

Institut für Experimentalphysik der Technischen Universität Graz

&

Institut für Physik der Universität Graz

## Fortgeschrittenenpraktikum ½

Übungsnummer: 4

Übungstitel: Advanced Microscopie Lab Einblicke in die optische Mikroskopie

Betreuer: Paltauf Günther

Gruppennummer: 17A

Name: Daniel Unterhuber

Name: Maximilian Pfandner

Mat. Nr.: 12007444

Mat. Nr.: 12003925

Datum der Übung: 21.11.2022

WS 2022

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Aufgabenstellung</b>	<b>3</b>
<b>2 Voraussetzungen und Grundlagen</b>	<b>3</b>
2.1 Abschätzung beziehungsweise Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse . . . . .	3
2.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop . . . . .	4
2.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	5
2.4 Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	5
<b>3 Beschreibung der Versuchsanordnung</b>	<b>6</b>
3.1 Aufbau zur Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse . . . . .	6
3.2 Zusammenbau eines Van-Leeuwenhoek-Mikroskop . . . . .	6
3.3 Aufbau des Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	7
3.4 Aufbau des Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	7
<b>4 Versuchsdurchführung und Messergebnisse</b>	<b>9</b>
4.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse . . . . .	9
4.2 Beobachtungen Van-Leeuwenhoek-Mikroskop . . . . .	11
4.3 Versuchsteil Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	11
4.4 Versuchsteil Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	15
<b>5 Auswertung</b>	<b>17</b>
5.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse . . . . .	17
5.2 Beobachtungen Van-Leeuwenhoek-Mikroskop . . . . .	17
5.3 Versuchsteil Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	18
5.4 Versuchsteil Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	18
<b>6 Diskussion</b>	<b>18</b>
6.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse . . . . .	18
6.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop . . . . .	19
6.3 Versuchsteil Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	19

6.4 Versuchsteil Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	19
--	----

# ADVANCED MICROSCOPY LAB EINBLICKE IN DIE OPTISCHE MIKROSKOPIE

---

## 1 Aufgabenstellung

1. Abschätzung und Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse mit drei unterschiedlichen Verfahren (Schätzung, via Linsengleichung und über das Besselverfahren)
2. Zusammenbauen eines einfachen van-Leeuwenhoek-Mikroskops. Anschließend qualitative Untersuchung des wahrgenommen Bildes, welches auf der Netzhaut entsteht und Ermittlung der Fokusslänge, sowie damit verbundene Vor- und Nachteile dieses Mikroskoptyps.
3. Aufbau eines Hellfeld-Transmissionsmikroskops und anschließende Untersuchung der Veränderungen des am Beobachtungsschirm erzeugten Bildes in Abhängigkeit der Objektivlinsenorientierung, der Kohärenz der Beleuchtung und Wellenlänge der Beleuchtung. Anschließend werden das Auflösungsvermögen und die Gesamtvergrößerung bestimmt.
4. Aufbau eines Dunkelfeld-Mikroskops und qualitativer Vergleich der Bilder am Beobachtungsschirm, sowie Überlegungen hinsichtlich eines Aufbaus für eine Dunkelfeld-Reflexions-Variante.[3]

## 2 Voraussetzungen und Grundlagen

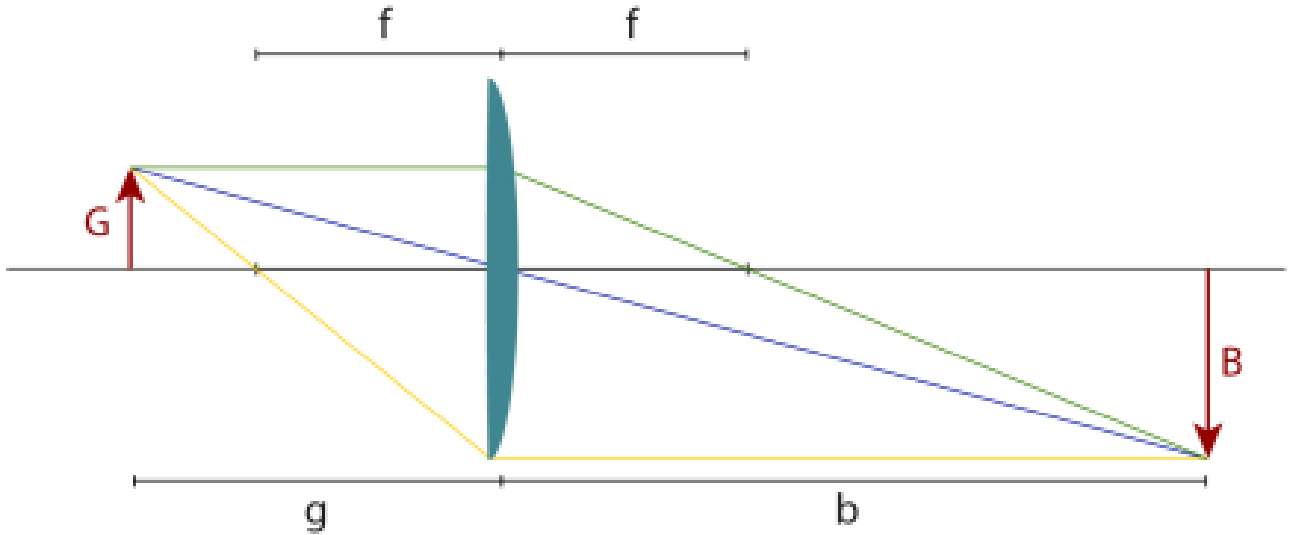
### 2.1 Abschätzung beziehungsweise Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse

Betrachtet man ein in der Brennebene der Linse lokalisiertes Objekt durch eine Sammellinse so entsteht gelangen in guter Näherung Parallele strahlen in das menschliche Auge, dessen optisch wirksame Komponenten ein scharfes Bild auf der Netzhaut erzeugen. Ist die Linse nun plankonvex und ist die planare Seite dem Objekt zugewandt, so kann in einem gewissen Abstand welcher der Brennweite entspricht ein scharfes Bild auf beispielsweise einem Schirm erkannt werden.

