Grundpraktikum der Fakultät für Physik Georg-August-Universität Göttingen

Versuch 18 Das Mikroskop

Praktikant: Joscha Knolle

Ole Schumann

E-Mail: joscha@zimmer209.eu

Durchgeführt am: 08.03.2013 Abgabe: 21.03.2013

Testiert:		

Inhaltsverzeichnis

1.	Einle	eitung	2
2.	2.2.	orie Abbildungen von Linsen	2 3 4
3.	3.1.	Zeiss-Mikroskop	4 4 5
4.	4.1.	chführung Messungen am Zeiss-Mikroskop	5 5
5.	5.1. 5.2.		6 6 7 8 9
6.	6.1.	Vergleich der Ergebnisse	10 10 11
Α.	Lite	raturverzeichnis	11

1. Einleitung

Ein klassisches Hilfsmittel der Mediziner und Biologen ist das Lichtmikroskop, das stark vergrößerte Bilder von kleinen Objekten erzeugt. Durch die Lichtmikroskopie war es Menschen beispielsweise erstmals möglich, den genauen Körperbau von Bienen zu untersuchen (was dem Italiener Francesco Stelluti 1630 gelang).

In diesem Versuch wollen wir daher die Wirkungsweise des Mikroskops untersuchen und insbesondere sein Auflösungsvermögen bestimmen.

2. Theorie

2.1. Abbildungen von Linsen

Unter einer Linse versteht man ein transparentes optisches Element mit zwei lichtbrechenden Flächen. Für Abbildungen an einer dünnen Linse gilt das $Gau\betasche$ Linsengesetz

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{g} + \frac{1}{b},\tag{1}$$

wobei f die Brennweite der Linse bezeichnet. Die Gegenstandsweite g bezeichnet den Abstand zwischen dem abzubildenden Gegenstand und der Hauptebene der Linse, die Bildweite b bezeichnet analog den Abstand zwischen der Hauptebene der Linse und dem von der Linse erzeugten Bild. [DEM, S. 269 f.]

Bei einer positiven Brennweite f>0 spricht man von einer Sammellinse. Ein in der Brennweite vor der Linse liegender Gegenstand wird in das Unendliche abgebildet. Der Strahlengang einer Sammellinse ist schematisch in Abbildung 1 dargestellt.

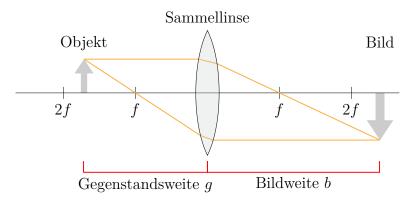


Abbildung 1: Schematischer Strahlengang an einer Sammellinse [LP]

2.2. Mikroskop 2. Theorie

Zur Beschreibung der optischen Wirkung einer Linse definiert man das Verhältnis aus Bildgröße B und Gegenstandsgröße G als Abbildungsmaßstab β . Mit dem Strahlensatz kann man für die Linse angeben

$$\beta = \frac{B}{G} = \frac{b}{q}.\tag{2}$$

Diese Größe ist unabhängig vom Standpunkt eines Beobachters. Man definiert daher die Vergrößerung V als Verhältnis des Sehwinkels ε mit Linse zum Sehwinkel ε_0 ohne Linse in der deutlichen Sehweite $s_0=25\,\mathrm{cm}$. Für kleine Winkel erhält man als Sehwinkel einer Sammellinse $\varepsilon=G/f$ und $\epsilon_0=G/s_0$. Damit ist die Vergrößerung einer Linse durch

$$V = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} = \frac{s_0}{f} \tag{3}$$

gegeben. [GER, S. 495]

2.2. Mikroskop

Ein Mikroskop besteht aus zwei Sammellinsen. Dabei erzeugt die erste Linse (das *Objektiv*) ein reelles Zwischenbild, das zwischen der Brennweite und der Hauptebene der zweiten Linse (dem *Okular*) liegt. Das Okular erzeugt dann eine Vergrößerung dieses Zwischenbildes [GER, S. 494]. In Abbildung 2 ist der Strahlengang in einem Mikroskop schematisch dargestellt.

