

# Versuch 413

## Abbesche Theorie

### 1. Aufgaben

- 1.1 Untersuchen Sie das Auflösungsvermögen des Mikroskops für drei verschiedene Objektive jeweils für rotes und blaues Licht. Vergleichen Sie die kleinsten experimentell noch auflösbaren Gitterkonstanten eines Testobjektes mit den entsprechenden theoretischen Werten.
- 1.2 Manipulieren Sie das Beugungsbild verschiedener Transmissionsobjekte mittels Blenden und beobachten Sie deren Auswirkung auf das reelle Bild.
- 1.3 Beobachten Sie die Kontrastverstärkung bei der Abbildung eines Phasenobjektes mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens.
- 1.4 Führen Sie numerische Simulationen der optischen Abbildung am PC durch.

### 2. Grundlagen

Stichworte:

Strahlengang im Mikroskop, Vergrößerung, Auflösungsvermögen, numerische Apertur, Immersionsobjektive, Hell- und Dunkelfeldabbildung, Phasenkontrastverfahren, Fourieroptik

#### 2.1 Abbesche Theorie

Infolge der Wellennatur des Lichtes können mit einem Mikroskop auch bei hohen Vergrößerungen nur solche Objekte beobachtet werden, die nicht wesentlich kleiner als die Wellenlänge des verwendeten Lichtes sind. Der Jenaer Universitätsprofessor und Physiker Ernst Abbe untersuchte Ende des vorigen Jahrhunderts die beugungstheoretischen Grundlagen der optischen Abbildung. Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen waren die Erkenntnisse über die kleinsten mit dem Mikroskop auflösbaren Objektstrukturen. Abbes Methoden wurden darüber hinaus zur Grundlage für die Weiterentwicklung mikroskopischer Techniken (z.B. Phasenkontrast) und für die optische Filterung.

Wir betrachten die Abbildung eines Transmissionsgitters mit Hilfe einer Sammellinse Objektiv. Lage und Abbildungsmaßstab  $V$  des reellen Bildes ergeben sich aus den Gesetzen der geometrischen Optik (Bild 1, gepunkteter Strahlengang).

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

Hiernach kann man die Vergrößerung steigern, indem man das Objekt immer näher an die vordere Brennebene des Objektives rückt. Dabei werden aber nicht gleichzeitig auch immer feinere Strukturen des Objektes sichtbar. Beim Transmissionsgitter leidet

die Konturenschärfe, und feinere Unregelmäßigkeiten bleiben ab einer bestimmten Größe verborgen. Zur Erklärung dieses Sachverhaltes müssen wir die Beugung des Lichtes an den Objektstrukturen untersuchen. Wir betrachten den Spezialfall der Fraunhofer-Beugung, bei dem das Objekt mit einer ebenen Welle beleuchtet wird und das Beugungsbild im Unendlichen entsteht. Da sich hinter dem Objekt eine abbildende Linse befindet, entsteht das Beugungsbild in der bildseitigen Brennebene dieser Linse Bild 1. Für das Transmissionsgitter bilden sich in Abhängigkeit von Gitterkonstante  $a$  und Wellenlänge  $\lambda$  Interferenzmaxima in bestimmte Richtungen  $\alpha$  aus, die durch die Gittergleichung

$$a \cdot \sin \alpha = m \cdot \lambda \quad ; \quad m = \pm 1, \pm 2 \dots \quad (2)$$

bestimmt sind. Alles Licht, das vom Objekt in diese Richtung gebeugt wird, wird von der Linse in der hinteren Brennebene in einem Punkt (P) gesammelt. Kleinere  $a$  führen zu größeren Beugungswinkeln  $\alpha$  und damit zu achsenferneren Punkten P.