Zudem ergibt sich aufgrund der geometrischen Anordnung 1 die sogenannte Linsengleichung, welche die Brennweite  $f$ , die Gegenstandsweite  $g$  und der Bildweite  $b$  in Relation setzt (zur Bedeutung von  $f, b$  und  $g$  siehe 1):

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

weitere kann die Brennweite unter Verwendung des sogenannten Bessel-Verfahrens bestimmt werden. Hierzu ist die Länge  $l = b + g$  konstant. Hieraus ergeben sich je nach Wahl von  $b$  und  $g$



**Abbildung 1:** Zeigt die Strahlenverläufe durch eine Sammellinse; Brennstrahl (gelb), Mittelpunktstrahl (blau) und Parallelstrahl (grün); weiters ist die Gegenstandsweite (Abstand von G zur Linse (blau)) , die Bildweite (Abstand B zur Linse)) und die Brennweite  $f$  (jeweils vor und hinter der Linse) dargestellt[3]

unterschiedliche Möglichkeiten für ein scharfes Bild am Schirm. Werden zwei dieser möglichen Positionen bestimmt kann aus der Differenz der Linsenpositionen  $w$  die Brennweite mit Hilfe des folgenden Zusammenhangs ermittelt werden.

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

## 2.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Das van-Leeuwenhoek-Mikroskop stellt eine simple Ein-Linsen-Konstruktion dar. Als Linse werden hierfür Kugellinsen gewählt. Da bei dieser einfachen Mikroskopbauart kein Bild auf einem Beobachtungsschirm abgebildet wird, sondern die Vergrößerung auf das menschliche Auge bezogen wird lässt sich die sogenannte Lupenvergrößerung  $M$  aus folgendem Zusammenhang bestimmen:

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

Hierbei ist die effektive Fokusslänge  $f$  in Millimeter anzugeben.  $f$  bestimmt wiederum mithilfe des Kugellinsendurchmessers  $d$  und der Brechzahl  $n$  des Linsenmaterials über die nachfolgende Gleichung:

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

Anzumerken ist hier, dass bei diesem Mikroskoptyp aufgrund der Verwendung einer Kugellinsen respektive der damit assoziierten Linsengeometrie vor allem die Bildfeldwölbung als Abbildungsfehler auftritt.

## 2.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

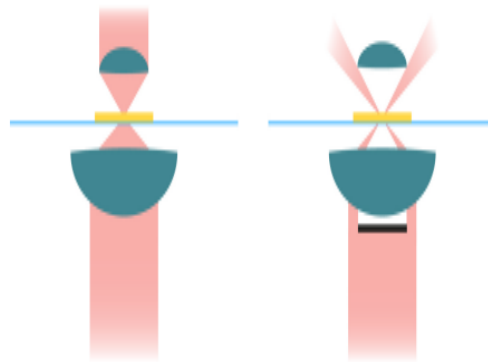
Im Allgemeinen besteht ein simples Transmissions Mikroskop immer aus mindestens zwei Linsen: Die dem Objekt am nächsten stehende wird als Objektiv bezeichnet und bildet das Objekt in die Brennebene der zweiten Linse ab. Diese, Okular genannt, erzeugt parallele Strahlen die im Auge oder mit Hilfe einer Kamera wieder zu einem scharfen, vergrößerten Bild fokussiert werden. Betrachtet man den Raum zwischen den Linsen so wird der Abstand der ersten Brennebene bis zur zweiten Brennebene als Tubus bezeichnet, hier können weitere Linsen beziehungsweise optisch wirksame Komponenten eingebracht werden. Wie der Begriff Transmission vermuten lässt kommt es hier zu einer mehr oder weniger stark vorhandenen Durchleuchtung der Probe. Bei der Hellfeld-Mikroskopie wird das Licht uneingeschränkt direkt auf die Probe fokussiert. (siehe 2 ) Sind hier Probenbestandteile absorbierend, streuend oder reflektierend, so fällt die transmittierte Lichtintensität am Ort der assoziierten Probenteile geringer aus. Das im weiteren von der Kamera beziehungsweise dem Auge erzeugte Bild weist an den korrespondierenden Stellen eine geringere Helligkeit auf, als es bei weniger stark reflektierenden, streuenden oder absorbierenden Stellen auf der Probe der Fall wäre. Ist die Probe nun von annähernd homogenen Absorptions-, Reflexions- und Streueigenschaften so zeichnet sich das in Form eines geringeren Kontrasts ab, als bei Proben mit stärkeren Inhomogenitäten.

Für die Bestimmung der Gesamtvergrößerung  $G$  wird folgender Zusammenhang aus der Pixelgröße  $P$  und der Pixelanzahl  $A$  entsprechend der Breite eines Balkenpaares (siehe Versuchsdurchführung und Auswertung), sowie des Auflösungsvermögens  $N$  verwendet. Der Zusammenhang ergibt sich aus logischen Überlegen hinsichtlich der geometrischen Anordnung.

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

## 2.4 Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop

Das Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop entscheidet sich zum Hellfeld-Transmissionsmikroskop vor allem in Puncto Beleuchtung: Bei der Dunkelfeldmikroskopie wird das Lichtbündel, welches zur Probenbeleuchtung dient wie in 1 mit einer Blende (schwarzer Balken) Begrenzt, sodass nur mehr der äußere Teil des Lichtbündels auf die Probe glangt. Durch diesen charakteristischen Aufbau gelangt Licht, welches nahezu uneingeschränkt transmittiert wird nicht in den Aufnahmebereich der Nachfolgenden Optik, die Stellen erscheinen am vergrößerten Bild dunkel. Hingegen werden stark streuende Probenbereiche hell abgebildet, da das von ihnen gestreute Licht im Aufnahmebereich der folgenden optischen Bestandteile liegt. Somit kann bei Proben mit sich stark unterscheidenden Streueigenschaften ein besserer Kontrast als bei der Hellfeldmikroskopie erreicht werden. Bereiche mit hohen Absorptionseigenschaften erscheinen weiterhin dunkel. [3][1]



**Abbildung 2:** die linke Bildhälfte zeigt den schematischen Hellfeldaufbau, die rechte Hälfte den Dunkelfeldaufbau[3]

### 3 Beschreibung der Versuchsanordnung

#### 3.1 Aufbau zur Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse

Für die Bestimmung der Brennweite der Sammellinse wird zunächst eine Halogen-Lampe und ein nachfolgender Infrarot-Filter, gefolgt von einem Diffusor auf einer Aluminiumschiene befestigt (sämtliche Bestandteile sind höhenverstellbar auf Reiterbauteile montiert, die auf der erwähnten Metallschiene gleiten und je nach Bedarf fixiert werden können). Darauf folgt die Probe, wobei hierfür dasselbe Target der Firma THORLABS wie im Versuchsteil Hell- respektive Dunkelfeld-Transmissionsmikroskopie verwendet wird, fixiert. Eine mechanische Übersetzung ermöglicht ein genaues Höhen- und Seitenverstellen der Probe. Weiters ist eine plankonvexe Linse in den späteren Lichtweg einzubringen. Hierbei zeigt die planare Seite der Linse in Richtung Objekt. Zur Abschätzung der Brennweite der Linse wird ein Blatt unbedrucktes Papier neben den Aufbau bereitgelegt.

