

1. Vorlesung Mikroskopische Bildgebung

Wahlpflichtmodul 9522: EI-M im 1. und 3. Fachsemester

1. Organisatorisches

Ulf-Dietrich Braumann, Prof. Dr.-Ing.

Biotronische Systeme
Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik
Hochschule für Wirtschaft, Technik und Kultur Leipzig
Wächterstraße 13
04107 Leipzig
Zimmer 111.1
Tel. 3076-1299
braumann@htwk-leipzig.de

und

Interdisziplinäres Zentrum für Bioinformatik
Medizinische Fakultät
Universität Leipzig
Härtelstraße 16-18
04107 Leipzig
Zimmer 440.1
Tel. 97-16656
braumann@uni-leipzig.de

und

Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie
Fachgruppe "Zell-funktionale Bildanalyse"
Perlickstraße 1
04103 Leipzig
Tel. 35536-5403
ulf-dietrich.braumann@izi.fraunhofer.de

Studentinnen und Studenten

14EI/AT-M; 14EI/MET-M; 14EI/EET-M; 14EI/KTB-M; 14EI(A)/AT-M; 14EI(A)/EET-M;
15EI/AT-M; 15EI/MET-M; 15EI/EET-M; 15EI/KTB-M;

Bitte um Namensliste mit Email-Adressen

Vorlesungen - Seminarraum W107

KW 42: Freitag, 16. Oktober 2015, 12:00-15:15: 1. Vorlesung - Übersicht, Einführung, Grundbegriffe, Aufrechtes Durchlichtmikroskop (Stativ, Objektive)

KW 44: Freitag, 30. Oktober 2015, 12:00-15:15: 2. Vorlesung - Aufrechtes Durchlichtmikroskop (Okulare, Kameras), Aufrechtes Auflichtmikroskop und inverses Mikroskop

KW 46: Freitag, 13. November 2015, 12:00-15:15: 3. Vorlesung - Kontrastierverfahren (Hellfeld, Schiefe Beleuchtung), Kontrastierverfahren (Dunkelfeld, Phasenkontrast, Polarisierung, Diff. Interferenz, Fluoreszenz)

KW 48: Freitag, 27. November 2015, 12:00-15:15: 4. Vorlesung - Präparationsmethoden, Färbemethoden

KW 50: Freitag, 11. Dezember 2015, 12:00-15:15: 5. Vorlesung - Konfokalmikroskopie, Zwei-Photonen-Mikroskopie

KW 1: Freitag, 8. Januar 2015, 12:00-15:15: 6. Vorlesung - Stimulated Emission Depletion Microscopy, Höchstaufklärung durch Eingriffe in Beleuchtungsgeometrie, Raman-Mikroskopie

KW 3: Freitag, 22. Januar 2015, 12:00-15:15: 7. Vorlesung - Lichtblattmikroskopie, Elektronenmikroskopie

In ausgewählten Vorlesungen freuen wir uns über Gastdozenten:

Dr. med. Daniel-Christoph Wagner (Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie, Leipzig),

Dr. med. Alexander Kranz (Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie, Leipzig)

Dr. rer. med. Nico Scherf (Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Dresden)

Übungen (Praktika) - W108 - meist aber Abweichungen, da wir Labors an der Uni und im Fraunhofer IZI aufsuchen werden!

KW 43: Freitag, 23. Oktober 2015, 12.00 - 15.15: 1. Übung - Durchlichtmikroskopie

KW 45: Freitag, 6. November 2015, 12.00 - 15.15: 2. Übung - t.b.a.

KW 47: Freitag, 20. November 2015, 12.00 - 15.15: 3. Übung - t.b.a.

KW 49: Freitag, 4. Dezember 2015, 12.00 - 15.15: 4. Übung - t.b.a.

KW 51: Freitag, 18. Dezember 2015, 12.00 - 15.15: 5. Übung - t.b.a.

KW 2: Freitag, 15. Januar 2016, 12.00 - 15.15: 6. Übung - t.b.a.

KW 4: Freitag, 29. Januar 2016, 12.00 - 15.15: 7. Übung - t.b.a.

Auch für die Praktika werden wir u.a. mit Dr. Kranz zusammenarbeiten.