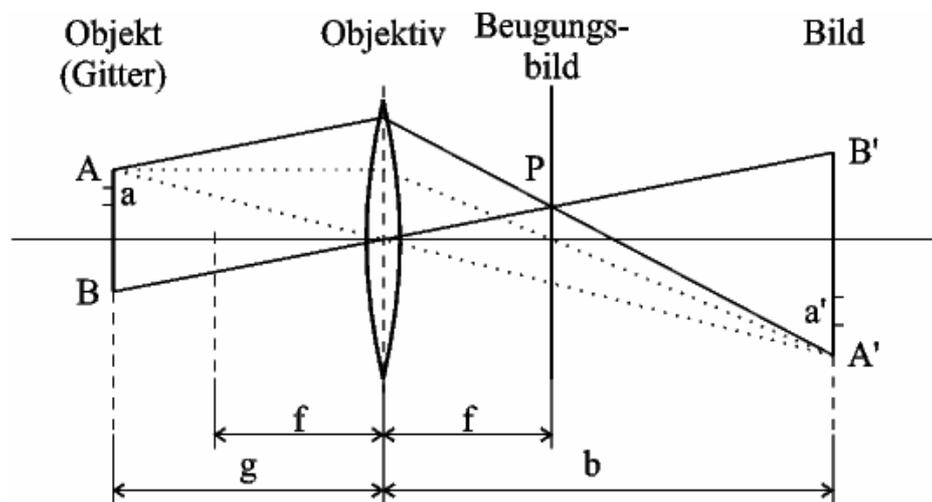


Bild 1: Zur Entstehung von Bild (gepunkteter Strahlengang) und Beugungsbild (durchgezogener Strahlengang) bei der optischen Abbildung

Die Intensität der verschiedenen Beugungsordnungen  $m$  wird durch die Form des Transmissionsverlaufes des Objektes bestimmt. Insbesondere erhält man bei räumlich sinusförmigem Verlauf nur Beiträge für  $m = \pm 1$ . Für ein Objekt mit periodischen Rechtecktransmissionsprofil wird die gebeugte Intensität so auf die einzelnen Beugungsordnungen verteilt, wie es der Fourierzerlegung einer Rechteckschwingung im Zeitraum entspricht. Mit Hilfe der Beugungstheorie kann man ganz allgemein zeigen, daß das *Fraunhofer'sche Beugungsbild der räumlichen harmonischen Analyse des Objektes entspricht* (harmonische Analyse = Fourieranalyse; die Fourieroptik macht von diesem wichtigen Zusammenhang Gebrauch). Das wird anschaulich verständlich, wenn man den Strahlengang für das Beugungsbild (durchgezogene Linien in Bild 1) betrachtet. Im Punkt P wird nur das Licht gesammelt, das von einem beliebigen Punkt des Objektes in eine durch die Raumfrequenz  $f_R = 1/a$  ( $a$ -Gitterkonstante) bestimmte Richtung gebeugt wird. Das Beugungsbild enthält die gleiche Information wie das reelle Bild. Die Information liegt separiert nach einzelnen Raumfrequenzanteilen vor (*Ortsfrequenzspektren*).

**Jede Manipulation am Beugungsbild mittels Blenden oder Filter wirkt sich auf die entsprechenden Strukturen im Bild aus.**

Diesen Sachverhalt nutzt man bei der optischen Filterung, wo bestimmte Objektstrukturen (z.B. Raster) bei der Abbildung unterdrückt oder auch hervorgehoben (z.B. Luftbildauswertung) werden können. Im Praktikumsversuch beobachten Sie u.a. Liniengitter mit Defekten, d.h. Störungen in der periodischen Struktur der untersuchten Gitter (z.B. Ausbrüche). Diese Störungen rufen Abweichungen vom idealen Beugungsbild hervor. Überlegen Sie, wie sich diese Abweichungen auswirken und wie man sie unterdrücken kann.

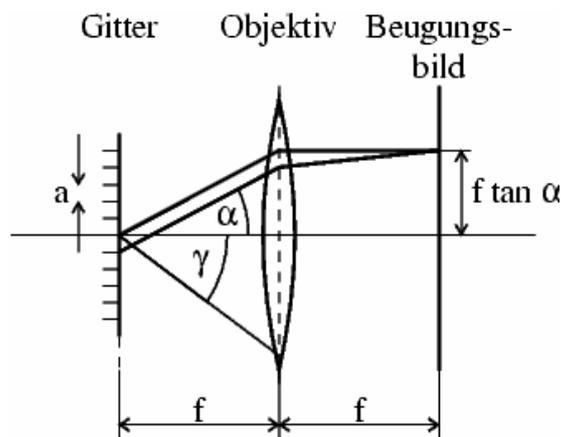


Bild 2: Zur Grenzauflösung bei der optischen Abbildung

Die Information über eine bestimmte Objektstruktur der Breite  $a$  kann vom Objektiv nur dann übertragen werden, wenn wenigstens ihr Beugungswinkel in erster Ordnung kleiner oder gleich dem halben Öffnungswinkel  $\gamma$  des Objektivs ist (s. Bild 2). Berücksichtigt man, daß das Medium zwischen Objekt und Linse die Brechzahl  $n$  ( $n \geq 1$ ) haben kann (Immersion) so erhält man aus der Gittergleichung leicht die bekannte Abbe'sche Beziehung für die kleinste auflösbare Objektstruktur  $a_{\min}$

$$a_{\min} = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \gamma} = \frac{\lambda}{A} \quad (3)$$

Die Größe  $A = n \sin \gamma$  bezeichnet man als numerische Apertur des Objektivs. Für die numerische Apertur werden Werte bis zu 1,35 erreicht. Bei Verwendung einer Immersionsflüssigkeit, die die gleiche Brechzahl  $n$  wie das Deckglas und die angrenzende Objektivlinse haben soll, sind Werte bis  $A = 1,5$  möglich.