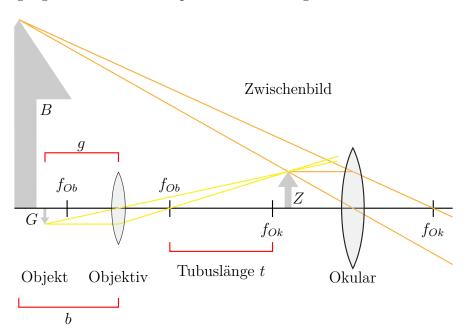


Abbildung 2: Schematischer Strahlengang im Mikroskop [LP]

Die Vergrößerung eines Mikroskops ergibt sich als Produkt der Vergrößerung des Okulars mit dem Abbildungsmaßstab des Objektivs. Nach Gleichung (3) ist die Vergrößerung des Okulars durch $V_2 = s_0/f_{Ob}$ gegeben.

Für das Objektiv berechnen wir die Vergrößerung für den Fall, in dem das Zwischenbild genau in der Brennweite des Okulars erzeugt wird. In dieser Situation ist $V_1 = -Z/G$, wobei Z die Zwischenbildgröße und G die Gegenstandsgröße ist. Das Minuszeichen kommt daher, dass durch das Objektiv das Bild gespiegelt wird. Mit der Tubuslänge t und dem Strahlensatz erhält man $t/B = f_{Ob}/g$ und damit $V_2 = -t/f_{Ob}$. [GER, S. 496 f.]

Insgesamt ergibt sich die Vergrößerung des Mikroskops also zu

$$V = V_1 \cdot V_2 = -\frac{t \cdot s_0}{f_{Ob} \cdot f_{Ok}}.\tag{4}$$

2.3. Auflösungsvermögen

Die Möglichkeit eines Mikroskops, beliebig kleine Strukturen aufzulösen, ist durch Beugung begrenzt. Man führt daher das Auflösungsvermögen als den kleinsten Abstand ein, den zwei Objektpunkte haben können, um durch das Mikroskop gerade noch aufgelöst werden zu können.

Nach dem Rayleighschen Kriterium ist dies genau dann der Fall, wenn das nullte Beugungsmaximum des einen Objekts gerade auf das erste Nebenminimum des anderen Objekts fällt [DEM, S. 342 f.]. Hat das Medium zwischen Objektiv und Okular den Brechungsindex n, so ist der kleinste noch auflösbare Abstand a_{\min} zwischen zwei Objektpunkten gegeben durch

$$a_{\min} = \frac{\lambda}{n \sin \alpha}.\tag{5}$$

Dabei ist α der Öffnungswinkel des Objektivs. Die Größe $N=n\sin\alpha$ bezeichnet man auch als numerische Apertur und definiert mit ihr das Auflösungsvermögen nach [WAL, S. 162] zu

$$A = \frac{1}{a_{\min}} = \frac{n \sin \alpha}{\lambda} = \frac{N}{\lambda}.$$
 (6)

3. Materialien & Methoden

3.1. Zeiss-Mikroskop

In dem Versuch wird ein Mikroskop der Firma Zeiss verwendet. Auf einem Tisch können Objekte eingespannt werden, die von unten über einen Spiegel beleuchtet

werden. Als Beleuchtungsquelle dient uns eine Schreibtischlampe. Das Licht fällt in das Objektiv und von dort über den Tubus in das Okular. Zur Verfügung stehen zwei Okulare, eines mit achtfacher Vergrößerung und eines mit 12,5-facher Vergrößerung. Das Okular mit achtfacher Vergrößerung enthält zusätzlich eine auf die Linse angebrachte Skala.

Anstelle des Tubus, in den die Okulare eingesteckt werden, kann auch ein anderer Tubus eingebaut werden, der eine in der Höhe verschiebbare Mattscheibe enthält.

