



Institut für Experimentalphysik der Technischen Universität  
Graz

&

Institut für Physik der Universität Graz

## FORTGESCHRITTENPRAKTIKUM 2

Übungstitel: Advanced Microscopy Lab

Betreuer: Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Joachim Krenn

Gruppennummer: 4

Name: Martin Klotz, Philipp Werhounig

Kennzahl: 678

Matrikelnummer: 11909170, 11842163

Datum: 16.03.2022

SS 2022

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Aufgabenstellung</b>	<b>1</b>
1.1 Abbildung durch eine Sammellinse [1] . . . . .	1
1.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek [1] . . . . .	1
1.3 Aufbau eines Hellfeld-Transmissionsmikroskops [1] . . . . .	1
1.4 Aufbau eines einfachen Dunkelfeld-Mikroskops [1] . . . . .	2
<b>2 Voraussetzungen und Grundlagen</b>	<b>3</b>
2.1 Brennweite einer Sammellinse [1] . . . . .	3
2.1.1 Lupeneffekt . . . . .	3
2.1.2 Bessel-Verfahren . . . . .	3
2.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek [1], [2] . . . . .	4
2.3 Das Hellfeld-Transmissionsmikroskop [1] . . . . .	5
2.3.1 Abbe'sche Abbildungstheorie [4] . . . . .	5
2.4 Dunkelfeldmikroskop [1] . . . . .	6
<b>3 Beschreibung der Versuchsanordnung</b>	<b>7</b>
3.1 Abbildung durch eine Sammellinse . . . . .	7
3.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek . . . . .	7
3.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	8
3.4 Dunkelfeld-Mikroskop . . . . .	8
3.4.1 Vorschlag für Dunkelfeld-Aufbau in Auflicht-Variante . . . . .	9
<b>4 Geräteliste</b>	<b>10</b>
<b>5 Versuchsdurchführung und Messergebnisse</b>	<b>11</b>
5.1 Brennweite einer Sammellinse . . . . .	11
5.1.1 Bestimmung mittels Lupeneffekt . . . . .	11
5.1.2 Bestimmung mittels Linsengleichung . . . . .	12
5.1.3 Bestimmung mittels Bessel-Verfahren . . . . .	13
5.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek . . . . .	14
5.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	15
5.4 Aufbau eines einfachen Dunkelfeld-Mikroskops . . . . .	17
<b>6 Auswertung</b>	<b>18</b>
6.1 Brennweite einer Sammellinse . . . . .	18
6.1.1 Bestimmung mittels Linsengleichung . . . . .	18
6.1.2 Bestimmung der Brennweite mittels Bessel-Verfahren . . . . .	18
6.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek . . . . .	19
6.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	19
6.4 Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop . . . . .	21
<b>7 Diskussion</b>	<b>22</b>
7.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse . . . . .	22
7.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek . . . . .	22
7.3 Hellfeld-Mikroskop . . . . .	23
7.4 Dunkelfeld-Mikroskop . . . . .	23
<b>8 Zusammenfassung</b>	<b>24</b>

# 1 Aufgabenstellung

## 1.1 Abbildung durch eine Sammellinse [1]

1. Mittels Lupeneffekt: Schätzen Sie die Brennweite durch den 'Lupeneffekt' ab
2. Mit Hilfe der Abbildungsgleichung: Bestimmen Sie die Brennweite der Linse in einem dafür aufzubauenden Strahlengang mit Hilfe der Abbildungsgleichung. Führen Sie die Messungen bitte für zwei verschiedene Gegenstandsweiten durch.
3. Mit dem Bessel-Verfahren: Bestimmung der Brennweite der Linse nach dem Bessel-Verfahren.
4. Einstellung des Abbildungsmaßstabes auf  $A = 1$  und Bestimmung der Gegenstandsgröße
5. Diskutieren Sie die Ergebnisse für die Brennweite gemessen nach den verschiedenen Verfahren.

## 1.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek [1]

1. Bauen Sie ein 1-Linsen-Mikroskop auf.
2. Betrachten Sie ein geeignetes Objekt Ihrer Wahl nacheinander mit beiden Linsen. Beschreiben Sie Ihre Beobachtungen (inkl. vermeintlicher Linsenfehler etc.).
3. Bestimmen Sie die Fokuslängen und Vergrößerungen im genutzten System.

## 1.3 Aufbau eines Hellfeld-Transmissionsmikroskops [1]

1. Überlegung der relativen Positionen der Elemente mit angegebenen Brennweiten in einem Hellfeld-Mikroskop.
2. Aufbau eines Hellfeld-Mikroskops
3. Linsenorientierung (Objektiv) und sphärische Aberration: Drehen Sie die Objektiv-Linse (mitsamt Halterung) um  $180^\circ$  und bauen diese wieder ein.
4. Kohärenz der Beleuchtung: Entfernen Sie den Diffusor. Stellen Sie das Bild wieder scharf, falls nötig. Nehmen Sie wieder ein Bild mit der Kamera-Software auf. Beschreiben und erklären Sie die Beobachtung.
5. Wellenlängenabhängigkeit und chromatische Aberration: Stecken Sie die Halogen-Lampe aus, fahren Sie diese vorsichtig (heiß!!!) mit dem Reiter ans rechte Ende der Schiene. Sie wird im Moment nicht benötigt. Bauen Sie den Diffusor wieder ein. Setzen Sie nun die blaue LED an die ursprüngliche Position der Halogen-Lampe. Verbinden Sie die LED mit einem freien USB-Anschluss des Computers um sie einzuschalten. Versuchen Sie das Bild auf der Kamera mittels Proben-Position wieder scharf zu stellen und notieren Sie die auf der Verstellschraube angezeigte Position (Verstellung parallel zur Schiene). Wiederholen Sie diese Schritte mit der roten LED. Schildern Sie Ihre Beobachtungen.
6. Gesamtvergrößerung: Messen Sie experimentell (mit Halogen-Lampe) und bestimmen Sie theoretisch die Gesamtvergrößerung für Ihren Aufbau.
7. Auflösungsvermögen: 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.
8. Suchen Sie die Gruppe und daraus das Element, das Sie gerade noch abbilden können (die Balken lassen sich gerade noch trennen). Notieren Sie sich die entsprechenden Nummerierungen und berechnen Sie das Auflösungsvermögen Ihres Mikroskop-Aufbaus in Mikrometer.

#### 1.4 Aufbau eines einfachen Dunkelfeld-Mikroskops [1]

1. Bauen Sie ein Dunkelfeld-Mikroskop auf. Achten Sie besonders auf gleiche Höhe der optischen Elemente. Öffnen Sie die Blende hinter dem abbildenden Objektiv (Linse) vollständig. Wählen Sie die Abstände und Orientierung aller Elemente sinnvoll. Schließen Sie die Blende hinter der abbildenden Linse nach erfolgter Einrichtung des Aufbaus langsam, bis Sie die transmittierte ringförmige Beleuchtung gerade vollständig ausblenden. So gelangt nur noch der zentrale Winkelbereich (Streulicht) zur Kamera. Suchen Sie sich eine geeignete Stelle auf der Probe und nehmen Sie dort ein paar Kamerabilder auf.
2. Vergleichen Sie die gemessenen Bilder mit jenen, des zuvor aufgebauten Hellfeld- Transmissionsmikroskops. Diskutieren Sie die Unterschiede (vor allem in Bezug auf Kontrast)
3. Überlegen und skizzieren Sie, wie ein Dunkelfeld-Aufbau (Beleuchtungs- und Aufsammel-Optik) in einer Auflicht-Variante (Reflexion statt Transmission) aussehen könnte.

## 2 Voraussetzungen und Grundlagen

### 2.1 Brennweite einer Sammellinse [1]

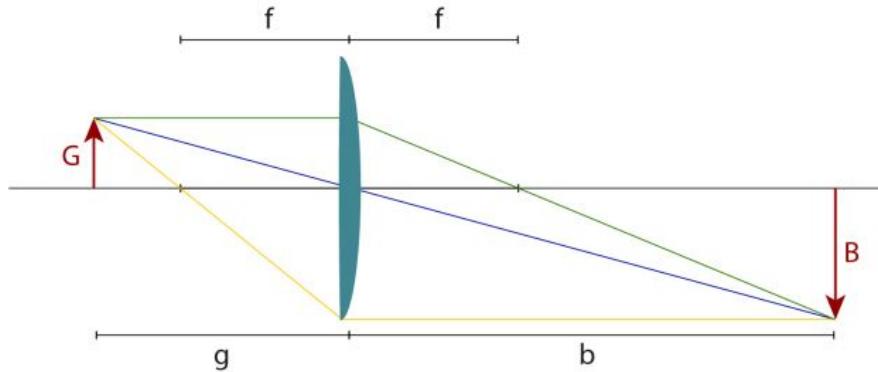
Die Brennweite einer Sammellinse lässt sich über die Linsengleichung bestimmen.

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

Mit  $f$  der Brennweite,  $g$  der Gegenstandsweite, sowie  $b$  der Bildweite wie dargestellt in Abbildung 1. Diese Gleichung ist genau dann erfüllt, wenn sich eine scharfe Abbildung des Gegenstands ergibt. Folglich lässt sich durch das Einstellen eines scharfen Bildes und Messung der zugehörigen Gegenstandsweite und Bildweite die Brennweite einer Linse bestimmen.

