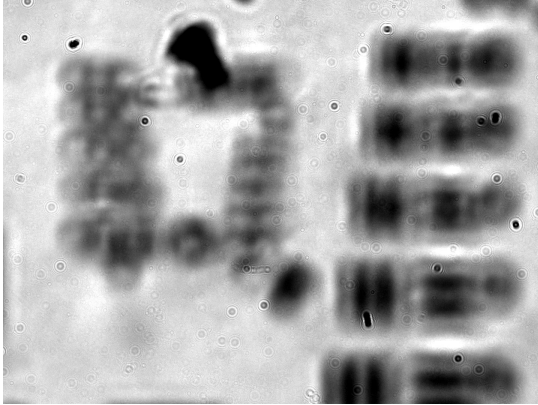


Abbildung 5.7: Unscharfes Bild bei Beleuchtung mit blauer LED

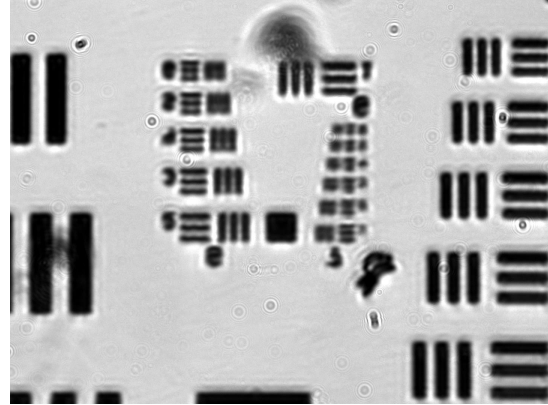


Abbildung 5.9: Unscharfes Bild bei Beleuchtung mit roter LED

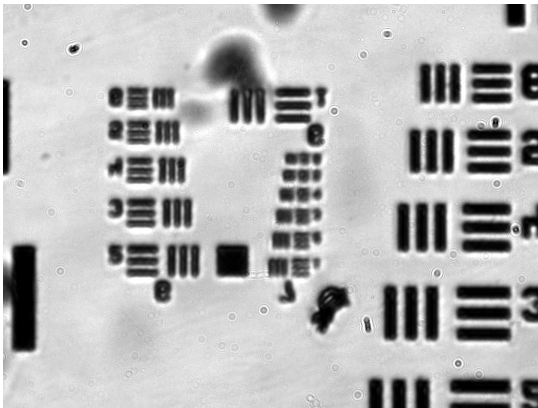


Abbildung 5.8: Scharfes Bild bei Beleuchtung mit blauer LED

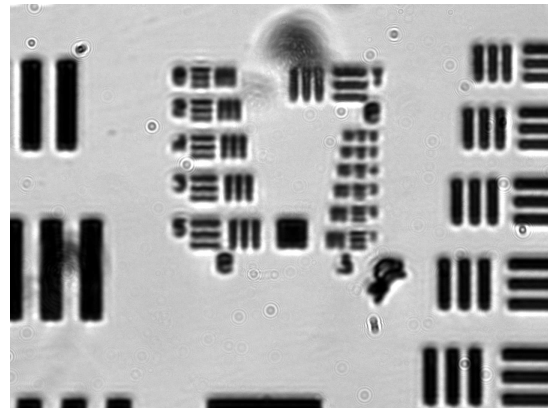


Abbildung 5.10: Scharfes Bild bei Beleuchtung mit roter LED

Als Abschluss wird noch die Gesamtvergrößerung und das Auflösungsvermögen des vorliegenden Aufbaus untersucht. Für die Gesamtvergrößerung wird zuerst ein (unvergrößertes) Referenzbild aufgenommen (Linse wird aus dem Strahlengang entfernt) und der Abstand zweier charakteristischer Punkte in px mittels der am PC laufenden Software ausgemessen. Danach wird die Linse wieder eingesetzt und es entsteht ein reelles vergrößertes *verkehrtes* Bild. Derselbe Abstand wird gemessen. Die beiden Bilder und die darin eingetragenen Abstände befinden sich auf den Abbildungen 5.11 und 5.12.

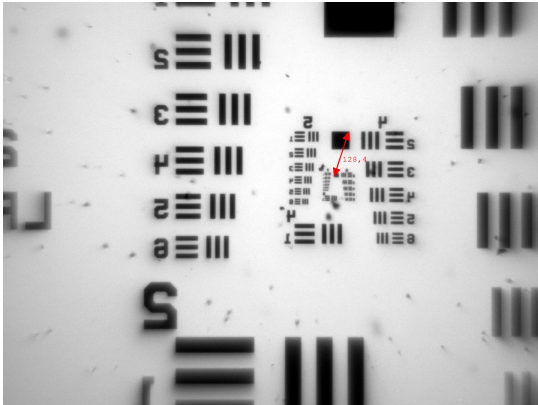


Abbildung 5.11: Referenzbild zur Bestimmung der Gesamtvergrößerung. Der Abstand der beiden Eckpunkte der Quadrate ist mittels Software ausgemessen und auf dem Bild eingetragen.

