

# Optische Mikroskopie

Benedikt Bausewein, WS 09/10; Katharina Kolb, WS 10/11

## Gliederung

1	Optische Mikroskopie .....	1
2	Verwendungszweck.....	2
3	Vergrößerung .....	2
4	Auflösungsvermögen.....	3
5	Ausblick.....	4

**Einstieg:** Ein Schüler wünscht sich ein Mikroskop zu Weihnachten, er hat auch gleich ein günstiges Mikroskop in einem Prospekt eines Discounters entdeckt:



Abb. 1: Prospekt mit Angebot für ein Mikroskop [6]

Der Schüler fragt seinen Lehrer nach dessen Einschätzung zur Qualität dieses Mikroskops. Der Lehrer gibt ihm Tipps, welche Dinge er beim Kauf beachten muss und erklärt ihm die Funktionsweise.

## 1 Optische Mikroskopie

Ein Mikroskop ist ein Gerät, das es erlaubt, Objekte vergrößert anzusehen oder bildlich darzustellen. Dabei handelt es sich um Objekte, deren Größe meist unterhalb des Auflösungsvermögens des menschlichen Auges liegt. Eine Technik, die ein Mikroskop einsetzt, wird als Mikroskopie bezeichnet. Die physikalischen Prinzipien, die für den Vergrößerungseffekt ausgenutzt werden, können sehr unterschiedlicher Natur sein. Die älteste

bekannte Mikroskopie-Technik ist die Licht-Mikroskopie, die Bilder unter Ausnutzung optischer Effekte erzeugt. Neben der konventionellen Licht-Mikroskopie gibt es eine Vielzahl von lichtmikroskopischen Spezial-Verfahren, wie beispielsweise Phasenkontrast-, Fluoreszenz- und Polarisationsmikroskopie. [8]

## 2 Verwendungszweck

Zunächst ist der Zweck des Mikroskops zu dem es eingesetzt werden soll, wichtig bei der Anschaffung. Es gibt zwei gebräuchliche Techniken, deren Einsatz vom verwendeten Präparat abhängig ist.

**Durchlicht-Technik:** Verwendung für durchsichtige Präparate. Das Licht wird durch das Objekt hindurchgeleitet und vom Objektiv aufgefangen, z. B. bei biologischen Schnitten.

**Auflicht-Technik:** Verwendung für undurchsichtige Präparate. Licht wird durch das Objektiv oder von der Seite auf das Objekt eingestrahlt und von diesem reflektiert, z. B. bei Gesteinen und Metallen.

## 3 Vergrößerung

Ein wichtiges Kriterium für die Leistungsfähigkeit eines Mikroskops ist die Vergrößerungsfähigkeit. Ein Licht-Mikroskop besteht aus mindestens zwei Linsen, dem Okular und dem Objektiv. Es wird daher auch als zusammengesetztes Mikroskop bezeichnet.

Der Strahlen-Gang im Mikroskop verläuft wie folgt: Das vom Objekt kommende Licht wird durch eine Kombination von mindestens zwei Linsen-Systemen, dem Objektiv und dem Okular, optisch abgebildet. Dabei wird vom Objekt durch das Objektiv ein reelles Zwischen-Bild erzeugt, welches durch das Okular analog zur Lupe vergrößert betrachtet wird (Abb. 2).