Mit Hilfe einer Sammellinse lässt sich ein Objekt vergrößern/verkleinern. Für den Abbildungsmaßstab  $A$  gilt:

$$A = \frac{b}{g} \quad (2)$$



**Abb. 1:** Strahlengang zur Abbildung mit Hilfe einer einzelnen Sammellinse zusammen mit den wichtigsten Parametern. Konstruktion eines Bildes: Parallelstrahl wird zum Brennstrahl (grün) und Brennstrahl zum Parallelstrahl (gelb). Der Schnittpunkt der beiden Strahlen mit dem Mittelpunktstrahl (blau) definiert Bildweite  $b$  und Bildgröße  $B$ . Abbildung entnommen aus [1]

#### 2.1.1 Lupeneffekt

Den Lupeneffekt kann man zur groben Abschätzung der Brennweite einer Linse verwenden. Dabei verwendet man entweder ein sehr weit entferntes Objekt ( $g \gg f$ ) oder einen sehr weit entfernten Schirm ( $b \gg f$ ). In der Praxis stellt sich aber heraus, dass aufgrund der notwendigen Einkopplung des Lichts des darzustellenden Objekts nur die zweitere Variante ( $b \gg f$ ) sinnvoll ist. Damit wird in der Linsengleichung (1) der Term  $1/b$  vernachlässigbar. Somit stellt bei Verwendung des Lupeneffekts die zur Darstellung eines scharfen Objekts notwendige Gegenstandsweite  $g$  eine Approximation der Brennweite  $f$  für spätere Versuche dar.

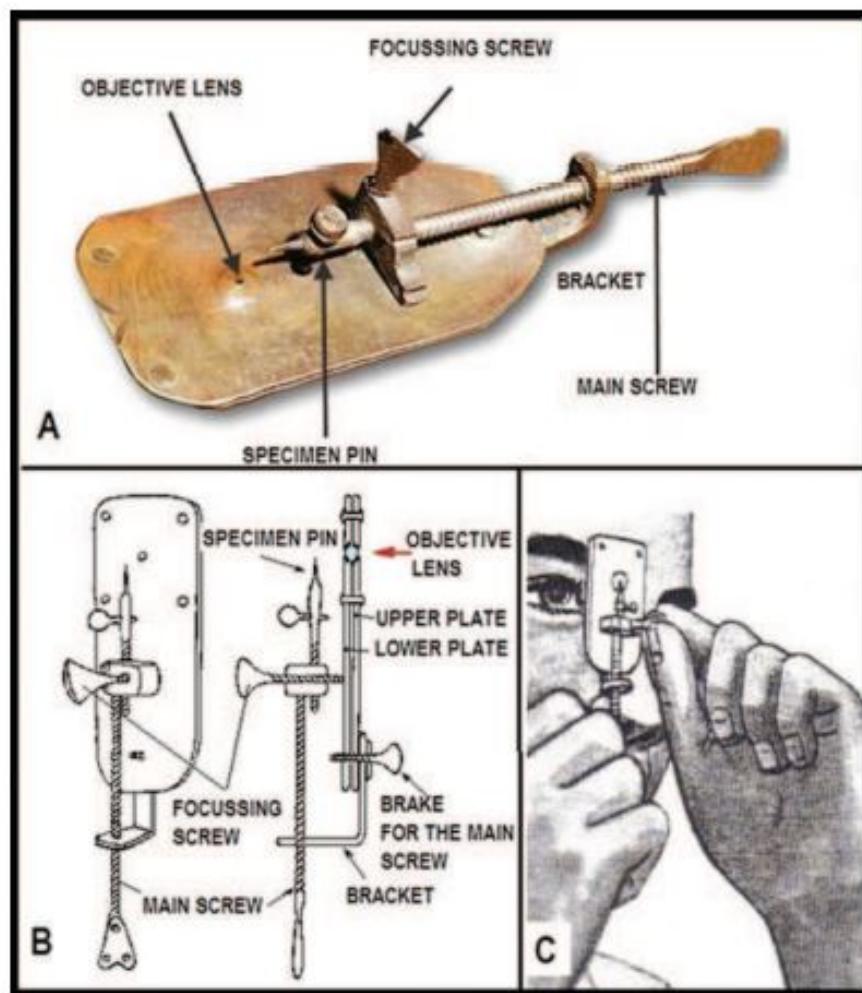
#### 2.1.2 Bessel-Verfahren

Das Bessel-Verfahren verwendet, dass es bei festem Abstand zwischen Gegenstand und Position des scharfen Bildes ( $l = b + g = \text{const.}$ ) zwei Positionen der Linse gibt, bei denen eine scharfe Abbildung möglich ist ( $l = b_1 + g_1 = b_2 + g_2$ ). Anhand des Abstands  $w$  zwischen diesen beiden Linsenpositionen ( $w = g_1 - g_2$ ) lässt sich die Brennweite  $f$  unter Zuhilfenahme folgender Gleichung bestimmen:

$$f = \frac{l^2 - w^2}{4l} \quad (3)$$

## 2.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek [1], [2]

Dieses Mikroskop ist eine Erfindung von Antonie van Leeuwenhoek, der als einer der erfolgreichsten Konstrukteure von einfachen Mikroskopen der Geschichte gilt. Zur damaligen Zeit gab es auch schon Konstruktionen von 2-Linsen-Mikroskopen, jedoch kommt es bei diesen aufgrund der Aneinanderreihung der Linsen zur Verkettung der einzelnen Linsenfehler und damit waren die erhaltenen Bilder aufgrund der mangelhaften Qualität der damaligen Linsen stark verfälscht. Daher stellt das Mikroskop nach Van Leeuwenhoek eine geniale Umgehung dieses Problems dar, da es nur eine einzelne kleine Kugellinse benötigt, die eine immense Vergrößerung bewirken kann.



**Abb. 2:** Bild eines einfachen Mikroskops von van Leeuwenhoek mit Beschreibung der einzelnen Bauteile. Abbildung entnommen aus [1].

Die effektive Fokusröße (Mittelpunkt der Kugel bis zum Fokus) lässt sich wie folgt berechnen:

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

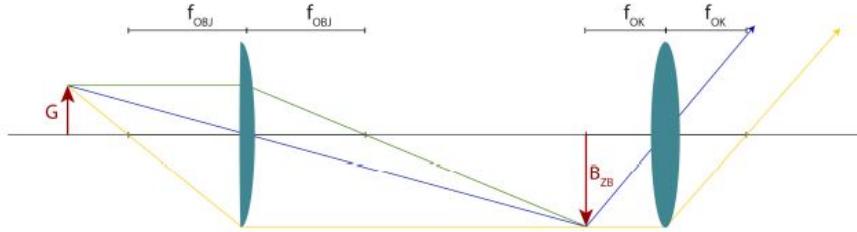
mit d dem Kugeldurchmesser und n dem Brechungsindex des Glases. Daraus folgt die (Lupen-)Vergrößerung aus der allgemeinen Gleichung:

$$M = \frac{250 \text{ mm}}{f} \quad (5)$$

Der Wert 250 mm stellt dabei die kleinste Entfernung zum Auge dar, bis zu der das Auge noch scharf abbilden kann. Damit ergibt sich, dass mit kleinen Kugellinsen sehr große Lupenvergrößerungen ergeben. Damit ließen sich durch Verwendung entsprechend kleiner Kugellinsen bereits im 17. Jahrhundert Auflösungen im Mikrometerbereich erzielen.

## 2.3 Das Hellfeld-Transmissionsmikroskop [1]

Üblicherweise besteht ein konventionelles Mikroskop aus mindestens zwei Linsen und erlaubt die vergrößerte Betrachtung von Objekten. Im einfachsten Fall kommen also zwei Linsen zum Einsatz. Eine davon heißt Objektiv (nahe am Objekt) und die zweite heißt Okular (nahe am Auge). Das Objektiv erzeugt bei passender Anordnung ein vergrößertes Zwischenbild des Objekts, das durch das Okular noch weiter vergößert wird. Wenn die Position des Zwischenbildes genau in den vorderen Brennpunkt des Okulars fällt, entsteht ein Bild im Unendlichen (siehe Abbildung 3). Dies wird durch Betrachtung mit dem entspannten Auge zu einem scharfen vergrößerten Bild auf der Netzhaut.



**Abb. 3:** Schematischer Aufbau und Bildkonstruktion eines Mikroskops bestehend aus Gegenstand/Objekt, Objektiv-Linse und Okular-Linse. Die entsprechenden Brennweiten der Linsen 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. Mit Hilfe der entspannten Augenlinse oder 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  $t_0$ . Abbildung entnommen aus [1]

Im oben beschriebenen Fall, wo Position des Zwischenbildes und vorderer Brennpunkt des Okulars zusammenfallen, ergibt sich die Gesamtvergrößerung  $V_{MIK}$  als Produkt der Objektivvergrößerung  $A_{OBJ} = \frac{-t_0}{f_{OBJ}}$  und der Okularvergrößerung  $V_{OK} = \frac{250\text{ mm}}{f_{OK}}$ .

Das Auflösungsvermögen des Mikroskops kann über die Balkenpaare auf der Probe bestimmt werden. Es gibt verschiedene Gruppen mit je 6 Elementen, die aus drei horizontalen und drei vertikalen Balken bestimmen. Je höher die Nummerierung, desto kleiner werden die Balken. Durch Bestimmung des Elements, das gerade noch abbildungbar ist (Balken gerade noch trennbar), kann die Auflösung des Mikroskops bestimmt werden. Die Balkenpaare pro Millimeter  $N_B$  ergeben sich über folgende Formel:

$$N_B = 2^{\text{GRUPPE} + \frac{\text{ELEMENT}-1}{6}} \quad (6)$$

### 2.3.1 Abbe'sche Abbildungstheorie [4]

Die Abbe'sche Abbildungstheorie beschreibt den Einfluss der Beugung auf Abbildungen und das damit verbundene maximal erreichbare Auflösungsvermögen. Damit zwei Objekte z.B. zwei Spalte voneinander räumlich getrennt wahrnehmbar sind, müssen neben der 0-ten auch die +1. und -1. Beugungsordnung sichtbar sein.