Beispielsweise erhält man mit Licht der Wellenlänge  $\lambda = 0,5 \mu\text{m}$  und  $A = 1,35$  den kleinsten auflösbaren Abstand benachbarter Punkte zu  $g_{\min} = 0,37 \mu\text{m}$ , also etwa dreiviertel der Lichtwellenlänge.

## 2.2. Versuchsaufbau

Zur Untersuchung dieser Zusammenhänge dient ein Versuchsaufbau nach Bild 3. Das Objekt wird mit einem He-Ne-Laser beleuchtet, dessen Ausgangsstrahl genügend intensiv ist und der Forderung nach einer ebenen Welle hinreichend gut entspricht. Als Objekte stehen Ihnen verschiedene Transmissionsgitter und auch Phasenobjekte zur Verfügung. Als Objektiv dient eine einfache Sammellinse, in deren hinterer Brennebene das Beugungsbild entsteht, welches mit Hilfe verschiedener justierbarer Blenden manipuliert werden kann. Das Projektiv erzeugt ein reelles vergrößertes Bild des Objektes über das Zwischenbild auf dem Schirm. Das Beugungsbild wird ebenfalls mit einer Linse auf den Schirm abgebildet, so daß man gleichzeitig die Manipulationen am Beugungsbild und deren Auswirkungen auf das reelle Bild des Objektes verfolgen kann.

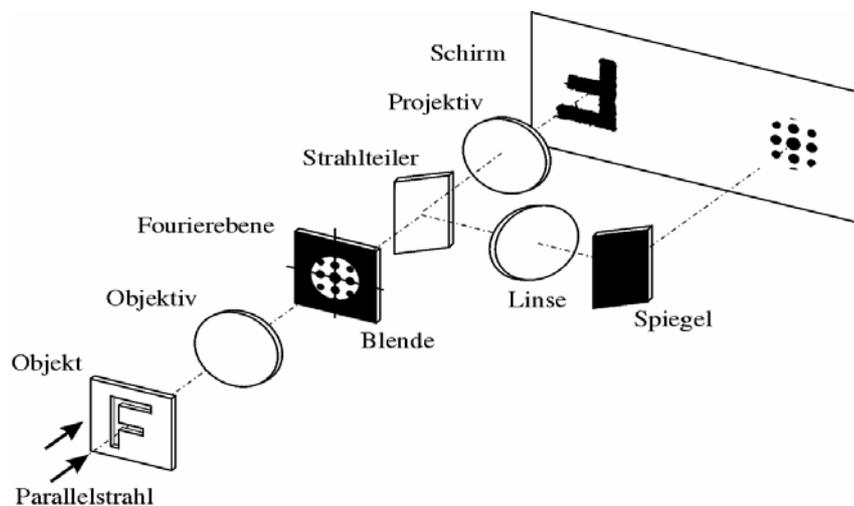


Bild 3: Schema der Versuchsanordnung

Tabelle 1 listet gängige Mikroskopierverfahren und die dabei typischen Eingriffe in die Fourier-Ebene des Objektes auf.

<b>Hintere Objektiv-Brennebene</b>	<b>Bildebene</b>	<b>Verfahren</b>
0. Maximum	keine Auflösung der Objektstruktur	Hellfeld
0. Maximum + alle wesentlichen Nebenmaxima	Auflösung nur der Amplitudenstruktur hohe Objekttrue	Hellfeld
0. Maximum um $\pi/2$ gedreht + alle wesentlichen Nebenmaxima	Auflösung nur der Phasenstruktur hohe Objekttrue	Phasen kontrast
0. Maximum + einseitige Nebenmaxima	Auflösung von Phasenstrukturen, keine vollständige Objekttrue	schräges Hellfeld
einseitiges Nebenmaxima	geringe Auflösung von Phasenstrukturen, geringe Objekttrue	schräges Dunkelfeld
beiderseitige Nebenmaxima (ohne 0. Maximum)	geringe Auflösung von Phasenstrukturen, geringe Objekttrue	Dunkelfeld

Tabelle 1: Erläuterung zur Abbeschen Theorie

### 3. Versuchsdurchführung

Der Versuchsablauf besteht aus drei unterschiedlichen Teilen.