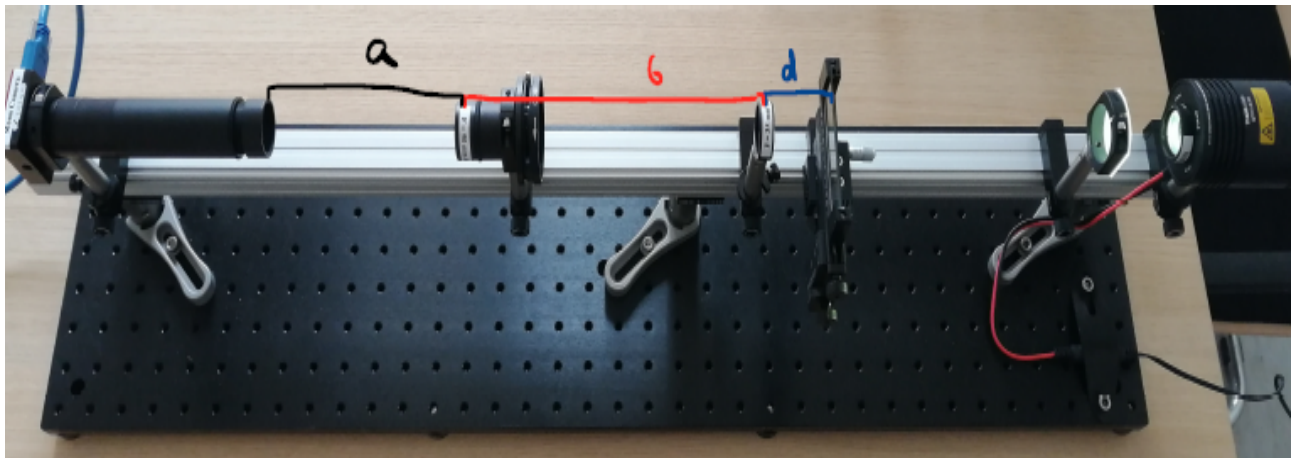
Nachdem Abschätzen der Brennweite mittels der Linsengleichung ist nun ein Beobachtungsschirm auf der Metallschiene zu fixieren, wobei der zugehörige Reiter weiterhin ein Bewegen entlang der Aluminiumschiene ermöglichen soll. Die übrigen Bauteile sind jedoch fest fixiert. Um ein Vorgehen nach dem Besselverfahren zu ermöglichen, ist im weiteren nun der Schirm fixiert, der Reiter der Linse jedoch beweglich montiert.

#### 3.2 Zusammenbau eines Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Hierfür wird zunächst der bewegliche Arm, in welchen die Kugellinsen eingelassen sind, mit einer Schraube und einer Mutter an dem größeren kreditkartenförmigen Stück befestigt. Hierbei ist darauf zu achten, dass diese "Linsenhalterung" angebracht wird, dass das Fach in welches die LED und die Knopf-Batterie gesteckt wird auf der gegenüberliegenden Seite zu finden ist. In besagter Halterung wird die LED mit einer zwischen Batterie und kreditkartenförmigem Plastikstück und einer frei über der Batterie befindlichen Kontaktstelle und der Batterie selbst eingebracht.

### 3.3 Aufbau des Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Nun wird, verglichen zu dem Versuchsaufbau von 2.1, die plankonvexe Linse mit unbekannter Brennweite, durch eine mit  $f = 35$  mm als Objektiv in einem Abstand von  $d = (40 \pm 2)$  mm ersetzt. weiters wird anschließend eine Linse mit  $f = 50$  mm als Okular in den Lichtweg eingebracht, dessen dem Objekt abgewandtes Ende sich im Abstand  $b = (380 \pm 2)$  mm von der Mittelebene des Objektivs entfernt befindet. Es folgt das Ersetzen des Beobachtungsschirms durch eine Kamera dessen Linse  $f = 150$  mm die von Okular ausgehenden parallelen Strahlen auf den Sensor der Kamera fokussiert (der Abstand von der dem Objekt abgewandten Okularseite zur Linse der Kamera beträgt  $a = (105 \pm 2)$  mm). Sowohl die Probe, der Diffusor und die Halogenlampe, als auch der montierte Infrarotfilter bleiben unverändert auf der Schiene befestigt. Aufbau mit den Längen  $a, b$  und  $d$  in Abbildung 3 zu erkennen.



**Abbildung 3:** Zeigt den Aufbau des Hellfeld-Transmissionsmikroskops und die im Text beschriebenen Abstände  $a, b$  und  $d$  [3]

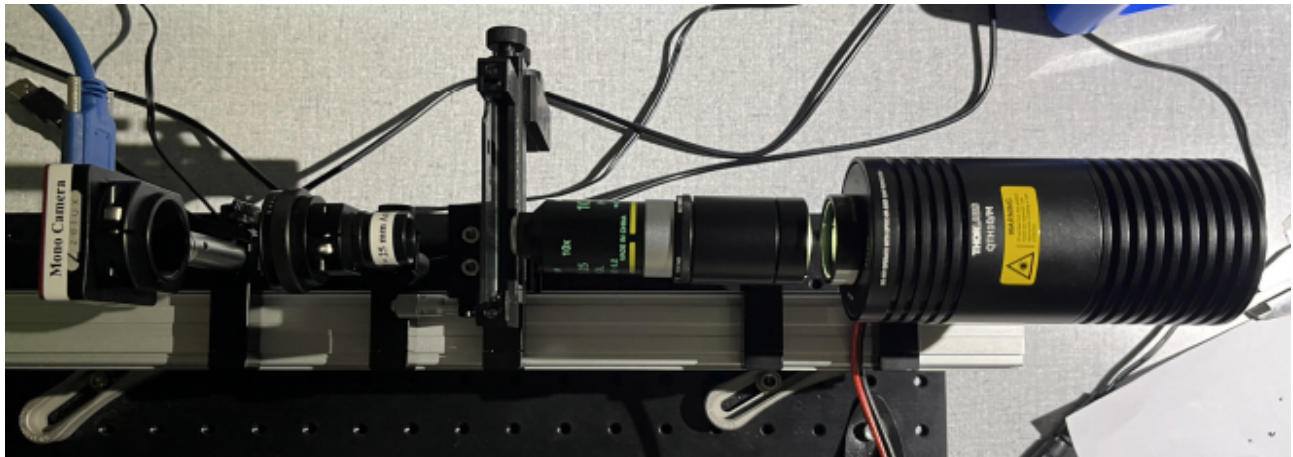
### 3.4 Aufbau des Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop

Für den Aufbau zur Dunkelfeldmikroskopie wird nun der Diffusor entfernt. An die Stelle des Diffusors tritt nun ein Mikroskop Objektiv, welches bereits eine Dunkelfeldblende integriert hat, welches mit so eingebaut wird, dass der Objektiveingang zur Probe zeigt. Die Probe bleibt unverändert montiert. Nun folgt eine achromatische Linse mit einer Brennweite von  $f = 25$  mm, welche eine verstellbare Blende zur späteren Justierung besitzt. Auf die Linse folgt die schon zuvor verwendete Kamera, jedoch mit entfernter Linse. Der genaue Aufbau ist hierzu in Abbildung 4 dargestellt.