Für ein Mikroskop ergibt sich eine theoretische Grenze des Auflösungsvermögens aufgrund der Beugung. Es lässt sich durch den kleinsten Abstand den zwei Objekte zueinander haben dürfen, um noch voneinander räumlich getrennt wahrnehmbar zu sein, definieren. Dieser Abstand  $\Delta x_{min}$  lässt sich über den Durchmesser der ersten Beugungsordnung  $d_{Beug}$  berechnen. Wobei der Durchmesser als Breite zwischen zwei Nulldurchgängen der Intensitätsverteilung zu verstehen ist.

$$\Delta x_{min} = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{N.A.} \quad (7)$$

wobei  $\lambda$  die Wellenlänge des durchleuchtenden Lichts und  $N.A. = n \cdot \sin(\alpha)$  die numerische Apertur mit  $n$  dem Brechungsindex der Linse und  $\alpha$  dem Einfallsinkel des Lichtes ist. Kürzere Wellenlängen ergeben also ein besseres Auflösungsvermögen. Dies soll im Versuch mit dem Hellfeld-Mikroskop überprüft werden.

## 2.4 Dunkelfeldmikroskop [1]

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) hinein streut. 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 4 kann man deutlich die beiden völlig verschiedenen Bilderzeugungsmechanismen sehen. Der Kontrastmechanismus der Dunkelfeldmethode weicht stark von der Hellfeldmethode ab, da hier hauptsächlich Kontrast durch in die Linse gestreutes Licht entsteht. Bei der Dunkelfeldmethode ergibt sich also ein dunkler Hintergrund auf dem sich die Strukturen durch hellen Kontrast abheben. Bei der Dunkelfeldmethode ist es wichtig die Abstände der Linsen und die Abblendung der Lichtquelle derart einzustellen, dass ohne Streuung kein Licht von der Linse eingekoppelt wird.



**Abb. 4:** Vergleich Hellfeld- (links) und Dunkelfeld-Methode (rechts). Beleuchtung/Licht (rot) von unten kommend. Die Zentralblende (rechts unten; schwarz) lässt nur Randstrahlen passieren. Abbildung entnommen aus [1]

### 3 Beschreibung der Versuchsanordnung

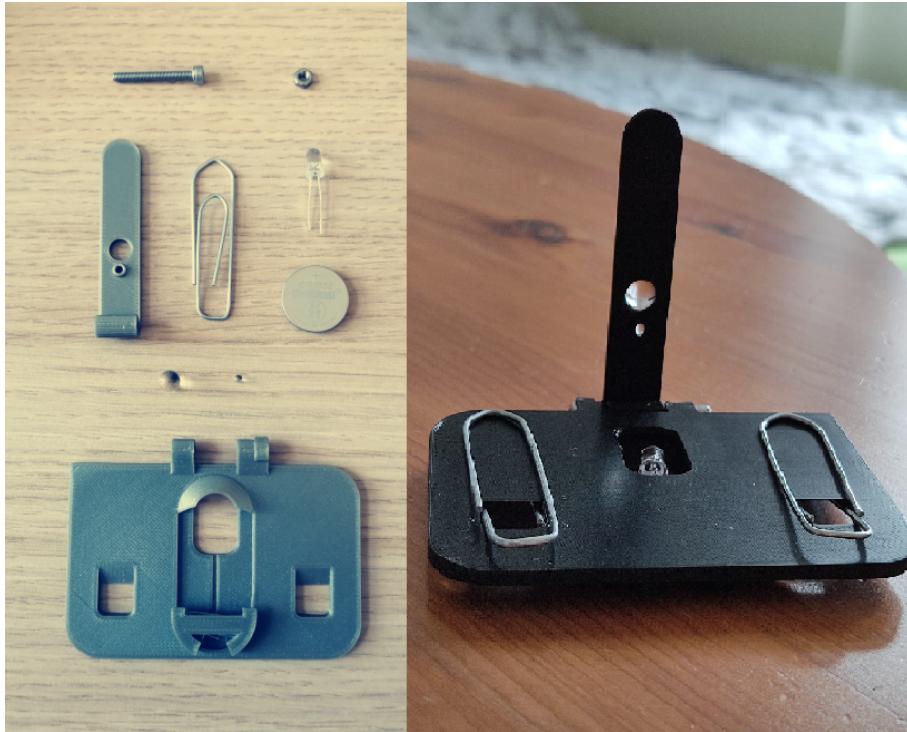
#### 3.1 Abbildung durch eine Sammellinse



**Abb. 5:** Versuchsaufbau zur Bestimmung der Brennweite der Sammellinse

Licht wird mithilfe einer Halogenlampe mit Infrarot-Filter erzeugt und durchscheint eine zum Teil transparente Probe. In weiterer Folge wird das Licht in der Sammellinse mit unbekannter Brennweite gebündelt und trifft auf eine Kamera mit einer Chipgröße von 4,968 mm x 3,726 mm bzw. 1440 x 1080 Pixel. Damit entspricht die Größe eines Pixels  $3.45 \mu\text{m}$ . Sämtliche Komponenten sind mit Schraubklemmen an einem Aluminium-Träger befestigt. Es ist darauf zu achten, dass die optische Achse der Komponenten alle auf gleicher Höhe sind, da sonst kein Bild entsteht bzw. bei nur leichtem Versatz Verschleierungen auftreten. Mithilfe der Software ThorCam werden Abbildungen erstellt und gespeichert.

#### 3.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek



**Abb. 6:** Versuchsaufbau 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek

Die Hauptbestandteile des nach dem Prinzip von van-Leeuwenhoek nachgebauten Mikroskops bilden zwei Glaskugeln mit einem Durchmesser von 2,5 mm bzw. 6,35 mm, die einen Brechungsindex von 1.518 haben. Diese werden in einem 3D-gedruckten Arm, der beweglich an einer Kunststoffplatte angeschraubt ist, befestigt. Dieser Arm ermöglicht eine

Veränderung der Gegenstandsweite zum Einstellen eines scharfen Bildes. Als Beleuchtung dient eine Weißlicht-LED mit Knopfzelle und als Probenhalter zwei Büroklammern.

### 3.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop



**Abb. 7:** Versuchsaufbau Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Der Versuchsaufbau besteht gleich wie in 3.1 aus einer Halogenlampe, einer zum Teil transparenten Probe und einer Kamera. Zusätzlich wird ein Diffusor angebracht, um eine gleichmäßige Beleuchtung zu erzeugen. Zum Bündeln des Lichts wird eine Sammellinse mit einer Brennweite von 35 mm als Objektiv und eine Okular-Linse mit einer Brennweite von 50 mm verwendet. Vor der Kamera ist zusätzlich eine Linse mit einer Brennweite von 150 mm angebracht, um die vom Okular kommenden parallelen Strahlen auf den Chip der Kamera zu bündeln. Die Positionen der Linsen sind so zu wählen, dass zum einen nach Formel 1 der Abbildungsmaßstab größer als 1 ist, um ein vergrößertes Bild zu erhalten und zum anderen, dass die Abbildung vom Objektiv im Brennpunkt des Okulars erzeugt wird, damit parallele Strahlen in der Kameralinse ankommen. Der Abstand  $d$  zwischen Okular und Objektiv beträgt  $(163 \pm 5)$  mm und der zwischen Objektiv und Probe  $(55 \pm 5)$  mm.

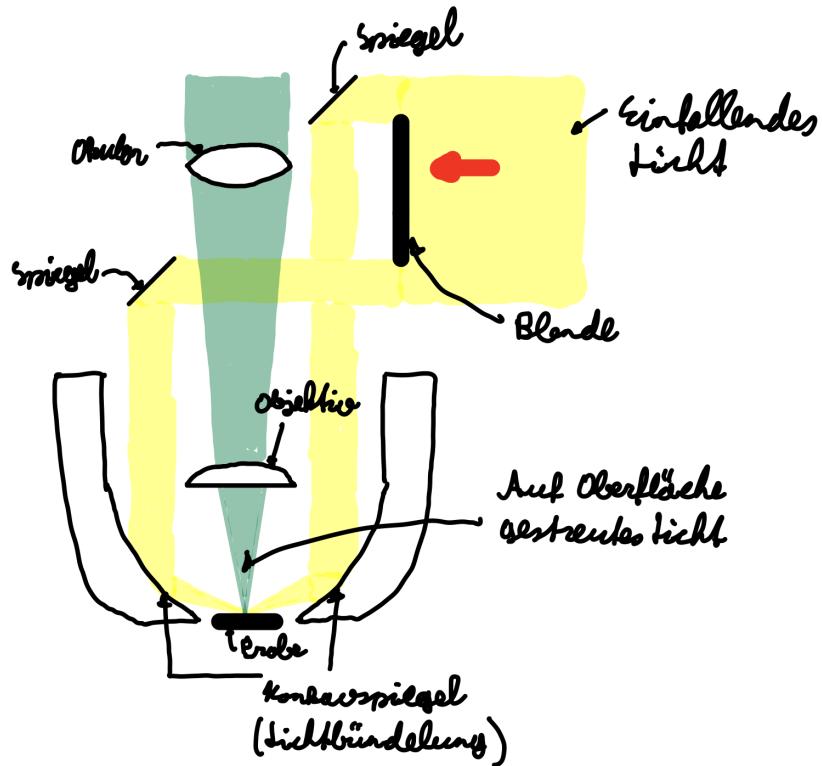
### 3.4 Dunkelfeld-Mikroskop



**Abb. 8:** Versuchsaufbau Dunkelfeld-Mikroskop

Für die Realisierung des Dunkelfeld-Mikroskops wird die gleiche Halogenlampe, wie in 4.1 und 4.3 ohne Diffusor verwendet. Diese scheint auf eine kreisförmige Blende, die sich vor einem Objektiv mit einem Arbeitsabstand von 6.2 mm befindet. In Abbildung 8 befindet sich links vom Objektiv die Probe und eine achromatische Linse, welche zur Vergrößerung dient. In diesem Fall wird auf eine zweite Sammellinse zur Vergrößerung verzichtet, die Kamera muss also passend positioniert werden, um die Linsengleichung zu erfüllen und ein scharfes Bild zu erhalten.