Belegarbeiten

KW 43: ab Freitag, 23. Oktober 2015: Themenausgabe in der Übung

KW 3: Freitag, 22. Januar 2016: Frist zur Abgabe

Prüfungsart

Prüfung 30min mündlich pro Person (u.a. Vorstellung der Belegarbeit), geplant in der KW 4 am Freitag, 29. Januar 2016 ab 12Uhr (bei Bedarf auch Termine am 28. Januar 2016)

Aufwand und Umfang

5 ECTS-Punkte, 60h für Präsenzstudium, je 30h für Selbststudium und Belegbearbeitung

Website für Skripte, Übungsaufgaben und evtl. Literatur

website

website // Last

Web-Server Mikroskopische Bildgebung im WS 2015/16

http://izbifs.izbi.uni-leipzig.de/~braumann/HTWK/Mikroskopische_Bildgebung/

Initialisierung

2. Übersicht

Worum geht es - Gegenstand und Anwendungen

Thematischer Überblick

1. Strahlengang, optische Abbildung, Brechungsgesetz, Beugung, Aberrationen
2. Bauformen optischer Mikroskope
3. Färbungen zytologischer und histologischer Präparate
4. Grundlegende Kontrastverfahren
5. Erweiterungen lichtoptischer Verfahren
6. Weitere und spezielle Modalitäten

Begriffsbestimmung

μικρος klein

σκοπειν betrachten

Historie

- spätes 16./beginnendes 17. Jahrhundert:

Holländischer Brillenmacher Janssen erreicht einen Abbildungsmaßstab zwischen 3:1 und 9:1 mit zwei Linsen

3:1 und

- beginnendes 19. Jahrhundert:

u.a. Joseph Fraunhofer fertigt Objektive mit Luftspalt, die Farbabweichungen mindern

- 1857: "Stativ 1" von Carl Zeiss
- ab 1872: Ernst Abbe stellt 17 neue Objektivtypen vor
- 1884: Glastechnisches Laboratorium (Otto Schott, Ernst Abbe, Gebrüder Zeiss)
- 1893: August Köhler formuliert Regeln für richtige Beleuchtung



beginnendes 19. Jhdt.



"Stativ 1"

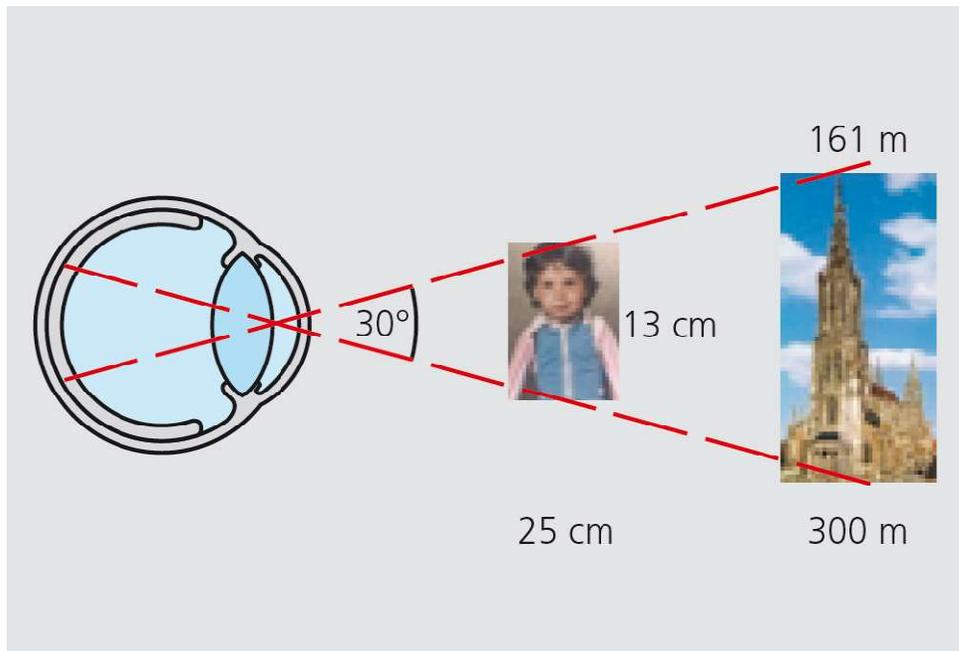


ausgehendes 19. Jhdt.

Wozu Mikroskope?

Auflösungsvermögen des menschlichen Sehsystems i.W. begrenzt durch

- physische Grenze der Anpassung (Akkommodation) der Augenlinse (bestimmte Gegenstandsweite nicht unterschreitbar)
- Dichte der diskreten Rezeptoren auf der Netzhaut (getrennte Wahrnehmung von Details)