**Tabelle 1:** Auflistung der verwendeten Materialien und Gerätschaften

Gerätschaft/Material	Gerätenummer	Spezifikation	Unsicherheit
Halogen Lampe THORLABS QTH10/M		Integrierte Kühlrippen	
Infrarot Filter	FGB37	Lässt nur für den Menschen sichtbares Licht in die Optik einfallen	
Zwei THORLABS LEDs		Rotes und blaues Licht	
Probenhalter THORLABS XYF1		Mit inkludierter Höhen- und Seitenverstellung im Micrometerbereich	0,01 mm
Resolution Target THORLABS R113S11P		Auflösungsbestimmung von (4,5 bis 558) Balkenpaare/mm [3] (Näheres siehe 5.4)	
Diffusor			
Plankonvexe Linse		Sammellinse, Brennweite unbekannt	
Schirm		Kunststoff, in weiß	
Reiter		Verfügung über das Negativ zur Führung auf der Metallschiene; Besitzt Schraube zur Fixierung	
Aluminium Schiene		Besitzt eingearbeitete Führung für Reiter	
3D - Gedruckte Bestandteile des van Leeuwenhoek Mikroskops		Grün-blaues; spröder Kunststoff	
Schraube und Mutter		Dient zur Fixierung des Linsenträgers beim van Leeuwenhoek Mikroskops	
Knopfbatterie		Spannung: 1,5 V	
LED		Bauteil des van Leeuwenhoek Mikroskops	
Kamera	CS165MU/M	Chipgröße: 6,2 mm (Diagonale), 4,968 mm x 3,726 mm; Auflösung: 1440 x 1080 Pixel (1,6 MP) Sensor; Pixel : 3,45 $\mu\text{m}$ Pixelgröße[3] quadratisch	
ThorCam <sup>TM</sup> Software		Ermöglicht weitere Kameraeinstellungen	
Objektiv 1		Brennweite: 35 mm	



**Abbildung 4:** Zeigt den Aufbau des Dunkel-Transmissionsmikroskops von links nach rechts: Kamera, Okular mit regelbarer Blende, Probe, samt Probenhalter, Okular und Halogenlampe[3]

**Tabelle 2:** Auflistung der verwendeten Materialien und Gerätschaften

Gerätschaft/Material	Gerätenummer	Spezifikation	Unsicherheit
Okular 1		Brennweite: 50 mm	
Kamera Optik		Brennweite: 150 mm	
Mikroskopobjektiv		Vergrößerung: 10-fach; intergierte fixierte Dunkelfeldblende	
Achromatische Linse als Okular		Brennweite: 25 mm; mit verstellbarer Dunkelfeldblende	
Maßband		Messbereich: (0...300) cm	2 mm

## 4 Versuchsdurchführung und Messergebnisse

An dieser Stelle gilt es darauf hinzuweisen, dass sämtliche Brennweiten, sowie technische Daten des Herstellers mit impliziten Unsicherheiten betrachtet werden. Alle Positionen beziehen sich auf scharf gestellte Abbildungen am Schirm.

### 4.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse

Zunächst beginnt man das Blatt Papier (fungiert gewissermaßen als Schirm) vom für die Abschätzung unbestückten Schienenteil langsam in Richtung Linse zu nähern. Das Bild welches auf das Blatt geworfen wird ist zunächst unscharf wird mit sich verringerndem Abstand zur Linse jedoch schärfer bis zu einem gewissen Punkt, danach wird das Bild wieder unschärfer. Dieser Punkt respektive dieser Abstand von der Linse zum Schirm beträgt  $f_{\text{Schätzung}} = (33 \pm 2) \text{ mm}$  und stellt einen Schätzwert für den Brennpunkt da. Hierbei wird mit einem Maßband gemessen.

Im nächsten Schritt misst man für eine bestimmte Gegenstandsweite  $g$  die Bildweite  $b$  um mit Hilfe der Linsengeleichung die Brennweite bestimmen zu können. Hierfür werden die beiden Abstände solange verändert bis ein scharfes Bild am Schirm entsteht. Hierbei wird mit dem Maßband von

dem ungefähren Linsenmittelpunkt bis zur Proben - beziehungsweise Schirmoberfläche gemessen Tabelle 3.

Um die Messdaten für das Besselverfahren zu erhalten wird nun eine festgelegt Gesamtlänge  $l = b + g$  eingestellt und die Linsenposition und somit auch die Bildweite  $b$  und die Gegenstandsweite  $g$  variiert, bis ein scharfes Bild am Schirm zu erkennen ist. Dies ist bei fixierter Gesamtlänge für die zwei Parameter  $b$  und  $g$  an zwei ausgezeichneten Punkten der Fall. Die zugehörigen Abstände  $s$  bezogen auf das Target, werden mit dem Maßband gemessen und notiert Tabelle 3.