### 3.4.1 Vorschlag für Dunkelfeld-Aufbau in Auflicht-Variante



**Abb. 9:** Vorschlag für Dunkelfeld-Mikroskop mit Auflicht-Beleuchtung

In Abbildung 9 wird ein Vorschlag gegeben wie ein Dunkelfeld-Mikroskop mit Auflicht-Beleuchtung gebaut werden könnte. Die Lichtquelle steht parallel zur Probe und nur ein Bruchteil des Lichts geht an der Blende vorbei. Dieses transmittierte Licht wird dann anhand zweier Spiegel in Richtung der Probe gelenkt. Bevor das Licht auf die Probe trifft, wird dieses mittels zweier seitlicher Parabolspiegel auf diese gebündelt. Der Winkel des einfallenden Lichts ist so eingestellt, dass dieses anhand normaler Reflexionen nicht vom Objektiv eingekoppelt werden kann. Es kann also nur Licht aufgrund von Streuung an der Oberfläche in die Richtung des Objektivs gelangen. Der restliche Aufbau (Objektiv und Okular) ist analog zum 2-Linsen-Hellfeld-Mikroskop und dient der Vergrößerung des abzubildenden Objekts.

## 4 Geräteliste

Folgende Geräte wurden im Aufbau verwendet:

**Tab. 1:** Geräteliste

Abk.	Gerät	Type	Inventar Nr.
S1	Sammellinse	—	—
S2	Sammellinse	Brennweite: 25 mm	—
S3	Sammellinse	Brennweite: 35 mm	—
O1	Okularlinse	Brennweite: 50 mm	—
O2	Okularlinse	Brennweite: 150 mm	—
O	Okularlinse mit Lochblende	Brennweite: 50 mm	—
OB	Objektiv	Nikon Arbeitsabstand: 6.3 mm	—
C	Monokamera	Thorlabs	13527
P	Probenhalter	—	—
H	Halogenlampe	—	—
D	Diffusor	—	—
R	Rote LED	—	—
B	Blaue LED	—	—
P	Probe	—	—
RB	Ring-Blende	—	—
RT	Resolution Target	Thorlabs	—
A	Aluminium-Schiene	—	—
S	Schraubklemmen	—	—

## 5 Versuchsdurchführung und Messergebnisse

### 5.1 Brennweite einer Sammellinse

#### 5.1.1 Bestimmung mittels Lupeneffekt

Die Brennweite einer unbekannten Sammellinse kann über den Lupeneffekt approximiert werden, indem die Bildweite groß im Vergleich zur Wellenlänge gewählt wird und die Gegenstandsweite so variiert wird, dass sich eine scharfe Abbildung ergibt. In diesem Fall ergibt die Gegenstandweite eine Schätzung der Brennweite.

Die Abbildung des Gegenstands erfolgte im vorliegenden Fall auf einer Kamera, deren Position weit hinter der Kamera eingestellt wurde, um die Abschätzung des Lupeneffekts möglichst gut zu erfüllen. Die Position der Sammellinse wurde solange verschoben, bis sich ein scharfes Bild ergab. Dies wurde 10 Mal durchgeführt, um eine Abschätzung für die Unsicherheit der gemessenen Längen in diesem und den folgenden Versuchen zu bekommen.

**Tab. 2:** Messergebnisse - Brennweite mittels Lupeneffekt  
 $g$ ...Gegenstandsweite bei scharfer Abbildung,  $\Delta g = 5 \text{ mm}$

Nr.	$g / \text{mm}$
1	35
2	27
3	36
4	40
5	36
6	39
7	38
8	29
9	33
10	28

Es ergibt sich eine Standardabweichung von  $\sigma = 5 \text{ mm}$ . Diese wird auch in den folgenden Messungen für die Unsicherheit der gemessenen Abstände hergenommen. Diese doch recht hohe Unsicherheit lässt sich damit erklären, dass doch etwas Spielraum herrscht, wo das Bild genau als scharf empfunden wird und zusätzlich erfolgt die Messung der Abstände mit einem darübergehaltenen Lineal in der Luft, wodurch es sehr leicht zu Ableseunsicherheiten kommen kann.

Es ergab sich somit als Mittelwert eine Gegenstandsweite von  $g = (34 \pm 5) \text{ mm}$  und somit eine approximierte Brennweite von  $f_{approx} = (34 \pm 5) \text{ mm}$ . Eine Erläuterung des bei dieser Approximation gemachten systematischen Messfehlers wird in der Diskussion gegeben.

### 5.1.2 Bestimmung mittels Linsengleichung

Hier gilt es zwei verschiedene Positionen für Linse und Kamera für ein scharfes Bild bei fixierter Objektposition zu finden. Die Brennweite kann dann mittels der Linsengleichung bestimmt werden. Zusätzlich wurde die Bildgröße aus den aufgenommenen Bildern bestimmt. Das erste Bild wurde mit einem Abbildungsmaßstab von 1 ( $b$  und  $g$  gleich groß) vom Balkenobjekt Gruppe 2 Element 4 gemacht (siehe Abbildung 10) und dieses bietet daher ein Maß für die originale Größe der aufgenommenen Objekte.



**Abb. 10:** Abgebildetes Balkenobjekt Gruppe 2 Element 4

Es wurden folgende zwei Positionen mit scharfer Abbildung eingestellt:

**Tab. 3:** Messwerte - Brennweite mittels Linsengleichung

$b$ ...Bildweite bei scharfer Abbildung,  $\Delta b = 5 \text{ mm}$

$g$ ...Gegenstandsweite bei scharfer Abbildung,  $\Delta g = 5 \text{ mm}$

$B$ ...Bildgröße,  $\Delta B = 10 \text{ Pixel}$

$b / \text{mm}$	$g / \text{mm}$	$B / \text{Pixel}$
53	53	163
43	71	97

Die Unsicherheit der gemessenen Abstände ergibt sich aus dem vorherigen Abschnitt. Für die Bildgröße scheint eine Unsicherheit von  $\Delta B = 10 \text{ Pixel}$  angemessen, da an den Kanten der Balken die Übergänge sehr fließend sind und damit nur erahnt werden kann, wo der Balken endet.

### 5.1.3 Bestimmung mittels Bessel-Verfahren

Das Bessel-Verfahren verwendet, dass es bei festem Abstand zwischen Gegenstand und Position des scharfen Bildes zwei Positionen der Linse gibt, bei denen eine scharfe Abbildung möglich ist.

In diesem Versuch wurde der Abstand zwischen Objekt und Kamera auf  $l = (103 \pm 5)$  mm eingestellt. Im Folgenden wurde die Linse herumbewegt und es ergaben sich scharfe Bilder bei den folgenden beiden Positionen (zusätzlich wurde die Bildgröße aus den Bildern extrahiert):

**Tab. 4:** Messwerte - Brennweite mittels Bessel-Verfahren

$b$ ...Bildweite bei scharfer Abbildung,  $\Delta b = 5$  mm

$g$ ...Gegenstandsweite bei scharfer Abbildung,  $\Delta g = 5$  mm

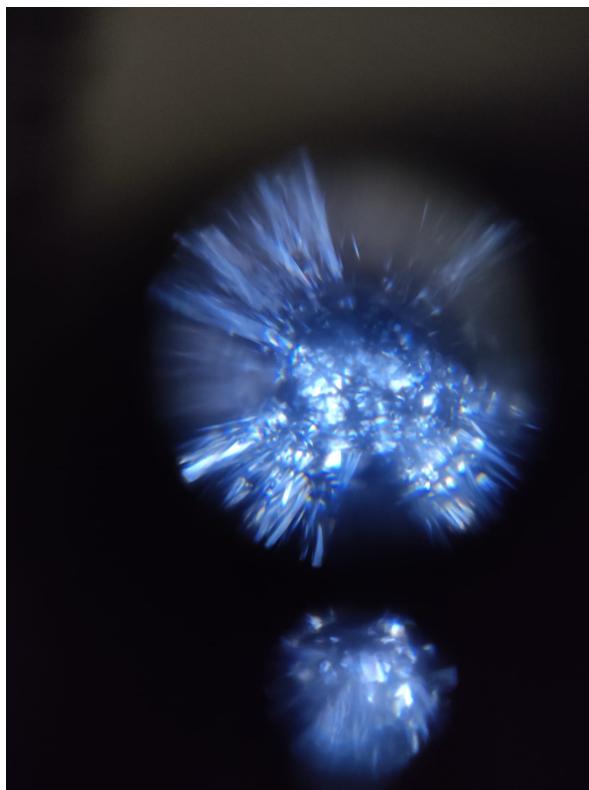
$l$ ...Abstand Objekt zu Kamera,  $\Delta l = 5$  mm