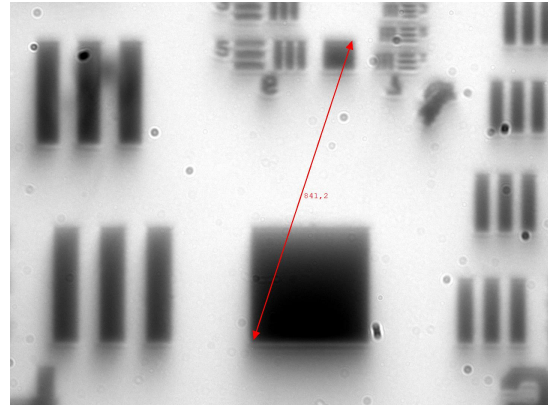


Abbildung 5.12: Vergrößertes *verkehrtes* Bild zur Bestimmung der Gesamtvergrößerung. Der Abstand der beiden Eckpunkte der Quadrate ist mittels Software ausgemessen und auf dem Bild eingetragen.

Als Abschluss zum Teilversuch Hellfeldmikroskop wird noch das Auflösungsvermögen, das nach Gleichung 6 gegeben ist, bestimmt. Hierzu wird jener Bereich des Probenbilds gesucht, der gerade noch scharf aufgelöst werden kann. Das dafür zur Rate gezogene Bild ist Abbildung 5.13.

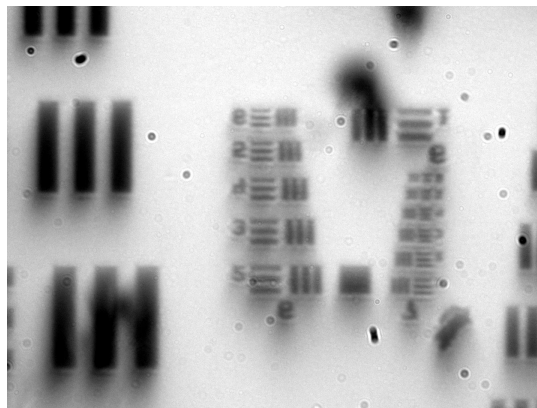


Abbildung 5.13: Testbild zur Bestimmung des Auflösungsvermögens des Hellfeldmikroskops

5.4 Dunkelfeldmikroskop

Der Versuchsaufbau wird, wie in Unterabschnitt 6.3 beschrieben, hergestellt. Der Diffusor wird aus dem Strahlengang genommen und das spezielle Objektiv mit Ringblende eingesetzt. Eine korrekte Positionierung in allen drei Freiheitsgraden ist vonnöten, um ein

Bild im Dunkelfeldaufbau zu erhalten. Mit einem Blatt Papier wird entlang des Strahlengangs hinter dem Objektiv die korrekte Abdunkelung durch die Ringblende überprüft. Die optische Probe wird wieder in den Strahlengang gebracht, diesmal im Abstand von 6,2 mm zum Ausgang des Objektivs. Hinter der Probe folgen nun noch die Kombination aus achromatischer Linse ($f = 25$ mm) und beweglicher Blende. Letztere dient schließlich zum Ausblenden der ringförmigen Beleuchtung. Bei vollends geöffneter Blende fängt die Linse den Lichtring der ersten Blende ein.

Trotz langwieriger Justierung und aufwendiger Fehlerquellensuche konnte kein brauchbares Bild mit dem Dunkelfeldaufbau gewonnen werden, weswegen in Absprache mit dem Betreuer das Labor an dieser Stelle abgebrochen wurde. Das beste erhaltene Bild befindet sich in Abbildung 5.14.