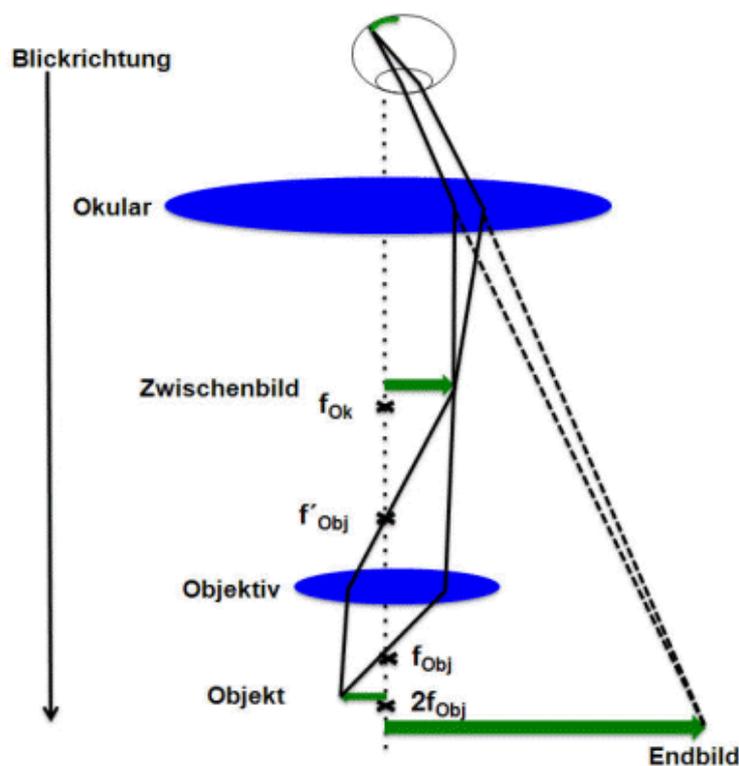


Abb. 2: Der Strahlen-Gang im Mikroskop.

Die Vergrößerung des Mikroskops ist das Produkt aus Objektiv- und Okular-Vergrößerung:

$$V = V_{Ok} * V_{Ob}$$

## 4 Auflösungsvermögen

Die Licht-Strahlen (einer Strahlen-Quelle) die vom Objekt kommen sind „Informationsträger“. Das Objektiv hat einen Öffnungswinkel, welcher mit  $2\alpha$  beschrieben wird. Je größer  $2\alpha$ , desto mehr Licht kann in das Objektiv eindringen. Dies hat zur Folge, dass der Gegenstand besser aufgelöst ist.

Das Auflösungsvermögen wird durch die numerische Apertur bestimmt. Die numerische Apertur (NA) ist das Produkt aus dem Sinus des halben Öffnungswinkels des Objektivs „ $\alpha$ “ und dem Brechungsindex „ $n$ “ des Mediums zwischen Deckglas und Front-Linse des Objektivs der Umgebung:

$$NA = n \cdot \sin \alpha$$

Zudem ist das Auflösungsvermögen von der Wellen-Länge des verwendeten Lichts „ $\lambda$ “ abhängig. Somit ergibt sich folgende Formel für das Auflösungsvermögen „ $d$ “:

$$d = \frac{\lambda}{2 \cdot NA}$$

Um das Auflösungsvermögen zu verbessern, muss erreicht werden, dass das Objektiv mehr Licht auffangen kann. Dies gelingt durch den Einsatz von Immersionsmedien in Kombination mit Immersionsobjektiven. Immersionsmedien verringern die Brechung und ermöglichen so, dass das Objektiv mehr Licht auffangen kann. Bei einem Trocken-Objektiv wird der Licht-Strahl durch die Brechung an der Phasen-Grenze (Deckglas-Luft) vom Lot weggebrochen. Der Strahl geht also als "Informationsträger" verloren. Luft hat den Brechungsindex  $n = 1$  und somit ist die numerische Apertur immer kleiner als 1 (Abb. 3). Sie kann Werte größer als 1 annehmen, wenn der Raum zwischen Probe und Objektiv mit einer Immersionsflüssigkeit gefüllt wird, deren Brechungsindex größer ist als 1 (3). Hierzu gibt man beispielsweise einen Tropfen Öl (Brechungsindex = 1,5) auf das Deckglas und taucht das Objektiv in diesen Tropfen ein. Mikroskop-Immersionsobjektive besitzen eine numerische Apertur von 1,3 bis 1,4. Sie finden Einsatz bei der Darstellung von Gewebe-Strukturen, Zellen und Organellen.

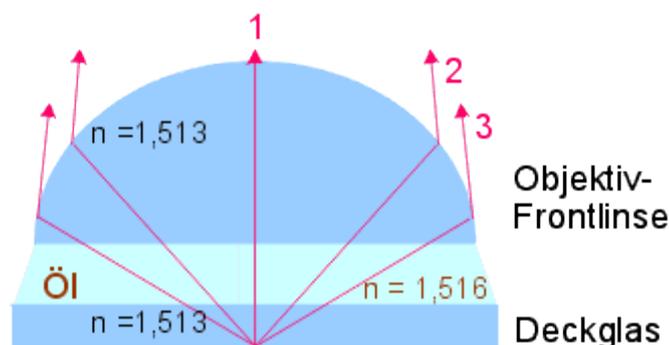


Abb. 3: Immersionsobjektiv [8].