$B$ ...Bildgröße,  $\Delta B = 10$  Pixel

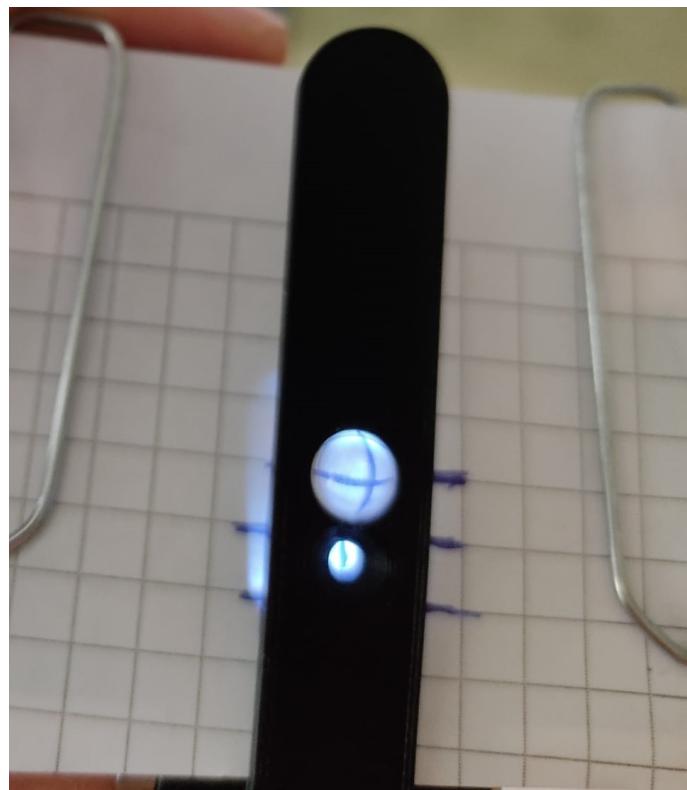
<b><math>b</math> / mm</b>	<b><math>g</math> / mm</b>	<b><math>g</math> / mm</b>	<b><math>B</math> / Pixel</b>
42	61	103	124
60	43	103	199

## 5.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek

In der Versuchsdurchführung wird ein aus Polyester bestehender Stoff bzw. kariertes Papier im Probenhalter befestigt und im Anschluss beide Anschlüsse der LED mit der Knopfzelle kontaktiert. Nun wird mithilfe des Arms die Gegenstandsweite so eingestellt, dass das Bild durch eine der beiden Kugellinsen scharf erscheint. Da die Brennweite der Glaskugeln unterschiedlich ist, muss für beide eine unterschiedliche Gegenstandsweite gewählt werden, um ein scharfes Bild zu erhalten. Es ist darauf zu achten, Materialien mit möglichst absorbierenden Strukturen zu verwenden, da sonst ein Bild mit wenig Kontrast entsteht. In Abbildung 11 ist zu sehen, dass die Vergrößerung bei der Linse mit kleinerem Durchmesser größer ist als jener der Linse mit größerem Durchmesser. Abbildung 12 dient zur Veranschaulichung der Abbildungsfehler der Kugellinsen.



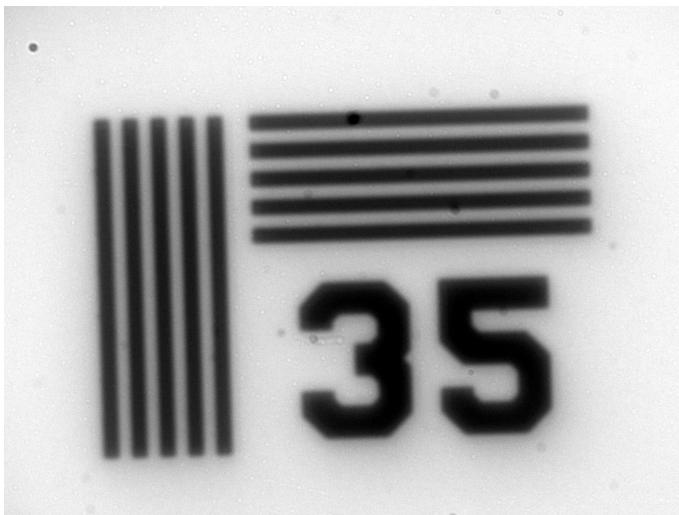
**Abb. 11:** Abbildung durch die beiden Kugellinsen.  
oben: Kugellinse mit 6.35 mm Durchmesser,  
unten: Kugellinse mit 2.5 mm Durchmesser



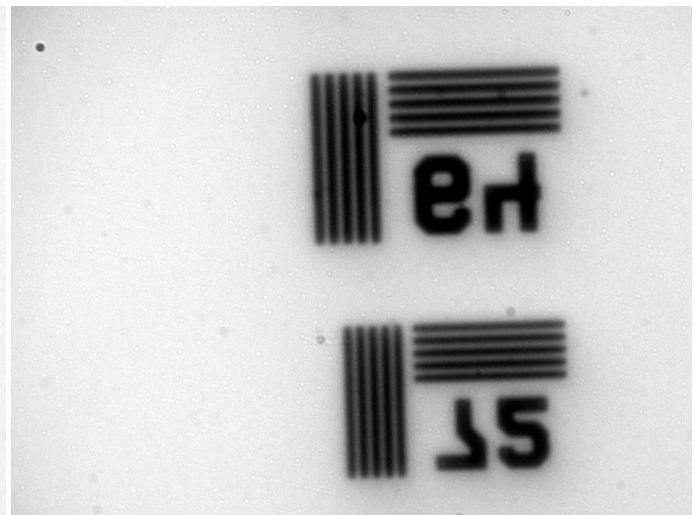
**Abb. 12:** Veranschaulichung der Abbildungsfehler der Kugellinsen

### 5.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Zu Beginn werden vom Resolution Target Bilder aufgenommen. Dieses wird mit den zwei Positionierungs-Schrauben des Probenhalters vertikal bzw. horizontal bewegt bis das kleinste Muster, bei dem die Balken noch voneinander unterscheidbar sind erscheint. Mit Thorcam wird ein Bild aufgenommen



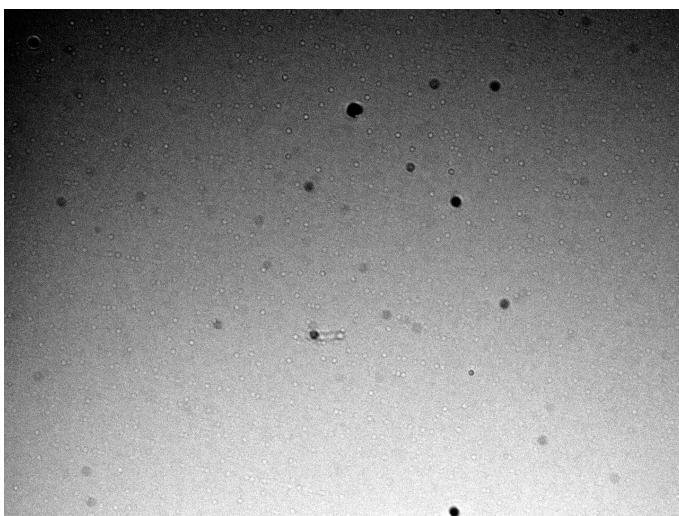
**Abb. 13:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop beliebig ausgewähltes Muster zur Veranschaulichung



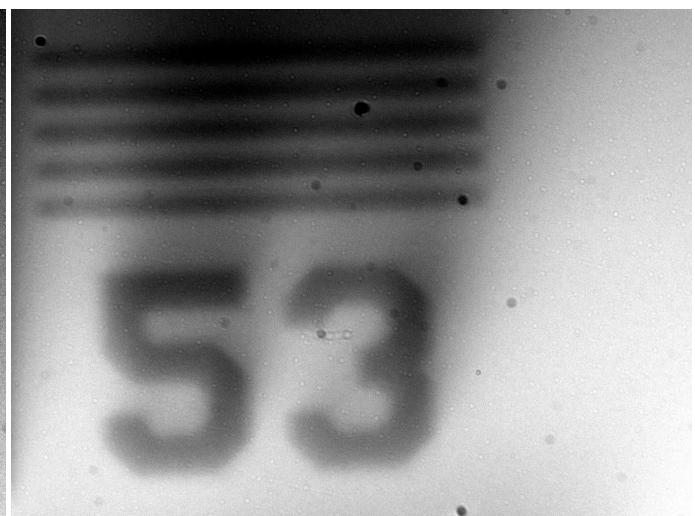
**Abb. 14:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop Muster zur Bestimmung der Auflösungsgrenze

Im weiteren Verlauf wird die Auswirkung von Linsenfehlern bzw. Änderungen der Lichtquelle auf die Qualität der Abbildung untersucht.

Das Objektiv wird um  $180^{\circ}$  gedreht. Dadurch wird das Bild unscharf. Deshalb wird mit der Madenschraube am Probenhalter die horizontale Position der Probe verändert bis die Abbildung wieder scharf wird.

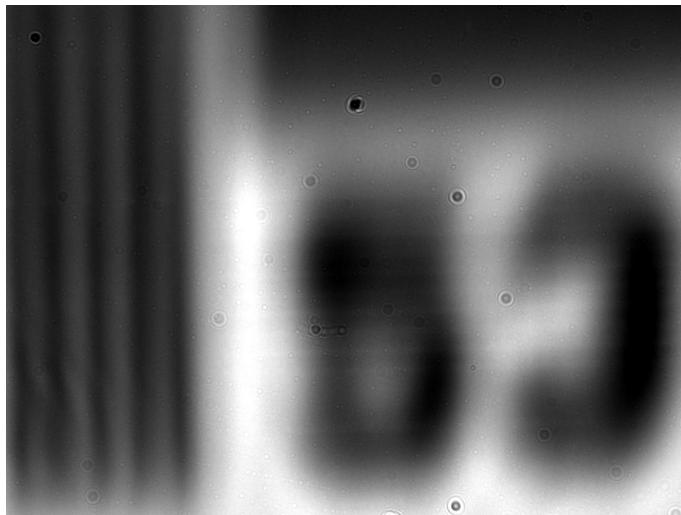


**Abb. 15:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop  $180^{\circ}$  verdrehtes Objektiv ohne Anpassung der Position der Probe

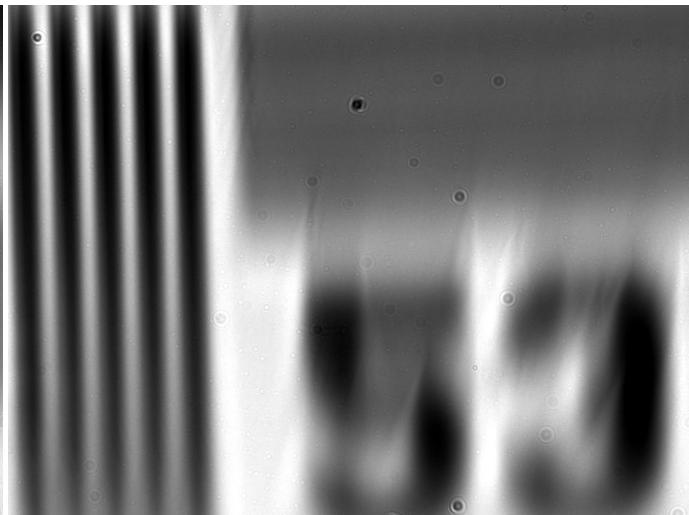


**Abb. 16:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop  $180^{\circ}$  verdrehtes Objektiv mit Anpassung der Position der Probe

Danach wird das Objektiv wieder in die ursprüngliche Position gebracht und der Diffusor vor der Lichtquelle entfernt. Es wird wieder ein Bild mit und ohne Anpassung abgespeichert.