Zum Zeiss-Mikroskop gehört außerdem ein Objektmikrometer, also einen Objektträger mit einer aufgedruckten Skala, der auf den Objekttisch eingespannt werden kann. Ein Skalenteil (Skt) auf dem Objektmikrometer entspricht dabei nach [LP] gerade 0,5 mm.

3.2. Optische Schiene

Außerdem gehört zu dem Versuch eine optische Schiene, die mit einer Zentimeter-Skala ausgestattet ist. Dazu stehen eine Lampe, ein roter Farbfilter, ein Spalt und ein Tubus mit zwei Linsen zur Verfügung. Außerdem können in den Strahlengang ein Glasmaßstab und ein Plexiglasstab eingesetzt werden. Beide Glasstäbe sind mit einer Skala ausgestattet, deren Strichabstand nach [LP] jeweils 0,5 mm entspricht.

4. Durchführung

4.1. Messungen am Zeiss-Mikroskop

Für beide zur Verfügung stehenden Okulare des Zeiss-Mikroskops haben wir die folgenden Schritte je dreimal durchgeführt. Wir haben das Objektmikrometer am Objekttisch eingespannt und das Bild scharf eingestellt. Dann haben wir den Vergleichsmaßstab auf gleiche Höhe des Objekttisch eingestellt und mit je einem Auge durch das Mikroskop und mit dem anderen Auge auf den Maßstab geschaut, sodass sich die beiden Bilder überlagern und wir die Größe der 1 µm-Markierung oder der $0.5\,\mu$ m-Markierung mit dem Vergleichsmaßstab ausmessen konnten. Anschließend haben wir den Tubus und das Okular entfernt und durch einen Tubus mit verschiebbarer Mattscheibe ersetzt. Die Mattscheibe haben wir so verschoben, dass das Bild des Objektmikrometers scharf ist, und bestimmen die Größe der $2\,\mu$ m-Markierung.

Nachdem diese Schritte also insgesamt sechsmal durchgeführt worden sind, haben wir die verschiebbare Mattscheibe aus dem Tubus entfernt und eine reckteckige Mattscheibe auf den oberen Tubusrand gelegt. Dann haben wir dreimal das

Bild des Objektmikrometers scharfgestellt und die Größe des Bildes der $2\,\mu$ m-Markierung vermessen. Anschließend haben wir den Tubus abgenommen und die Mattscheibe auf das Mikroskop, also an die Stelle des unteren Tubusrand, gelegt. Wieder haben wir dreimal das Bild scharfgestellt und die Größe des Bildes der $4\,\mu$ m-Markierung vermessen. Abschließend haben wir noch die Tubuslänge bestimmt.

Schließlich haben wir den ursprünglichen Tubus wieder eingebaut und das Okular mit der Skala eingesetzt. Dann haben wir die Okularskala an dem Objektmikrometer geeicht. Zuletzt haben wir auf dem Objekttisch ein Haar eingespannt und dreimal auf das Haar fokussiert und an der Okularskala die Größe vermessen.

4.2. Messungen an der optischen Schiene

Auf der optischen Schiene haben wir eine Leuchte, einen Farbfilter, einen Glasmaßstab, einen Spalt und einen Tubus mit Objektiv und Okular aufgebaut. Dann haben wir den Aufbau so eingestellt, dass im Okular der Glasmaßstab scharf dargestellt wird. Anschließend haben wir den Spalt so weit geschlossen, dass die Maßstabteilung gerade nicht mehr aufgelöst werden kann. Den so erhaltenen Abstand von Blende und Glasmaßstab haben wir vermessen.

Dann haben wir den Glasmaßstab entfernt und den Spalt so weit verschoben, dass das Bild des Spaltes im Objekt scharf erscheint. Die Position des Spaltes auf einer Skala neben der Schiene haben wir vor und nach dem Verschieben notiert und so den ursprünglichen Abstand von Spalt und Glasmaßstab erhalten. Schließlich haben wir mit dem Mikrometertrieb des Tubus' die Spaltbreite ausgemessen und die Vergrößerung des Mikroskops notiert.