**Tabelle 3:** Auflistung aller Relevanten Messwerte zur Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse (5.1); Unsicherheit für alle Messwerte der Tabelle  $\Delta_x = 0,2 \text{ cm}$ 

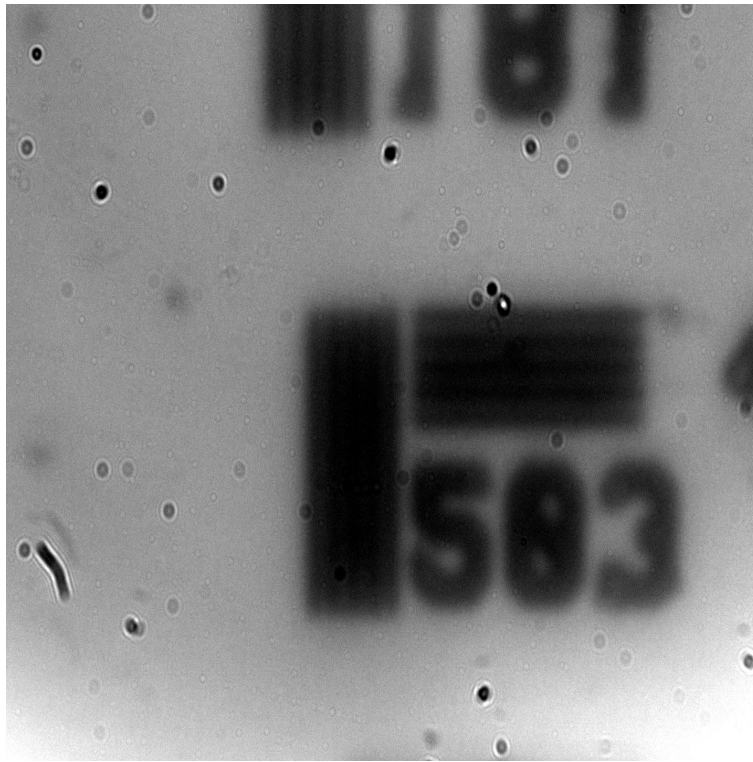
Größe	Abkürzung	Messwert / cm
Gegenstandsweite Linsengleichung 1	$g_1$	6,0
Gegenstandsweite Linsegleichung 2	$g_2$	6,2
Bildweite Linsengleichung 1	$b_1$	4,0
Bildweite Linsengleichung 2	$b_2$	3,5
Gesamtlänge Bessel	$l$	11,2
Linsenposition 1	$s_1$	4,8
Linsenposition 2	$s_2$	8,1

## 4.2 Beobachtungen Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

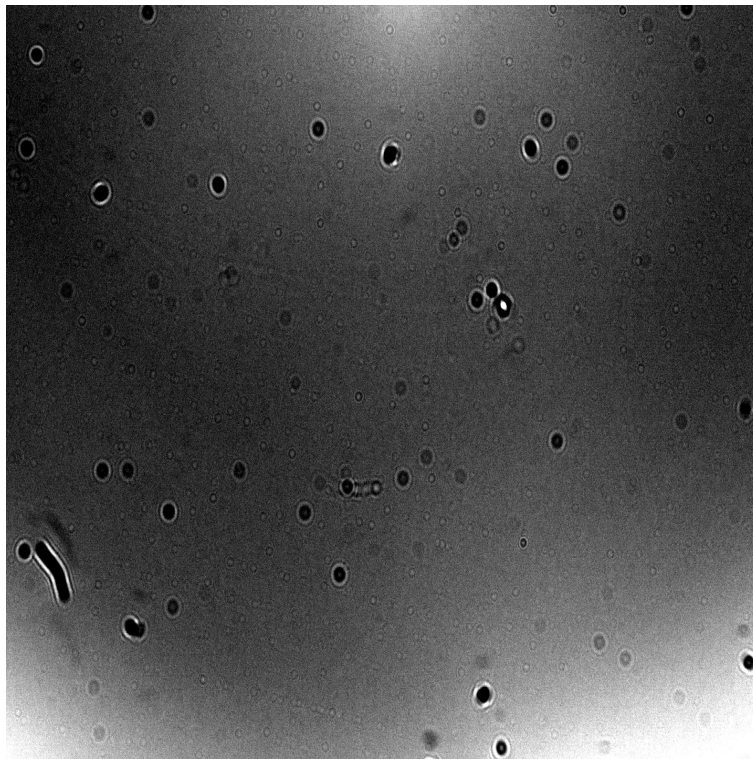
Betrachtet einigermaßen transparente Gegenstände wie beispielsweise ein Stück Filterpapier so kann man bei der Kugellinse mit dem größeren Durchmesser eine stärkere Vergrößerung als bei der mit kleineren Durchmesser erkennen. Weiteres fällt auf, dass beide Kugellinsen zu einer starken Bildfeldwölbung neigen.

## 4.3 Versuchsteil Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Nachdem der Ort der Entstehung eines reellen Zwischenbilds für die Brennebene des Objektivs lokalisiert wird, kann die Kamera Software ThorCam dazu genutzt werden um das durch das Mikroskop vergrößerte Bild am Computerbildschirm betrachten zu können. Ein eventuelles Scharfstellen des Bildes erfolgt mittels der in der Probenhalterung inkludierten Mikrometerschraube in Richtung der Schien, um die Auswirkungen der Objektivreintierung beobachten zu können wird dieses um  $180^\circ$  gedreht (Abbildungen 5 und 6) . Sowohl vor als auch nach der Drehung werden die mittels der Software erhaltene Bilder abgespeichert.