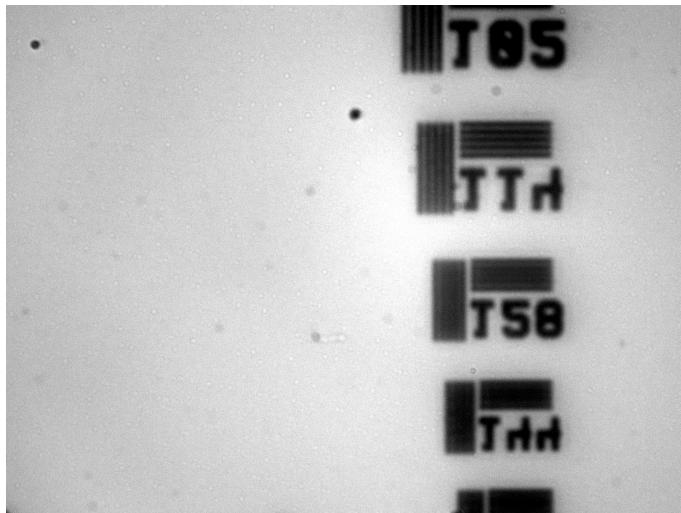


**Abb. 17:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop  
ohne Diffusor und ohne Anpassung

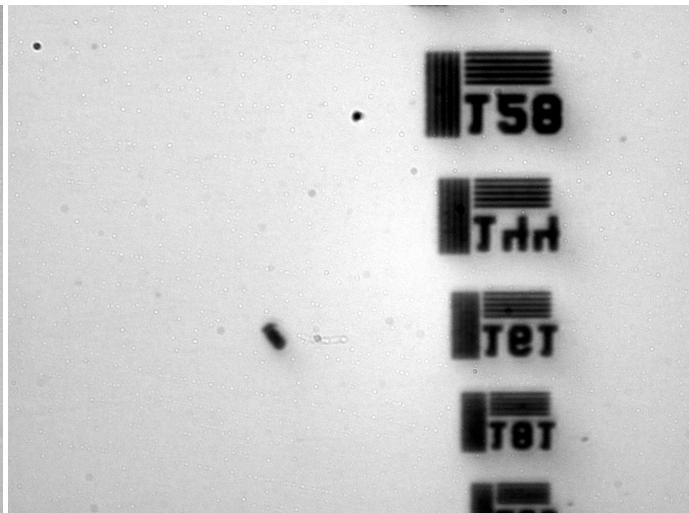


**Abb. 18:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop  
ohne Diffusor mit Anpassung

Als letzter Punkt wird die Auswirkung des Spektrums der Lichtquelle auf das Auflösungsvermögen untersucht. Dazu wird die Halogenlampe durch eine rote bzw. eine blaue LED ersetzt.



**Abb. 19:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop rote LED



**Abb. 20:** Hellfeld-Transmissionsmikroskop blaue LED

Bei diesem Versuch wird die horizontale Verschiebung  $\Delta x$ , damit die Probe wieder scharf erscheint, des Probenhalters gemessen. Es ergeben sich folgende Werte für die Verschiebung bei der roten LED  $\Delta x_r$  und der blauen LED  $\Delta x_b$

$$\Delta x_r = (3.6 \pm 0.5) \text{ mm}$$

$$\Delta x_b = (5.7 \pm 0.5) \text{ mm}$$

#### 5.4 Aufbau eines einfachen Dunkelfeld-Mikroskops

Beim Dunkelfeld-Mikroskop ist darauf zu achten, dass die optische Achse richtig ausgerichtet ist, da dieses Mikroskop gegenüber geometrischen Veränderungen noch empfindlicher als das Hellfeld-Mikroskop ist. Außerdem darf abgesehen von dem von der Probe transmittiertem Licht nur Licht mit extrem niedriger Intensität eingekoppelt werden, da sonst der helle Hintergrund eine viel höhere Intensität als das von der Probe abgestrahlte Licht hat. Wird das Experiment nach diesen Kriterien aufgebaut, ist ein bezüglich der Intensitäten zum Bild des Hellfeld-Mikroskops invertiertes Bild zu beobachten. In diesem erscheinen zuvor schwarze Strukturen weiß und umgekehrt. Im Experiment wurden folgende Gegenstands- und Bildweite eingestellt.

$$g = (3.1 \pm 0.5) \text{ cm}$$

$$b = (15.0 \pm 0.5) \text{ cm}$$

Leider wurden die oben genannten Kriterien im Experiment aufgrund von organisatorischen Schwierigkeiten (erster Versuch) nicht eingehalten und es konnten dadurch keine repräsentativen Messergebnisse erzielt werden.

## 6 Auswertung

Sämtliche Unsicherheiten aufgrund von Unsicherheitsfortpflanzung werden mit der Größtunsicherheitsmethode berechnet.

### 6.1 Brennweite einer Sammellinse

#### 6.1.1 Bestimmung mittels Linsengleichung

Die Unsicherheit der Brennweite  $\Delta f$  ergibt sich mittels Anwendung der Größtunsicherheitsmethode auf die Linsengleichung (1) zu:

$$\Delta f = \frac{g^2}{b^2 + g^2} \Delta b + \frac{b^2}{b^2 + g^2} \Delta g \quad (8)$$

Stellt man nun die Linsengleichung (1) nach  $f$  um, so erhält man die Brennweite für die beiden gemessenen Positionen  $f_1 = (27 \pm 5)$  mm und  $f_2 = (27 \pm 5)$  mm. Damit ergibt sich im Mittelwert eine Brennweite der Sammellinse von  $f = (27 \pm 5)$  mm.

Die Höhe des abgebildeten Balkens  $h$  lässt sich über die Pixelgröße des Kamerachips  $\Delta l$  berechnen:

$$h = N_{Pixel} \Delta l \quad (9)$$

Die Unsicherheit der Balkengröße  $\Delta h$  ergibt sich dann zu:

$$\Delta h = \Delta l \cdot \Delta N_{Pixel} \quad (10)$$

Für die Größe eines Balkens des abgebildeten Balkenelements der Gruppe 2 Element 4 beim Abbildungsverhältnis wird die erste Position mit  $b$  und  $g$  gleich hergenommen und es ergibt sich  $h = (0.56 \pm 0.03)$  mm.

Die Höhe eines Balkens lässt sich auch als Vergleich über (6) berechnen. Man hat insgesamt 5/2 Balkenpaare. Damit ergibt sich  $h_{ref} = \frac{1}{N_B} \cdot \frac{5}{2} = 0.44$  mm.

Für die zweite Position kann man nun einmal der Abbildungsmaßstab über  $b$  und  $g$  bestimmt werden und einmal mittels Vergleich zur Referenzgröße in Pixeln beim Abbildungsmaßstab von 1 in der ersten Messung.

Die Unsicherheit für den Abbildungsmaßstab  $A$  über  $b$  und  $g$  ergibt sich zu:

$$\Delta A = \frac{1}{g} \Delta b + \frac{g}{b^2} \Delta b \quad (11)$$

Der Abbildungsmaßstab  $A_{ref}$  über das Bildgrößenverhältnis zwischen der Referenzbildgröße  $B_{ref}$  bei einem Abbildungsmaßstab von 1 und der gemessenen Bildgröße  $B$  bei verändertem Abbildungsmaßstab ergibt sich zu:

$$A_{ref} = \frac{B}{B_{ref}} \quad (12)$$

$$\Delta A_{ref} = \frac{B}{B_{ref}^2} \Delta B_{ref} + \frac{1}{B_{ref}} \Delta B \quad (13)$$

Damit ergibt sich über  $b$  und  $g$  ein Abbildungsmaßstab von  $A = (0.61 \pm 0.11)$  sowie über die Pixelanzahl mit Vergleich zum Referenzobjekt ein Abbildungsmaßstab von  $A_{ref} = (0.60 \pm 0.10)$

Mittels der Formel (11) sieht man, dass sich bei Position 1, bei der man ein Abbildungsverhältnis von 1 voraussetzen muss, eigentlich ein Abbildungsverhältnis von  $A = (1.00 \pm 0.19)$  ergibt, dies kann die Abweichungen zwischen vorgegebener Balkenhöhe und gemessener Balkenhöhe erklären.

#### 6.1.2 Bestimmung der Brennweite mittels Bessel-Verfahren

Die Unsicherheit des Besselverfahrens ergibt sich durch Anwendung der Größtunsicherheitsmethode auf Formel (3):

$$\Delta f = \frac{l^2 + w^2}{4l^2} \Delta l + \frac{w}{2l} \Delta w \quad (14)$$

Es ergibt sich somit eine Brennweite von  $f = (24.9 \pm 2.2)$  mm über das Bessel-Verfahren. Es lässt sich erkennen, dass hier die Unsicherheit um rund die Hälfte geringer ist als bei der Bestimmung über die Linsengleichung. In der Diskussion wird genauer erläutert, warum dies der Fall ist.