- Zuerst arbeiten Sie an einem kommerziellen Transmissions-Mikroskop, dessen Aufbau Sie dabei kennenlernen, und führen dort die Aufgabe 1.1 durch.
- Danach untersuchen Sie die Auflösungsproblematik (Abbesche Theorie) auf einer optischen Bank, mit der der Strahlengang im Mikroskop nachvollzogen werden kann. Hier werden die Aufgaben 1.2 und 1.3 durchgeführt.
- An einem PC verfolgen Sie unter Anleitung Ihres Betreuers die numerische Simulation der optischen Abbildung mittels einer Linse unter Benutzung eines Fouriertransformationsprogrammes. Sie können dabei den Einfluß der numerischen

Apertur auf das Ortsfrequenzspektrum (d.h. auf die Lichtverteilung in der Objektivbrennebene) sowie auf die Bildqualität (d.h. Kantenschärfe, Kontrast) für einige reale Objekte studieren.

3.1 Zur Untersuchung des Auflösungsvermögens wird das Objekt „Auflösungstest“ (Bild 4) benutzt. Verwenden Sie Metallinterferenzfilter zur Beleuchtung mit rotem bzw. blauem Licht. Regeln Sie gegebenenfalls die Lampenhelligkeit und die Fokussierung nach.

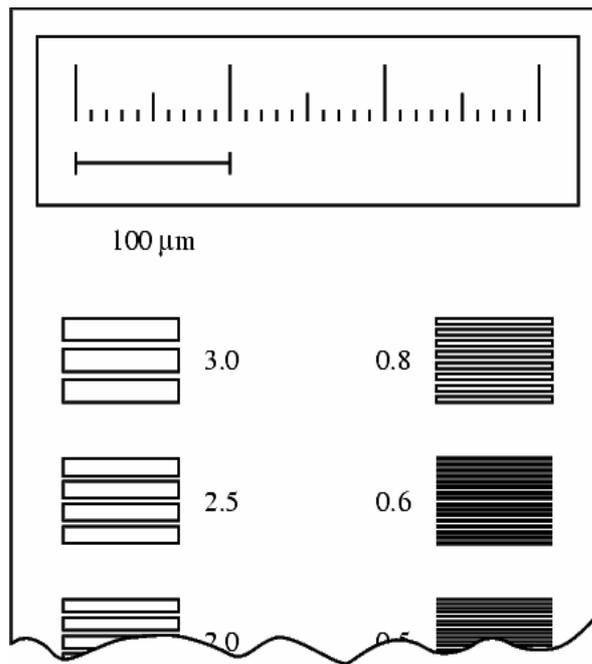


Bild 4: Aufbau des Objektes „Auflösungstest“

Die Zahlenangaben neben den Testfeldern entsprechen den Stegbreiten des Gitters in µm. Das Steg/Spalt-Verhältnis beträgt 1:3, demzufolge ist die Gitterkonstante jeweils das 4-fache der Stegbreite.

3.2 Nutzen Sie für Ihre Beobachtungen folgende Objekte und Blenden

- |                         |   |   |
|-------------------------|---|---|
| 1) Strichgitter:        | - | Iris-Blende zum Ablenden der höheren Beugungsordnungen                    |
|                         | - | Lochblenden (zum Ausblenden der geraden oder ungeraden Beugungsordnungen) |
|                         | - |   |
| 2) Kreuzgitter:         | - | rotierbare Schlitzblende  |
|                         | - |   |
| 3) Gitter mit Defekten: | - | rotierbare Schlitzblende  |
|                         | - | Stegblende  |

- 3.3 Für die Abbildung des Phasenobjektes setzen Sie in die Objektivbrennebene eine transparente Scheibe, die an der Stelle des nullten zentralen Beugungsmaxims ein Loch hat. Kontrastverstärkung tritt auf, wenn der optische Wegunterschied zwischen Loch und Scheibe ein ungeradzahliges Vielfaches von  $\lambda / 4$  ist.
- 3.4 Dieser Versuchsteil wird unter Anleitung durchgeführt! Die Beobachtungen lassen sich als Hoch- oder Tiefpaßfilterung beschreiben (Vergleich Frequenzgänge von elektrischen RC-Gliedern).

**Literatur :**

/1/, /7/ und Francon, M.; Moderne Anwendung der physikalischen Optik  
Akademie-Verlag 1971

Simulationen und Applets zur Mikroskopie finden Sie im Internet, z.B. unter:

*<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/anatomy/anatomy.html>*

*<http://www.microscopyu.com/articles/phasecontrast/phasehome.html>*