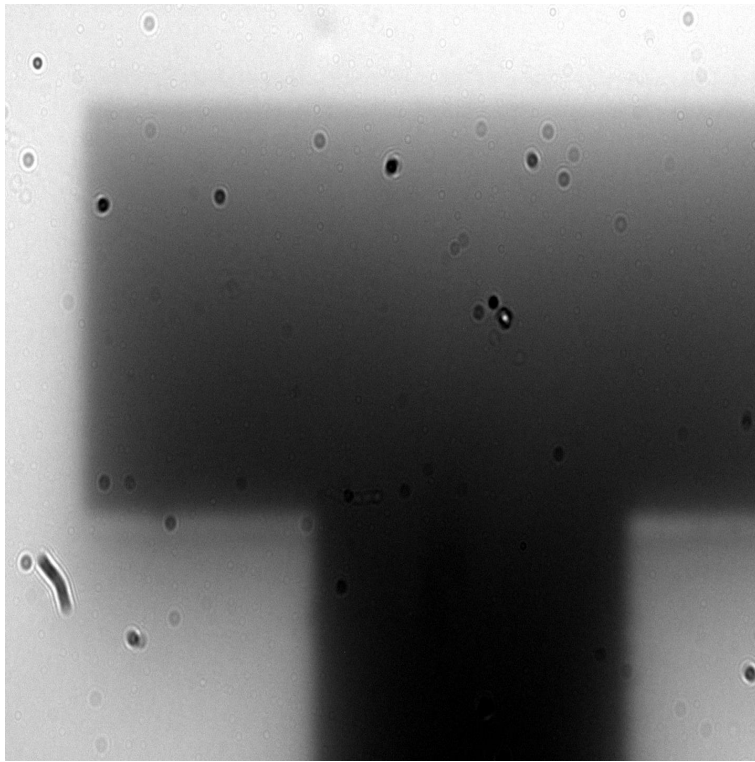


**Abbildung 5:** Zeigt das Abbild eines Balkenpaars mit Konvexer Seite in Richtung Okular

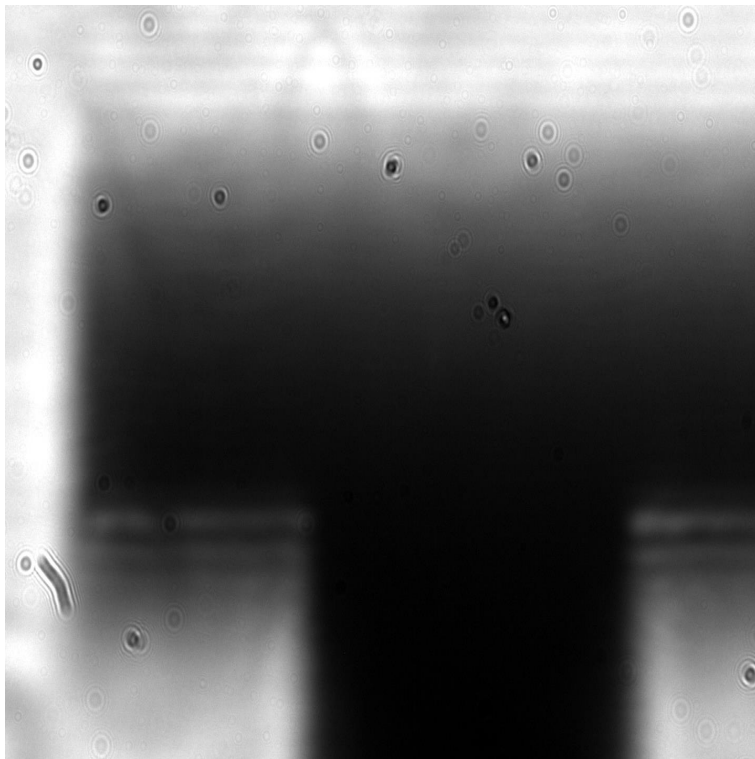


**Abbildung 6:** Zeigt das Abbild eines Balkenpaars mit Konvexer Seite in Richtung Probe

Als nächstes wird nun bei der ursprünglichen Linsenorientierung ein Bild mit und ein Bild ohne Diffusor im Lichtweg aufgenommen und abgespeichert (Abbildungen 7 und 8). Um die Wellenlängenabhängigkeit und die chromatische Aberration zu überprüfen wird die Halogen durch



**Abbildung 7:** Zeigt das Abbild eines Buchstabens mit Diffusor



**Abbildung 8:** Zeigt das Abbild eines Buchstabens ohne Diffusor

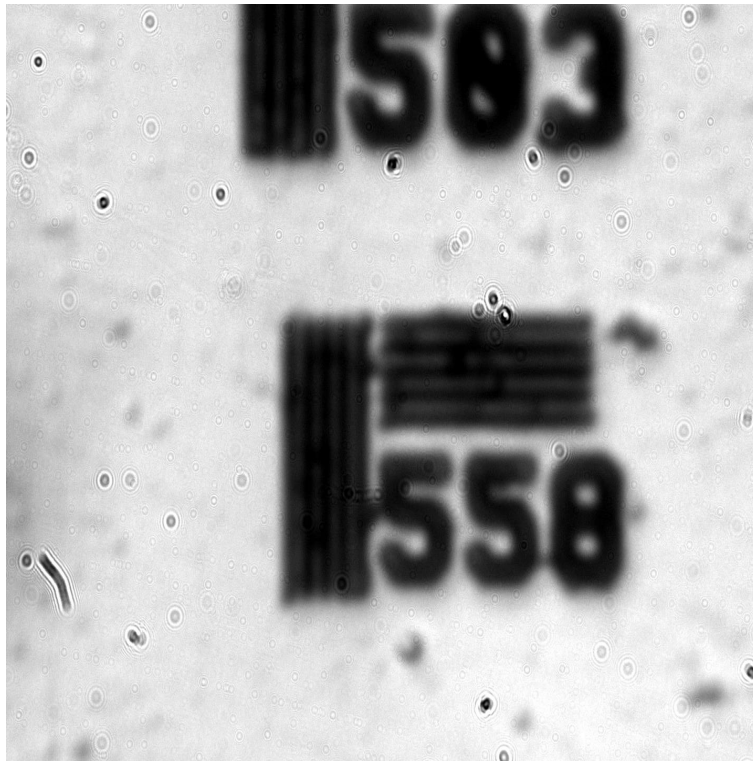
eine rote beziehungsweise blaue LED ersetzt. Nachdem Ersetzten muss das Bild wieder scharf gestellt werden. Dies erfolgt mit der Mikrometerschraube des Proben. Sowohl die Bilder, als auch die Stellungen der Schraube werden notiert (Tabelle 3). Für die rote LED ergibt sich eine Schrau-

benmarkierung von  $m_{rot} = (4,57 \pm 0,01)$  mm, für die blaue LED ergibt sich  $m_{blau} = (5,71 \pm 0,01)$  mm[3][2]. Anzumerken ist hier, dass bei einer Beleuchtung mit der roten LED nur Balkenpaare mit 181 Balkenpaaren/ mm noch korrekt aufgelöst werden können, wohingegen die blaue LED bis auf 558 Balkenpaare/ mm auflöst (Abbildungen 9 und 10).