Nun haben wir den Spalt aus dem Strahlengang entfernt und anstelle des Objekts wieder den Glasstab eingesetzt. Dann haben wir den Aufbau so eingestellt, dass die vordere Seite des Plexiglasstabs (also die ohne Maßstab) scharf im Okular abgebildet wurde. Anschließend haben wir das Okular durch eine Lochblende ersetzt, die an der Position des Zwischenbildes steht. Durch die Blende konnte der Glasmaßstab beobachtet werden. Wir haben die Anzahl sichtbarer Spalte notiert und die Länge des Glasmaßstabes gemessen.

5. Auswertung

 $\overline{6}$

5.1. Vergrößerung des Zeiss-Mikroskops

Der Strahlengang für den Versuchsaufbau mit dem Zeiss-Mikroskop ist schematisch in Abbildung 3 dargestellt.

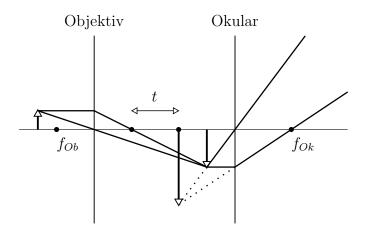


Abbildung 3: Strahlengang am Zeiss-Mikroskop

Aus der Vermessung der Bildgröße des Objektmikrometers am Zeiss-Mikroskop bestimmen wir mit Gleichung (3) die Vergrößerung V des Mikroskops für beide Okulare. Ebenso können wir aus der Messung der Größe des Zwischenbildes an der Mattscheibe die Vergrößerung V_1 des Objektivs bestimmen. Den Fehler erhält man jeweils als Fehler des arithmetischen Mittels.

Nach Gleichung (4) berechnen wir aus diesen beiden Größen die Vergrößerung V_2 des Okulars durch $V_2 = V/V_1$. Der Fehler dieser Berechnung ist nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz durch

$$\sigma_{V_2} = |V_2| \sqrt{\frac{\sigma_V^2}{V^2} + \frac{\sigma_{V_1}^2}{V_1^2}} \tag{7}$$

gegeben. Alle so erhaltenen Werte sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Okular	V	V_1	V_2
8×	70.7 ± 0.7	$9,28 \pm 1,80$	$7,61 \pm 0,17$
$12,5\times$	$110,7 \pm 1,4$		$11,9 \pm 0,3$

Tabelle 1: Berechnung der Vergrößerung des Zeiss-Mikroskops

5.2. Brennweite des Objektivs

Analog zu Abschnitt 5.1 berechnen wir aus der zweiten Messreihe am Zeiss-Mikroskop die Vergrößerung des Objektivs für den Fall, dass die Mattscheibe am oberen Tubusrand lag, zu $V_{\rm oben}=8,65\pm0,08,$ und für den anderen Fall zu $V_{\rm unten}=3,40\pm0,15.$

Nach Gleichung (3) sind die gerade berechneten Vergrößerungen unter der Verwendung der Abbildungsgleichung (1) durch

$$V_{
m oben} = rac{b}{g} = rac{b}{f} - 1,$$
 $V_{
m unten} = rac{b+t}{f} - 1$

gegeben. Die Tubuslänge t haben wir zu $(9,25\pm0,01)\,\mathrm{cm}$ vermessen. Durch Subtraktion und Umstellen erhält man aus diesen beiden Vergrößerungen die Brennweite des Objektivs zu

$$f = \frac{t}{V_{\text{unten}} - V_{\text{oben}}},\tag{8}$$

wobei der Fehler durch

$$\sigma_f = |f| \sqrt{\frac{\sigma_t^2}{t^2} + \frac{\sigma_{V_{\text{unten}}}^2 + \sigma_{V_{\text{oben}}}^2}{\left(V_{\text{unten}} - V_{\text{oben}}\right)^2}} \tag{9}$$

gegeben ist. Wir erhalten also als Brennweite des Objektivs (1.76 ± 0.06) cm.