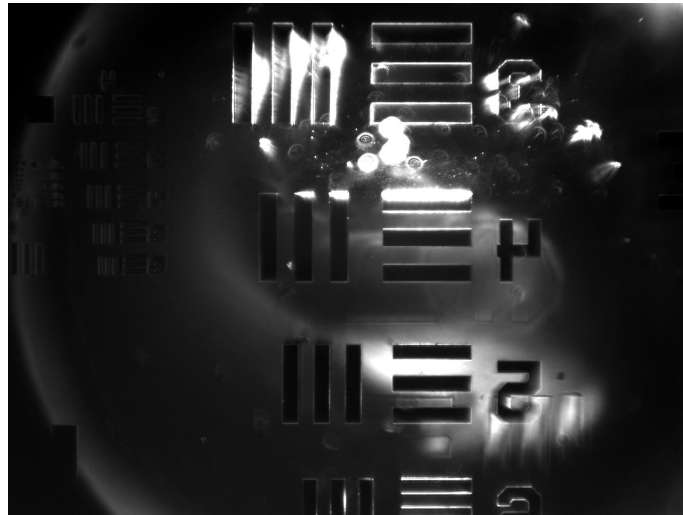


Abbildung 5.14: Bestes Bild des Teilversuchs zum Dunkelfeldmikroskop

6 Auswertung

Im Folgendem werden die einzelnen Teilversuche ausgewertet und die Ergebnisse zu den Experimenten präsentiert.

6.1 Brennweite einer Sammellinse

Wie oben beschrieben wurden zur Bestimmung der vorerst unbekannten Brennweite einer Sammellinse drei Methoden verwendet. Der Schätzwert für die unbekannte Brennweite ergibt sich mittels der Lupeneffektabschätzung zu:

$$f_{\text{Schätzwert}} = (20 \pm 2) \text{ mm}$$

In weiterer Folge wird Gleichung 1, die Linsengleichung, zur Bestimmung der unbekannten Größe verwendet und es ergeben sich für die beiden Versuche die in Tabelle 6.1 angegebenen Werte.

Tabelle 6.1: Auswertung des Teilversuchs zur Bestimmung der Brennweite einer Linse mittels Abbildungsgleichung. g bezeichnet die Gegenstandsweite, b die Bildweite, f die Brennweite, i den Laufindex der Position der Linse. Unsicherheiten: Δg , Δb , Δf .

$i / 1$	g / mm	$\Delta g / \text{mm}$	b / mm	$\Delta b / \text{mm}$	f / mm	$\Delta f / \text{mm}$
1	126	3	35	2	27,4	1,3
2	44	2	54	2	24,2	0,8

Es folgt also für die über die Linsengleichung bestimmte Brennweite $f_{\text{Linsengleichung}}$ der Mittelwert:

$$f_{\text{Linsengleichung}} = (25,8 \pm 0,8) \text{ mm}$$

Anschließend wurde noch das Besselverfahren benutzt welches analog zum gerade eben erwähnten Linsengleichungsverfahren – diesmal aber unter Benutzung von Gleichung 2 – für f_{Bessel} folgendes Ergebnis liefert:

$$f_{\text{Bessel}} = (23,3 \pm 1,2) \text{ mm}$$

6.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Die zu bestimmenden Größen ergeben sich aus Gleichung 3 und Gleichung 4 zu:

$$f_{eff\text{-klein}} = (1,83 \pm 0,04) \text{ mm} \quad f_{eff\text{-groß}} = (4,652 \pm 0,005) \text{ mm}$$

$$M_{\text{klein}} = 136 \pm 3 \quad M_{\text{groß}} = 53,75 \pm 0,06$$

Dabei ist $n = 1,518$ und die Durchmesser sind $d_{\text{klein}} = 2,5 \text{ mm}$ und $d_{\text{groß}} = 6,35 \text{ mm}$. Die Unsicherheiten wird dabei für alle drei Größen als implizit angenommen.

6.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

6.4 Dunkelfeldmikroskop

Die Dunkelfeldmikroskopie erwies sich als äußerst schwierig in der Einrichtung. Jedoch konnten dennoch die in Unterabschnitt 5.4 dargestellten Ergebnisse erzielt werden.

7 Diskussion

7.1 Brennweite einer Sammellinse

Die drei unterschiedlichen Verfahren führen grundsätzlich zu ähnlichen Ergebnissen. Dennoch gibt es zwischen den Methoden Abweichungen welche außerhalb der angegebenen Unsicherheitsbereiche liegen. Absolut gesehen ist die erste Abschätzung (mittels Lupeneffekt) zwar etwas weiter von den anderen Messwerten abgeschlagen; dies war aber erwartbar, da sich die präzise Messung – eines freihändig in den Strahlengang gehaltenen Objekts – schwierig gestaltet.

Linsengleichung und Besserverfahren, wenn auch mit kleineren Unsicherheiten versehen stimmen auch nicht in ihren Unsicherheitsintervallen überein. Hier liegt vermutlich abermals die Krux in der ungenauen Messmethode: freihand mit Lineal. Bessere Ergebnisse liesen sich hierbei mit fix an der Schiene verbauten Messskalen und einer höherer Wiederholungsrate der Messungen erreichen um eine sinnhafte statistische Auswertung umsetzen zu können.