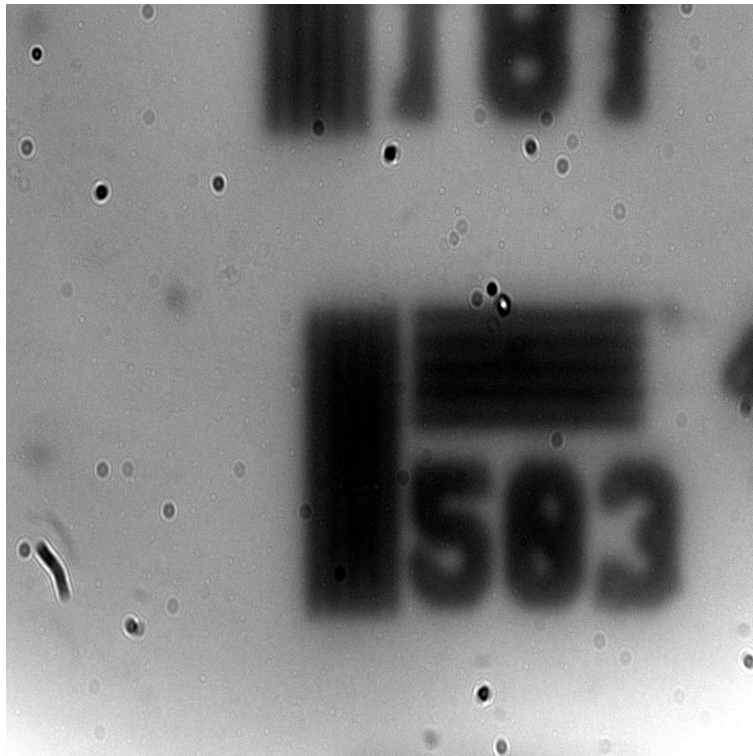


**Abbildung 9:** Zeigt das noch gut auflösbare Balkenpaare bei Beleuchtung mit einer roten LED

Zur Bestimmung des Auflösungsvermögens werden der linke Teil des Targets verwendet, welcher eine Reihe von jeweils horizontalen und vertikalen Balkenpaaren übereinander enthält (hierbei stellt ein Balkenpaar einen schwarzen Strich und einen transparenten Strich dar). Neben diesen Ansammlungen von Balkenpaaren unterschiedlicher Größen steht eine Zahl, die die Nummer an Balkenpaaren pro Millimeter angibt). Um das geeignete gerade noch gut auflösbare (die Balkenpaare lassen sich noch getrennt voneinander wahrnehmen) Paar zu finden bedient man sich der Verstellmöglichkeiten des Probenhalters normal zum Lichtweg. Ist das erforderliche Balkenpaar identifiziert, wo wird ein Bild aufgenommen. Dieses dient gemeinsam mit der zur Balkenpaaransammlung gehörigen Nummer gleichzeitig zur Bestimmung der Gesamtvergrößerung des Mikroskops. Für die besagte Nummer wird  $N = 558$  festgehalten[2][3][3].



**Abbildung 10:** Zeigt das noch gut auflösbare Balkenpaare bei Beleuchtung mit einer blauen LED



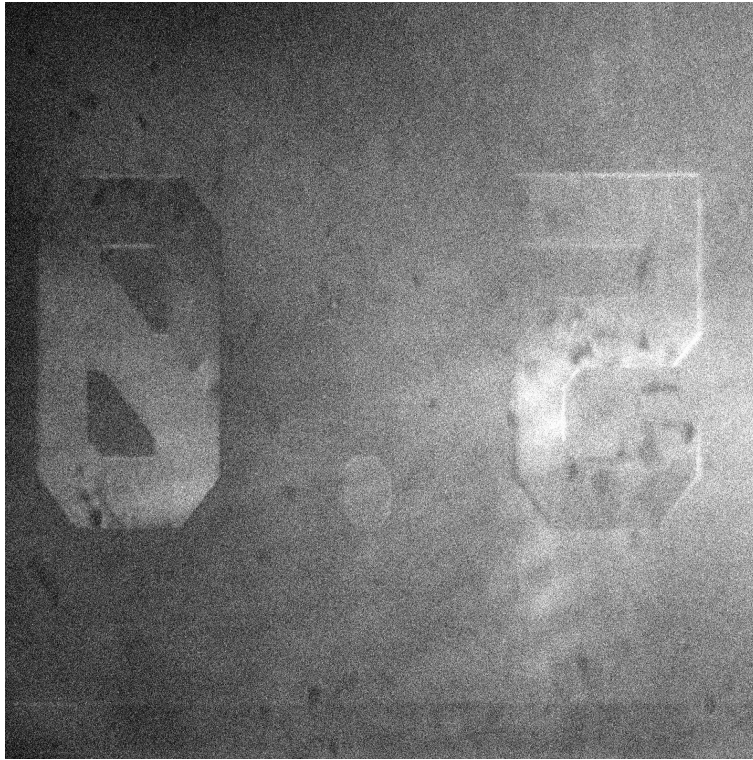
**Abbildung 11:** Zeigt die für die Bestimmung der Auflösung und der Gesamtvergrößerung benötigten Balkenpaare

#### 4.4 Versuchsteil Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop

Bei dem Dunkelfeldaufbau muss das Bild zunächst wiederum mittels des Probenhalters scharf gestellt werden. Danach kann die Blende des Okular langsam geschlossen werden bis der bis dato zu



sehende Lichtring (vom Objektiv mit integrierter Dunkelfeldblende stammend) gerade verschwindet. Nun gelangt nur durch Streuung abgelenktes Licht in das Okular und von dort aus zum Kamera Sensor. Auffallend ist hier das kleine Verunreinigungen und die Ränder von geometrischen Mustern auf der Probe als besonders hell erscheinen (siehe hierzu Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Zeigt eine Aufnahme des Bildes, welches mit der Dunkelfeldmethode aufgenommen wurde

## 5 Auswertung

Hier gilt anzumerken, dass für alle Brennweiten sowie Firmenangaben und Angaben zur Beschaffenheit der Kugellinsen als Implizit angenommen werden. Alle Berechnungen der Unsicherheiten erfolgen über die Größtunsicherheitsmethode.

### 5.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse

Als Schätzwert für die Brennweite ergibt sich der bereits in der Versuchsdurchführung angegeben Wert (siehe auch Tabelle 3). Mit Hilfe der Linsengleichung (1) und dem Besselverfahren (2) erhält man wiederum Ergebnisse für die Brennweite die ebenso mit passender Indexierung für die Methode in Tabelle (4).

**Tabelle 4:** Ergebnisse für die Bestimmung der Linsenbrennweite einer Sammellinse und der Fokusslänge, sowie der Lupenvergrößerung der Kugellinsen des Leeuwenhoek Mikroskops samt zugehörige Unsicherheiten

Größe	Abkürzung	Ergebnis	Unsicherheit
Brennweite mit Schätzung	$f_{\text{Schätzung}}$	3,3 cm	0,2 cm
Brennweite mit Linsengleichung 1	$f_{\text{Linsengleichung1}}$	2,4 cm	0,10 cm
Brennweite mit Linsengleichung 2	$f_{\text{Linsengleichung2}}$	2,23 cm	0,11 cm
Brennweite mit Besselverfahren	$f_{\text{Besselverfahren}}$	2,55 cm	0,10 cm
Effektive Fokusslänge der großen Kugellinse	$f_{\text{eff1}}$	4,652 mm	0,002 mm
Effektive Fokusslänge der kleinen Kugellinse	$f_{\text{eff2}}$	1,8716 mm	0,002 mm
Lupenvergrößerung der großen Kugellinse	$M_1$	53,74	0,02
Lupenvergrößerung der kleinen Kugellinse	$M_2$	133,58	0,13