## 6.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek

Mithilfe der angegebenen Durchmesser und Brechzahlen wird effektive Fokuslänge beider Kugellinsen nach Formel 4 bestimmt.

$$d_1 = (6.35 \pm 0.01) \text{ mm}$$

$$d_2 = (2.5 \pm 0.1) \text{ mm}$$

$$n = 1.518 \pm 0.001$$

Da keine Unsicherheiten für die oben genannten Größen angegeben ist, wird für jene die implizite Form angenommen.

$$\Delta f_{eff} = \frac{n}{4(n-1)} \Delta d + \frac{d}{4(n-1)^2} \Delta n \quad (15)$$

$$f_{eff1} = (4.6522 \pm 0.0013) \text{ mm}$$

$$f_{eff2} = (1.832 \pm 0.008) \text{ mm}$$

Die Unsicherheit der Lupenvergrößerung ergibt sich nach Formel 5

$$\Delta M = \frac{250 \text{ mm}}{f^2} \Delta f \quad (16)$$

$$M_1 = 53.738 \pm 0.015$$

$$M_2 = 136.5 \pm 0.6$$

In Abbildung 11 erkennt man chromatische und sphärische Aberration. Erstere prägt sich im Bild als regenboogenfarbiges Musters aus und zweitere als Verschleierung. Stark ausgeprägte kissenförmige Verzeichnungen sind in Abbildung 12 durch die Krümmung der Linien des karierten Blattes zu erkennen.

## 6.3 Hellfeld-Transmissionsmikroskop

Um die Vergrößerung des Hellfeld-Mikroskops theoretisch zu berechnen, muss zu Beginn die Tubuslänge  $t_0$  des Aufbaus, wie in Abbildung 3 beschrieben, bestimmt werden.

$$t_0 = d - f_{OBJ} - f_{OK} \quad (17)$$

$$\Delta t_0 = \Delta d + \Delta f_{OBJ} + \Delta f_{OK} \quad (18)$$

Damit ergibt sich eine Tubuslänge von  $t_0 = (78 \pm 7) \text{ mm}$ .

Die Vergrößerung ergibt sich durch

$$M = \frac{-t_0}{f_{OBJ}} \cdot \frac{250 \text{ mm}}{f_{OK}} \quad (19)$$

$$\Delta M = \frac{1}{f_{OBJ}} \cdot \frac{250 \text{ mm}}{f_{OK}} \Delta t_0 + \frac{t_0}{f_{OBJ}^2} \cdot \frac{250 \text{ mm}}{f_{OK}} \Delta f_{OBJ} + \frac{-t_0}{f_{OBJ}} \cdot \frac{250 \text{ mm}}{f_{OK}^2} \Delta f_{OK} \quad (20)$$

Damit ergibt sich  $M = (-11.1 \pm 1.5)$ . Dabei wurden die Unsicherheiten der beiden Brennweiten mit  $\Delta f$  angenommen (Annahme: implizite Schreibweise).

Praktisch lässt sich die Vergrößerung  $M$  mithilfe von Abbildung 13 und Abbildung 14 berechnen, da die Größe der Pixel des Kamera-Chips wie in 3.1 angegeben bekannt ist. Die dort angegebenen Zahlen entsprechen nach der NBS1963A-Norm der Anzahl der Balkenmuster pro Millimeter, wodurch sich die Breite des Balkenmusters  $b$  berechnen lässt. Die Breite  $b_{px}$  des aus den oben genannten Abbildung vergrößerten Balkenmusters ergibt sich durch die Anzahl der Pixel  $N_{px}$  und der Pixelgröße  $p$  wie folgt

$$b_{px} = N_{px} \cdot p \quad (21)$$

$$\Delta b_{px} = p \cdot \Delta N_{px} \quad (22)$$

Die Vergrößerung ergibt sich als das Verhältnis der Breite des vergrößerten und des nicht vergrößerten Balkenmusters.

$$M = \frac{b_{px}}{b} \quad (23)$$

$$\Delta M = \frac{1}{b} \cdot \Delta b_{px} \quad (24)$$

**Tab. 5:** Vergrößerung des Hellfeld-Mikroskops

$N_b$  ... Anzahl der Balkenbaare pro Millimeter

$b$  ... Breite des Balkenmusters

$N_{px}$  ... Anzahl der Pixel des horizontal verlaufenden Balkenmusters,  $\Delta N_{px} = 10$

$b_{px}$  ... Breite des vergrößerten horizontal verlaufenden Balkenmusters,  $\Delta b_{px} = 0.03 \text{ mm}$

$M$  ... Vergrößerung

Nr.	$N_b / \text{mm}^{-1}$	$b / \text{mm}$	$N_{px} / 1$	$b_{px} / \text{mm}$	$M / 1$	$\Delta M / 1$
1	32	0.141	280	1.00	7.09	0.21
2	64	0.0703	140	0.48	6.8	0.4
3	72	0.0625	120	0.41	6.6	0.5

### Auswertung der aufgenommen Bilder:

**Verdrehung des Objektivs** (siehe Abbildung 15 und Abbildung 16): Bei dem verwendeten Objektiv handelt es sich um eine plankonvexe Sammellinse. Diese hat die vorgegebene Brennweite nur, wenn man sie in der vorgegebenen Richtung bezüglich des Lichtstrahls betreibt. Verdreht man die Linse, ändert sich die Brennweite und das Zwischenbild entsteht nicht mehr exakt im Brennpunkt der Linse, wodurch das in der Kamera beobachtete Bild unscharf wird.

**Entfernen des Diffusors** (siehe Abbildung 17 und Abbildung 18): Ohne Diffusor wird das Bild ebenfalls unscharf. Dies beruht auf dem Lambert'schen Gesetz, das besagt, dass die Strahlungsstärke mit flacher werdendem Abstrahlwinkel abnimmt. Durch den Diffusor wird eine gleichmäßige Beleuchtungsebene erzeugt, wodurch jeder Punkt auf der Ebene für das Auge gleich hell wirkt.

**Auflösungsvermögen unter Veränderung der Wellenlänge der Lichtquelle** (siehe Abbildung 19 und Abbildung 20): Verändert man die Farbe bzw. die Wellenlänge der Lichtquelle, wird das Licht aufgrund des dispersiven Brechungsindex des Linsenmaterials unterschiedlich gebrochen. Dadurch entsteht das scharfe Bild bei einer anderen Position und die Position der Probe muss dementsprechend adjustiert werden.

Außerdem verändert sich das Auflösungsvermögen nach Formel 7. Bei blauem Licht ist das Auflösungsvermögen höher als bei rotem Licht. Praktisch lässt sich das Auflösungsvermögen bei roter und blauer Lichtquelle  $x_{minr}$  bzw.  $x_{minb}$  mit Abbildung 19 und Abbildung 20 berechnen. Als Unsicherheit wird hierbei die Differenz der Anzahl der Balken pro Millimeter vom gerade noch aufzulösendem und dem gerade nicht mehr aufzulösendem Material verwendet.

Bei der roten LED ist das Muster mit 114 Balkenpaaren pro Millimeter und bei der blauen LED das Muster mit 161 Balkenpaaren pro Millimeter gerade noch auflösbar.

$$x_{minr} = (8.8 \pm 2.4) \mu\text{m}$$

$$x_{minb} = (6.2 \pm 0.7) \mu\text{m}$$

Um die Auflösungsvermögen mit theoretischen Werten aus 7 vergleichen zu können, wird das Verhältnis  $r$  der beiden Auflösungsvermögen betrachtet.

$$r = \frac{\Delta x_{minb}}{\Delta x_{minr}} \quad (25)$$

$$\Delta r = \frac{1}{\Delta x_{minr}} \cdot \delta \Delta x_{minb} + \frac{\Delta x_{minb}}{\Delta x_{minr}^2} \cdot \delta \Delta x_{minr} \quad (26)$$

$$r = (1.41 \pm 0.07)$$

Leider sind weder der Typ der LED's noch deren Wellenlänge angegeben. Deshalb kann nur eine grobe Abschätzung[3] bei der theoretischen Berechnung durchgeführt werden.

$$r_A = (1.6 \pm 0.5)$$

#### 6.4 Dunkelfeld-Transmissionsmikroskop

Hier konnten wie bereits in der Versuchsdurchführung erläutert keine Bilder mehr aufgenommen werden. Es lässt sich aber zumindest der Abbildungsmaßstab für das eingestellte  $b$  und  $g$  bestimmen. Mittels Formel (2) und (11) ergibt sich  $A = 4.8 \pm 0.9$ .

## 7 Diskussion

### 7.1 Bestimmung der Brennweite einer Sammellinse

Beim Bestimmen der Brennweite einer unbekannten Sammellinse konnte festgestellt werden, dass es zur Approximation der Brennweite über den Lupeneffekt am sinnvollsten ist, die Bildweite groß im Vergleich zur Brennweite zu wählen und hingegen die Gegenstandsweite so zu variieren, dass sich eine scharfe Abbildung ergibt. In diesem Fall ergibt die Gegenstandweite eine Schätzung der Brennweite. Das hier beschriebene Vorgehen ist genau dem Vorgehen entgegengesetzt, das in der Versuchsanleitung beschrieben ist. Laut Versuchsanleitung sollte die Gegenstandsweite groß im Vergleich zur Brennweite gewählt werden. Dieses Vorgehen macht aber wenig Sinn, da durch den großen Abstand das Objekt erstens sehr klein abgebildet wird und zweitens die Lichtintensität stark abgenommen hat.