Letztendlich bleibt die genauere Bestimmung der Brennweite mittels dieser grundsätzlich für dünne Linsen geltenden Zusammenhänge für dickere als auch plankonvexe Linsen schwierig.

7.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Das Van-Leeuwenhoek-Mikroskop, welches zur Zeit seiner Erfindung revolutionäre Vergrößerungen ermöglichte, ist heute praktisch kaum nutzbar. Starke Abbildungsfehler, wie etwa Bildfeldwölbung, der sphärischen Linsen machen den Gebrauch, sowie die Aufnahme von brauchbaren Bildern für das Laborprotokoll, den mit (oft) gut funktionierten Gerätschaften verwöhnten Physikern schwer. Dennoch amüsiert das Renaissance - 3D-Druck - Crossover.

7.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

TODO

7.4 Dunkelfeldmikroskop

Die Dunkelfeldmikroskopie gestaltet sich äußerst schwierig, vor allem die Ausrichtung des Strahles, welche für die Abbildung äußerst entscheidend ist. Selbst nach mehrmaligen Aufbau und mehrmaliger sorgfältiger Einrichtung der Bauteile waren starke Lichthöfe im Bild vorhanden. Es gelang jedoch trotzdem zumindest eine Zahl und Teile eines Gittermusters abzubilden. Gründe neben dem extrem empfindlichen Strahlengang, für ein Scheitern eines besseren Abbilds, könnten unter anderem auch Verunreinigungen auf der Probe sein

(auch schon bei der Hellfeld-Transmissionsmikroskopie zu beobachten), welche das Licht zusätzlich ungünstig streuen.

8 Zusammenfassung

Das umfassende Labor diente zum sammeln praktischer Erfahrung im Bereich optischer Mikroskopie. Nach einer Einführung, in welcher die Brennweite einer Sammellinse bestimmt wurde, reisten die Experimentierenden in die spät-Renaissance und bildeten Fasern und Kugelschreiberspitzen mittels Van-Leeuwenhoek-Mikroskop ab. Den zweiten Große Teil bildete der Aufbau eines Hell- und eines Dunkelfeldmikroskops. Für ersteres wurden zusätzlich Parameter, wie etwa das Auflösungsvermögen für rotes und blaues Licht, als auch die optische Vergrößerung bestimmt.

Literaturverzeichnis

- [1] P. Banzer. Microscopy Advanced Lab v1.03. Website. 2022. URL: https://moodle.uni-graz.at/pluginfile.php/2043233/mod_resource/content/5/Microscopy_Advanced_Lab_v1k03.pdf.
- [2] E. O. Lebigot. Uncertainties: a Python package for calculations with uncertainties. Website. o. D. URL: <https://pythonhosted.org/uncertainties/>.
- [3] R. Dämon u. a. „Einführung in die physikalischen Messmethoden“. In: Bd. 7. 2021.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Strahlengang einer Sammellinse	4
2.2	Aufbau eines van Leeuwenhoek Mikroskops	5
2.3	Aufbau eines Hellfeld-Transmissionsmikroskops	7
2.4	Aufbau eines Dunkelfeldmikroskop	8
3.1	Aufbau Brennweite einer Sammellinse bestimmen	9
3.2	Aufbau eines Hellfeld-Transmissionsmikroskops	10
3.3	Aufbau eines Dunkelfeldmikroskops	11
5.1	Kugelschreiberspitze Van-Leeuwenhoek	14
5.2	Blatt Papier Van-Leeuwenhoek	14
5.3	Hellfeld Orientierung+sphärische Ab.	15
5.4	Hellfeld Orientierung+sphärische Ab. gedreht unscharf	16
5.5	Hellfeld Orientierung+sphärische Ab. gedreht scharf	16
5.6	Hellfeld Kohärenz	16
5.7	Hellfeld LED blau unscharf	17
5.8	Hellfeld LED blau scharf	17
5.9	Hellfeld LED rot unscharf	17
5.10	Hellfeld LED rot scharf	17
5.11	Hellfeld Gesamtvergrößerung Referenz	18
5.12	Hellfeld Gesamtvergrößerung vergrößert	18
5.13	Hellfeld Auflösungsvermögen	18
5.14	Dunkelfeld	19

Tabellenverzeichnis

4.1	Geräteliste	12
5.1	Messergebnisse Brennweite Abbildungsgleichung	13
5.2	Messergebnisse Brennweite Bessel	13
6.1	Auswertung Brennweite Abbildungsgleichung	20