Alternativ können wir die Brennweite des Objektivs auch aus der in Abschnitt 5.1 bestimmten Vergrößerung des Objektivs mit Gleichung (3) bestimmen. Wir erhalten somit

$$f = \frac{s_0}{V_1} = (2.7 \pm 0.6) \,\text{cm},$$
 (10)

wobei der Fehler nach der Fehlerfortpflanzung gegeben ist durch

$$\sigma_f = \sigma_{V_1} \frac{f}{V_1}.\tag{11}$$

5.3. Dicke des Haares

Aus der Eichung der Okularskala erhalten wir den Umrechnungsfaktor

$$p = \frac{0.5 \,\text{mm}}{(3.3 \pm 0.1) \,\text{Skt}} = (0.152 \pm 0.005) \,\text{mm/Skt}. \tag{12}$$

Damit berechnen wir die Dicke des vermessenen Haares aus der abgelesenen Dicke x zu $d=x\cdot p$ und erhalten $(0.048\pm0.004)\,\mathrm{mm}$, wobei der Fehler gegeben ist durch

$$\sigma_d = \sqrt{x^2 \sigma_p^2 + p^2 \sigma_x^2}. (13)$$

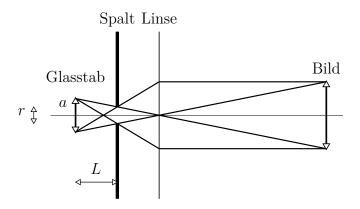


Abbildung 4: Strahlengang bei der optischen Schiene mit Glasmaßstab

5.4. Auflösungsvermögen mit Glasmaßstab

Nun wollen wir das Auflösungsvermögen aus der Messung an der optischen Schiene bestimmen. Dazu hatten wir den Aufbau so eingestellt, dass die Skala des Glasmaßstabes gerade nicht mehr aufgelöst werden konnte. Der Strahlengang bei diesem Versuchsaufbau ist in Abbildung 4 dargestellt. Nach [LP] sind die Skalenteile des Glasmaßstabes gerade $a=0.5\,\mathrm{mm}$, also erhalten wir das Auflösungsvermögen nach Gleichung (6) zu

$$A = \frac{1}{a} = 2/\text{mm}.\tag{14}$$

Andererseits haben wir die Breite des Spalts zu $r=(0.090\pm0.005)\,\mathrm{mm}$ und den Abstand von Spalt und Objekt zu $L=(54.0\pm0.5)\,\mathrm{mm}$ bestimmt. Das verwendete Licht hat nach [LP] die Wellenlänge $\lambda=650\,\mathrm{nm}$. Mit der Definition des minimalen Öffnungswinkels erhalten wir daher nach Gleichung (6)

$$A = \frac{r}{L\lambda} = (2.56 \pm 0.15)/\text{mm},$$
 (15)

wobei wir den Fehler nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz durch

$$\sigma_A = |A| \sqrt{\frac{\sigma_r^2}{r^2} + \frac{\sigma_L^2}{L^2}} \tag{16}$$

berechnet haben.

5.5. Auflösungsvermögen mit Plexiglasstab

Außerdem bestimmen wir das Auflösungsvermögen des Aufbaus, wenn Plexiglas verwendet worden ist. Nach [LP] hat der Plexiglasstab einen Brechungsindex von n = 1,49 und seine Skalenteile die Breite 0,5 mm. Die Breite des Stabes haben wir

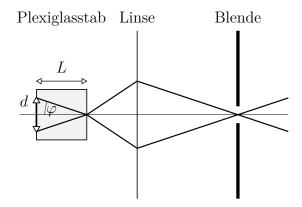


Abbildung 5: Strahlengang bei der optischen Schiene mit Plexiglasstab

zu $L = (5,0 \pm 0,5)$ cm bestimmt. Da wir 10 Spalte sehen konnten, ist die Breite der sichtbaren Fläche d = 5 mm.