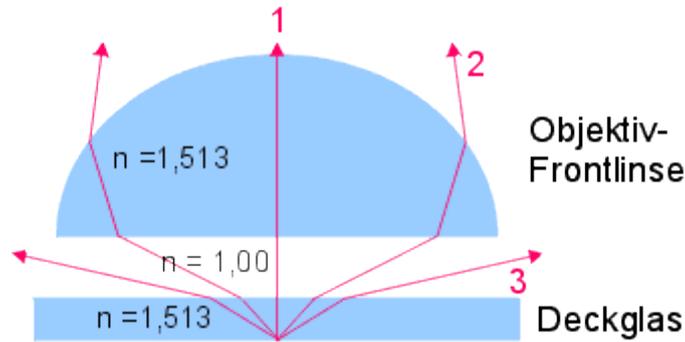


Abb. 4: Trocken-Objektiv [7]

## 5 Ausblick

Es gibt weitere Techniken, die es ermöglichen das Auflösungsvermögen noch weiter zu verbessern.

**Fluoreszenz-Mikroskop:** Im zu untersuchenden Präparat befinden sich fluoreszierende Stoffe, Fluorochrome, die durch Licht bestimmter Wellen-Längen angeregt werden können und dann wieder Licht anderer Wellen-Längen emittieren. Diese können nun im selben Strahlen-Gang optisch getrennt werden (Abb. 5).

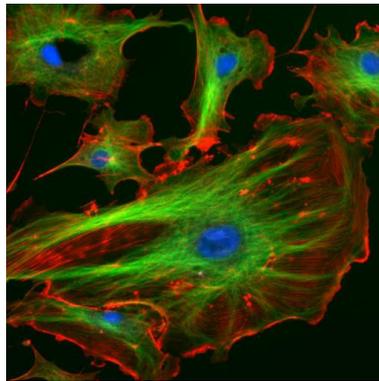


Abb. 5: Endothel-Zellen unter dem Fluoreszenz-Mikroskop [9].

**Elektronen-Mikroskop:** Beim Elektronen-Mikroskop wird die, im Vergleich zu sichtbarem Licht, sehr viel kleinere Wellen-Länge von Elektronen ausgenutzt, um so eine höhere Auflösung zu erreichen.

*Wichtige Faktoren, die über die Qualität eines Mikroskops entscheiden, sind die Vergrößerungsleistung und das Auflösungsvermögen. Um eine Verbesserung der Auflösung zu erreichen, können Immersionsobjektive eingesetzt werden. Für den einfachen häuslichen Schüler-Gebrauch und zum Einstieg in die Welt der Mikroskopie sind günstige Mikroskope oft ausreichend. Hochwertige Mikroskope findet man aber nicht beim Discounter, sondern am ehesten bei bekannten Herstellern, wie z. B. Zeiss. Eine Alternative stellt zudem ein Preis- und Leistungsvergleich im Internet dar, z. B. auf <http://www.ehlert-partner.de>.*

## Quellen:

1. Gerlach, Das Lichtmikroskop, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976
2. Göke, Moderne Methoden der Lichtmikroskopie vom Durchlicht-Hellfeld- bis zum Lasermikroskopie, Kosmos-Wissenschaft, Stuttgart 1988
3. Schade, Lichtmikroskopie, 2. Auflage, Verlag Moderne Industrie, Landsberg/Lech 2001
4. Stöcker, Taschenbuch der Physik, 5. Auflage, Wissenschaftl. Verlag H. Deutsch, Frankfurt 2005
5. Stuart/Klages, Kurzes Lehrbuch der Physik, 18. Auflage, Springer Verlag, Berlin 2006
6. <http://www.mikrocontroller.net/attachment/19107/Scannen0006.jpg>; (01.11.2009)
7. <http://www.mikroskopie.de/kurse/grafiken/numaper/trockenobjektiv.gif>; (01.11.2009)
8. <http://www.mikroskopie.de/kurse/grafiken/numaper/immersionsobjektiv.gif>; (03.11.2009)
9. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/09/FluorescentCells.jpg>; (03.11.2009)
10. <http://de.wikipedia.org/wiki/Lichtmikroskopie>; (03.11.2009)
11. <http://www.physik.uni-regensburg.de/forschung/schwarz/Mikroskopie/01-OptMikroskopie.pdf> (29.01.2011) (Quelle verschollen; 08.07.2020)