Bei der Approximation der Brennweite mittels Lupeneffekts kommt es außerdem zu einem systematischen Messfehler, da in der Approximation angenommen wird, dass die Bildweite unendlich ist. In Realität lassen sich aber nur endlich große Abstände für die Bildweite einstellen und somit kommt es zu einer Abweichung durch den in der Linsengleichung (1) nicht verschwindenden Term  $1/b$ . Dadurch ergibt sich in dieser Approximation eine systematisch zu große Brennweite.

Bei der Bestimmung der Größe eines Balkenmusters kam es zu großen Abweichungen zwischen dem Referenzwert und dem Messwert. Dies liegt daran, dass für die Berechnung ein Abbildungsmaßstab von 1 vorausgesetzt werden musste, der Abbildungsmaßstab selbst hat aber eine Unsicherheit von rund 20 % bei den eingestellten Abständen. Dies lässt sich aber schwierig in der Unsicherheitsformel für die Balkenhöhe integrieren und daher kommt der durch den Abbildungsmaßstab begangene Fehler als systematische Messabweichung hinzu.

Der Vorteil des Bessel-Verfahrens liegt darin, dass man hier aus zwei Positionen mit scharfem Bild eine gemeinsame Brennweite ermittelt. Durch diese Zusammenfassung der beiden scharfen Positionen zu einer gemeinsamen Brennweite verringert sich die Unsicherheit und somit erhält man beim Bessel-Verfahren rund die Hälfte der Unsicherheit im Vergleich zur Bestimmung über die Linsengleichung. Ein weiterer Vorteil dieses Verfahrens ist, dass die genaue Lage der Hauptebene der Linse nicht bekannt sein muss, da sich diese aufgrund der beiden Positionen unterm Strich herausmittelt.

### 7.2 Das 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek

Dieser Versuch zeigt den genialen Ansatz von van Leeuwenhoek durch den sich anhand der Verwendung einer einzigen Kugellinse Vergrößerungen von Faktor 100 und größer einstellen lassen. Dies sind Vergrößerungen, die sich normalerweise nur durch Kombination mehrerer Linsen einstellen lassen. Der Nachteil dieser Methode lässt sich aber bereits direkt in den aufgenommenen Bildern erkennen. Aufgrund der verwendeten Kugellinsen kommt es zu sehr ausgeprägten Abbildungsfehlern wie etwa einer besonders ausgeprägten Verzeichnung, sphärische Abberation, chromatische Abberation und weitere. Diese Methode war also nur zur Zeit sinnvoll als 2-Linsen-Systeme technisch noch nicht realisierbar waren. Dennoch zeigt diese Methode eindrucksvoll, wie sich bereits mit sehr einfachen Mitteln eine relevante Vergrößerung einstellen lässt.

### 7.3 Hellfeld-Mikroskop

Aufgrund von organisatorischen Schwierigkeiten wurde in 5.1 beim unveränderten, beim mit um 180 ° verdrehter Linse und beim Setup ohne Diffusor nicht die kleinsten Muster abgebildet, bei denen die Balken noch voneinander unterscheidbar waren. Des Weiteren hat sich die vertikale Position des Objektivs bei den Versuchen mit gedrehtem Objektiv und entferntem Diffusor verändert, wodurch das Bild verschwommen erschien. Außerdem war die Sammellinse im Objektiv nicht genau mittig befestigt, wodurch sich bei der Verdrehung des Objektivs die horizontale Position der Linse veränderte. Dieser Fakt floss auch in die Korrektur der Probe mit der Madenschraube ein. Bei den Versuchen mit der roten bzw. blauen LED stimmten, obwohl es sich um eine Abschätzung handelte, die theoretisch und praktisch ermittelte Auflösung im Rahmen der Unsicherheit überein. Aus den unterschiedlichen Verschiebungen bei roter bzw. blauer Lichtquelle des Probenhalters, um eine Abbildung zu erhalten, bestätigt sich die Theorie, dass das Licht je nach Wellenlänge aufgrund der dispersiven Eigenschaften des Materials unterschiedlich gebrochen wird (chromatische Abberation).

### 7.4 Dunkelfeld-Mikroskop

Das Dunkelfeld-Mikroskop ist der schwierigste der hier beschriebenen Versuche. Da hier letztendlich die Lichtquelle nicht abgebildet werden soll, muss die optische Achse einerseits nahezu perfekt eingestellt werden, damit mit der Blende die Lichtquelle ausgeblendet werden kann und andererseits muss die Position der Sammellinse so gewählt werden, dass sich letztendlich eine Vergrößerung einstellt und gleichzeitig die Lichtquelle ausgeblendet wird. Außerdem müssen Bild- und Gegenstandsweite in diesem Fall wieder so eingestellt werden, damit die Linsengleichung erfüllt ist und sich eine scharfe Abbildung auf dem Kamerachip ergibt.

Die Dunkelfeld-Methode ist eine wichtige Alternative zur Hellfeld-Methode insbesondere bei der Untersuchung sehr transparenter Materialien, zu denen auch viele biologische Proben zählen. Bei diesen sehr transparenten Materialien kommt es im Hellfeld kaum zu einem Kontrast, während bei der Dunkelfeld-Methode aufgrund der Kontrastentstehung über die Streuung ein guter Kontrast kommt. Ein weiterer Vorteil der Dunkelfeld-Methode ist, dass auch Teilchen, die kleiner als die Wellenlänge sind streuen (Rayleigh-Streuung) und somit ebenfalls zum Kontrast beitragen.

Die Dunkelfeld-Methode ist außerdem nicht nur auf transparente Materialien beschränkt. Mit dem in Abbildung 9 vorgeschlagenen Versuchsaufbau lassen sich auch nicht transparente Materialien anhand von Streuung an der Oberfläche untersuchen.

## 8 Zusammenfassung

In diesem Versuch wurde die Brennweite einer Sammellinse mittels Lupeneffekt, Linsengleichung und Bessel-Verfahren bestimmt. Weiters wurde ein 1-Linsen-Mikroskop nach Van Leeuwenhoek aufgebaut und die damit erzielte Vergößerung bestimmt. Außerdem wurden die bei der Verwendung dieser Methode auftretenden Probleme erläutert. In einem weiteren Experiment wurde ein Hellfeld-Transmissionsmikroskop aufgebaut und die auftretenden Konsequenzen durch Variation einzelner Komponenten bestimmt. Weiters wurden das Auflösungsvermögen und die Vergrößerung dieses Aufbaus bestimmt. Zum Abschluss sollte ein Dunkelfeld-Mikroskop aufgebaut werden. Es gelang aber aufgrund organisatorischer Probleme (erster Versuch) nicht dieses erfolgreich aufzubauen und somit wird dieser Versuch in diesem Protokoll nur theoretisch beleuchtet.

**Tab. 6:** Messergebnisse - Sammellinse

$f_{app}$  ... approximierte Brennweite mittels Lupeneffekt,  $\Delta f_{app} = 5 \text{ mm}$

$f_L$  ... Brennweite mittels Linsengleichung,  $\Delta f_L = 5 \text{ mm}$

$f_B$  ... Brennweite mittels Besselverfahren,  $\Delta f_B = 2.2 \text{ mm}$

<b>f<sub>app</sub> / 1</b>	<b>f<sub>L</sub> / 1</b>	<b>f<sub>B</sub> / mm</b>
34	27	24.9

**Tab. 7:** Messergebnisse 1-Linsen-Mikroskop nach van Leeuwenhoek

$d$  ... Linsen-Durchmesser

$f_{eff}$  ... Effektive Brennweite

$M$  ... Vergrößerung

<b>Nr.</b>	<b>d / mm</b>	<b><math>\Delta d / \text{mm}</math></b>	<b><math>f_{eff} / \text{mm}</math></b>	<b><math>\Delta f_{eff} / \text{mm}</math></b>	<b>M / 1</b>	<b><math>\Delta M / 1</math></b>
1	6.35	0.01	4.6522	0.0013	53.738	0.015
2	2.5	0.1	1.832	0.008	136.5	0.6

**Tab. 8:** Messergebnisse - Hellfeld-Mikroskop

$M_H$  ... Vergrößerung Hellfeld-Mikroskop,  $\Delta M_H = 1.5$

$x_{minr}$  ... Auflösungsvermögen rote Lichtquelle,  $\Delta x_{minr} = 2.4 \mu\text{m}$

$x_{minb}$  ... Auflösungsvermögen blaue Lichtquelle,  $\Delta x_{minb} = 0.7 \mu\text{m}$

$r$  ... Verhältnis der Auflösungsvermögen rot/blau praktisch,  $\Delta r = 0.07 \mu\text{m}$

$r_A$  ... Verhältnis der Auflösungsvermögen rot/blau theoretisch,  $\Delta r_A = 0.5 \mu\text{m}$

<b>M<sub>H</sub> / 1</b>	<b>x<sub>minr</sub> / <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>x<sub>minb</sub> / <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>r / 1</b>	<b>r<sub>A</sub> / 1</b>	<b>A<sub>D</sub> / 1</b>
-11.1	8.8	6.2	1.41	1.6	4.8

## Literatur

- [1] Aufgerufen am 19.03.2022. URL: [https://moodle.uni-graz.at/pluginfile.php/1753452/mod\\_resource/content/3/Microscopy\\_Advanced\\_Lab\\_2021\\_v1\\_02.pdf](https://moodle.uni-graz.at/pluginfile.php/1753452/mod_resource/content/3/Microscopy_Advanced_Lab_2021_v1_02.pdf).
- [2] Aufgerufen am 19.03.2022. URL: <https://www.lichtmikroskop.net/geschichte/antoni-van-leeuwenhoek.php>.
- [3] Aufgerufen am 19.03.2022. URL: <https://www.chemie.de/lexikon/Licht.html>.
- [4] P. Werhounig M. Klotz. "Abbe-Theorie-Laborprotokoll". In: (2020).