Die numerische Apertur können wir also nach Gleichung (6) durch

$$N = n\sin\varphi = n\frac{d/2}{\sqrt{L^2 + d^2/4}}\tag{17}$$

bestimmen, eingesetzt ergibt sich der Wert (0.074 ± 0.008) /mm. Der Fehler ergibt sich nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz zu

$$\sigma_N = \frac{\sigma_L NL}{L^2 + d^2/4}. (18)$$

Damit berechnet sich das Auflösungsvermögen zu

$$A = \frac{N}{\lambda} = (114 \pm 12) / \text{mm}.$$
 (19)

6. Diskussion

6.1. Vergleich der Ergebnisse

Am Zeiss-Mikroskop haben wir für das achtfach vergrößernde Objektiv eine Vergrößerung von 7.61 ± 0.17 (Abweichung $4.9\,\%$) und für das 12.5-fach vergrößernde Objektiv eine Vergrößerung von 11.9 ± 0.3 (Abweichung $10.5\,\%$) bestimmt. Unsere Messergebnisse liegen also jeweils etwas unterhalb der angegebenen Vergrößerungen, die sich auch nicht im Vertrauensbereich unserer Messergebnisse befinden.

Die in Abschnitt 5.2 auf zwei verschiedenen Weisen berechnete Brennweite des Objektivs kann mit keinen Literaturangaben verglichen werden. Allerdings weichen die beiden Messergebnisse stark voneinander ab und liegen auch nicht in den gegenseitigen Fehlerintervallen.

Nach [SKS, S. 8] ist die durchschnittliche Haardicke von Menschen etwas größer als der von uns bestimmte Wert von $(48 \pm 4) \, \mu m$. Allerdings geben [SKS] eine relativ große Standardabweichung an, sodass wir mit unserem Messergebnis zufrieden sein können.

Aus den Messungen an der optischen Schiene erkennt man, dass das Auflösungsvermögen unter Verwendung des Plexiglasstabes deutlich größer ist. Die beiden erhaltenen Werte für das Auflösungsvermögen mit dem Glasmaßstab liegen zwar relativ dicht aneinander, befinden sich aber nicht in den gegenseitigen Vertrauensbereichen.

6.2. Fehlerquellen

Die Messungen an beiden Aufbauten waren teilweise sehr ungenau. Insbesondere die Bestimmung der Spaltbreite, der Vergleich der Skalen im und neben dem Mikroskop und das Vermessen der sehr undeutlichen Bildern auf der Mattscheibe mit einem schwergängigen Messschieber sind daher als ungenau anzunehmen. Auch waren die Bilder aufgrund der starken Verschmutzung der Geräte häufig nur schwer auszumachen.

A. Literaturverzeichnis

- [DEM] Wolfgang Demtröder. Experimentalphysik 2. Elektrizität und Optik. Vierte Auflage. Berlin, 2006.
- [GER] Dieter Meschede. Gerthsen Physik. Dreiundzwanzigste Auflage. Berlin, 2006
- [LP] Lehrportal Physik. Das Mikroskop. Online im Internet: http://lp.uni-goettingen.de/get/text/4277, abgerufen am 07.03.13, 17:22 Uhr.
- [SKS] Johann Szilvässy, Herbert Kritscher, Christine Sekal. Methodische Beiträge zur Struktur- und Pigmentbeurteilung der menschlichen Kopfhaare in der Längseinbettung und im Querschnitt. Online im Internet: http://www.landesmuseum.at/pdf_frei_remote/ANNA_88A_0207-0221.pdf, abgerufen am 11.03.13, 22:43 Uhr.
- [WAL] Wilhelm Walcher. Praktikum der Physik. Achte Auflage. Stuttgart, 2004.