### 5.2 Beobachtungen Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Mittels der großen Kugellinse könne feine Fasern des Filterpapiers unterschieden werden. Auffallend ist hier das Auftreten einer starken Bildfeldwölbung. Für die effektive Fokusslänge und die Lupenvergrößerung ergeben sich bei einem Kugeldurchmesser der großen Kugel von  $d_1 = 6,35$  mm und der kleinen Kugel von  $d_2 = 2,50$  mm, sowie einer Brechzahl von  $n = 1,518$  oben ersichtliche Werte nach den Gleichungen (3) und (4) die in Tabelle (4),

### 5.3 Versuchsteil Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Die Auswirkungen der Drehung der Sammellinse um  $180^\circ$  schlagen sich in der Entstehung eines Bildes wieder, da die Sammellinse (hier das Objektiv), sollte die konvexe Seite in Richtung Probe zeigen, das reelle Zwischenbild nun nicht mehr im Okular fokussiert sondern die Lichtbündel parallel aus der Objektivlinse laufen. Bei einem Weglassen des Diffusors zeigen sich hingegen Beugungseffekte am Rand von geometrischen Figuren am Target (Abbildung 8) da das Licht nun nicht mehr ausreichend gestreut wird und eine gewisse Räumliche Kohärenz besitzt. Gut zu erkennen ist auch die achromatische Aberration bei blauem und roten Licht. So erreicht man mit blauem Licht eine Auflösung von  $N_b = 558$  Balkenpaaren/mm, während es bei der Roten LED lediglich  $N_r = 181$  Balkenpaare/mm sind. Dies lässt sich mit der wellenlängenabhängigen Beugung von Licht erklären (hierzu wird auf das Thema Abbe-Theorie in [1] verwiesen; hier ist entscheidend: je kleiner desto Wellenlänge desto geringere Beugungseinflüsse). Zudem werden die Lichtstrahlen des blauen Lichts deutlich besser fokussiert, als die des roten Lichts. Dies ist durch die achromatische Aberration bedingt. Hierbei wird ist die Fokusebene nach der Scharfstellung bei der roten LED im Verhältnis zur blauen um  $L = (1,14 \pm 0,01)$  mm verschoben. Dieser Effekt ist letztlich auf die wellenlängenabhängige Brechung von Licht zurückzuführen. [1]

Für das Auflösungsvermögen ergeben sich  $N = (558 \pm 0,5)$  Balkenpaare/mm. Aus dem für das Auflösungsvermögen bestimmten Bild kann aus dem Wert für  $A = (32,5 \pm 1)$  Pixel der der Pixelanzahl, welche einer Balkenpaarbreite entspricht und der Pixelgröße von  $P = 3,45 \mu\text{m}$  gemeinsam mit dem Auflösungsvermögen die Gesamtvergrößerung  $G$  nach Zusammenhang 5 bestimmt werden. Dies ergibt sich nach Gleichung (5) zu einer Vergrößerung des Bildes am Kamerasensor von  $G = (62,6 \pm 0,2)$ . Zur Abmessung Balkenbreite in Pixel wurde die Software imageJ verwendet.

### 5.4 Versuchsteil Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop

Die auffallend gute Darstellung von Rändern von geometrischen Figuren und Verneigungen ist wohl auf die verglichen zu den Innenflächen der geometrischen Figuren gut ausgeprägte Streufähigkeit der Partikel beziehungsweise der Randstellen zurückzuführen. Das Figurenninnere ist eher durch starke Absorptions- beziehungsweise Reflexionsfähigkeiten geprägt.

## 6 Diskussion

### 6.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse

Die mit der Besselmethode und der Linsengleichung bestimmten Ergebnisse für die Brennweite weichen nicht signifikant voneinander ab. Die Abweichung der Berechneten Werte zum Schätzwert ist jedoch sehr wohl als Signifikant einzustufen (mehr als die dreifache Unsicherheit der jeweiligen berechneten Werte. Hier darf jedoch nicht auf die Bedeutung der Schätzung vergessen werden, da diese nur als grobe Näherung dient. (Ergebnisse in Tabelle 4)

## 6.2 Van-Leeuwenhoek-Mikroskop

Die simple und kostengünstige Bauart weist eine verhältnismäßig gute Lupenvergrößerung auf (siehe Auswertung) auf. Aufgrund der Verwendung von Kugellinsen kommt es zu Bildfeldwölbung.

## 6.3 Versuchsteil Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Hierbei wurden der Einfluss von Veränderungen im Mikroskopaufbau untersucht, welche die Linse-orientierung des Okulars, die Art der Lichtquelle (mit und ohne Diffusor, rotes und blaues Licht) und dessen Auswirkung auf das entstandene Bild im Vergleich zum konventionellen Aufbau, der zur Bestimmung des Auflösungsvermögens und der Gesamtvergrößerung verwendet wurde, betrachtet. Für die Auflösung wurden  $N = 558$  Baleknpaare/mm ermittelt während die Gesamtvergrößerung, des Bildes welches am Kamerasensor auftritt,  $G = (62,6 \pm 0,2)$  beträgt.

## 6.4 Versuchsteil Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop

Beim Dunkelfeldaufbau kann festgehalten werden, dass Ränder und Verunreinigungen im Vergleich zur Hellfeld-Methode deutlich besser zu erkennen waren, schlecht reflektierende Probenbestandteile jedoch nicht, was der theoretischen Methode des Dunkelfeldaufbaus entspricht.

## Literatur

- [1] Wolfgang Demtröder. *Experimentalphysik 2: Elektrizität und Optik*. 7. Aufl. 2017. Springer-Lehrbuch. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017. ISBN: 9783662557907. URL: <http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bsz:31-epflucht-1562960>.
- [2] Image Engineering GmbH & Co. KG. *Resolution measurement and its units*. 2011. URL: <https://www.image-engineering.de/library/technotes/761-resolution-measurement-and-its-units>.
- [3] Peter Banzer. *ADVANCED MICROSCOPY LAB: EINBLICKE IN DIE OPTISCHE MIKROSKOPIE*. Graz, 2022. URL: [https://moodle.uni-graz.at/pluginfile.php/1918211/mod\\_resource/content/5/Microscopy\\_Advanced\\_Lab\\_v1k03.pdf](https://moodle.uni-graz.at/pluginfile.php/1918211/mod_resource/content/5/Microscopy_Advanced_Lab_v1k03.pdf).