Einsatzgebiete von Mikroskopen

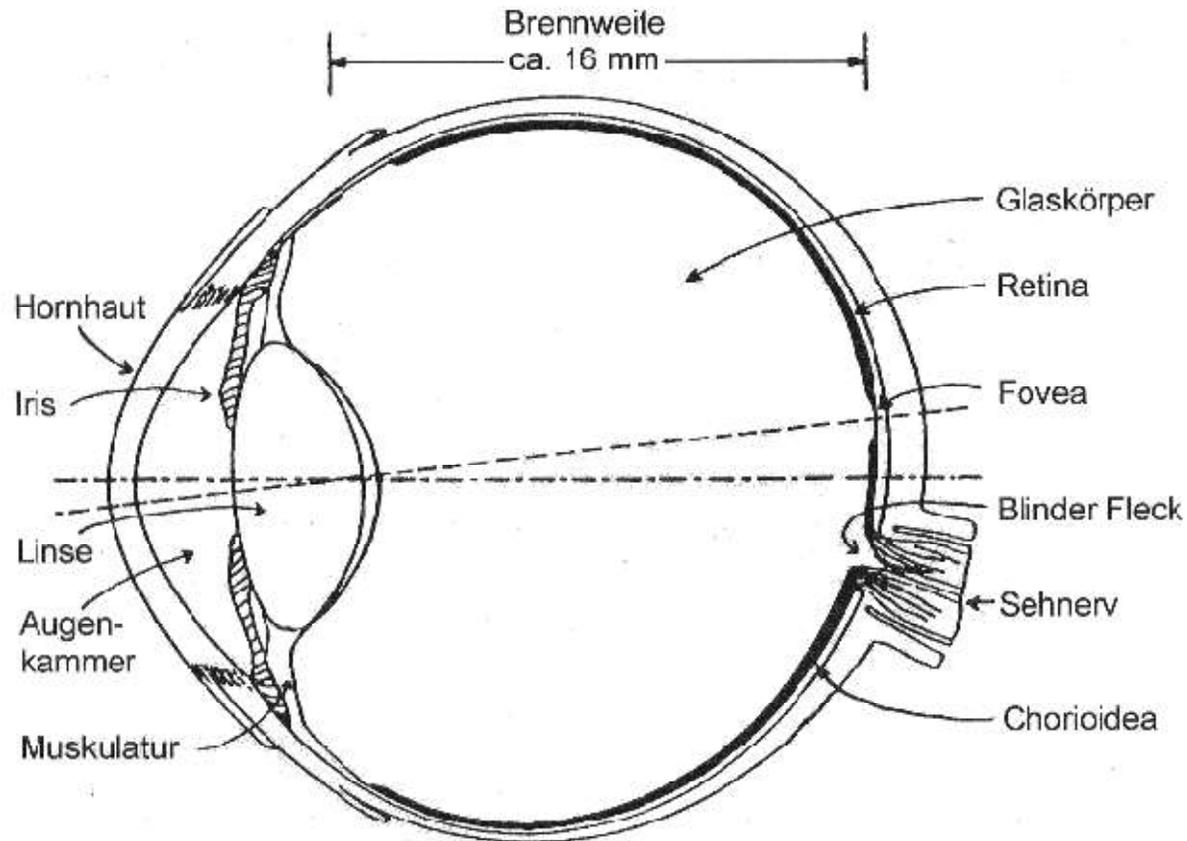
- Biomedizinische Anwendungen
- Klinische Diagnostik
- Materialwissenschaften

Literaturvorschläge

- Jörg Haus: Optische Mikroskopie - Funktionsweise und Kontrastierverfahren, Wiley-VCH, 2014.
- Maria Mulisch und Ulrich Welsch: Romeis - Mikroskopische Technik. Spektrum Akademischer Verlag, 2010
- Hans-Georg Kapitzka: Mikroskopieren von Anfang an. Carl Zeiss, 2. Auflage, 1997
- Peter W. Hawkes, John C.H. Spence: Science of Microscopy, Springer-Verlag, 2007

3. Einführung, Grundbegriffe

Aufbau des Auges



Die Netzhaut (Stärke 0.2 mm) stellt im Auge den primären Bildwandler dar

- sie weist eine uneinheitliche Verteilung von zwei Arten von Sinneszellen (Photorezeptoren) auf
- ~ 5 Millionen Zapfen sind beim Tagsehen (photopische Sehen) aktiv
- ~ 100 Millionen hochempf. Stäbchen beim Dämmerungssehen (mesopisches Sehen) und Dunkelsehen (skotopisches Sehen)
- ausschließlich Zapfen in Fovea Centralis (Ort des schärfsten Sehens im Zentrum des Gelben Flecks – macula lutea)
- in Berandung der Fovea weisen die Stäbchen ihre höchste Dichte auf

- Zapfen liegen mit drei verschiedenen spektralen Empfindlichkeitsbereichen (Trichromasie) vor : L M S (Zahlenverhältnis 6 : 6 : 1)
- Stäbchen hingegen mit nur einen (Monochromasie).

Kleines groß: Die Lupe

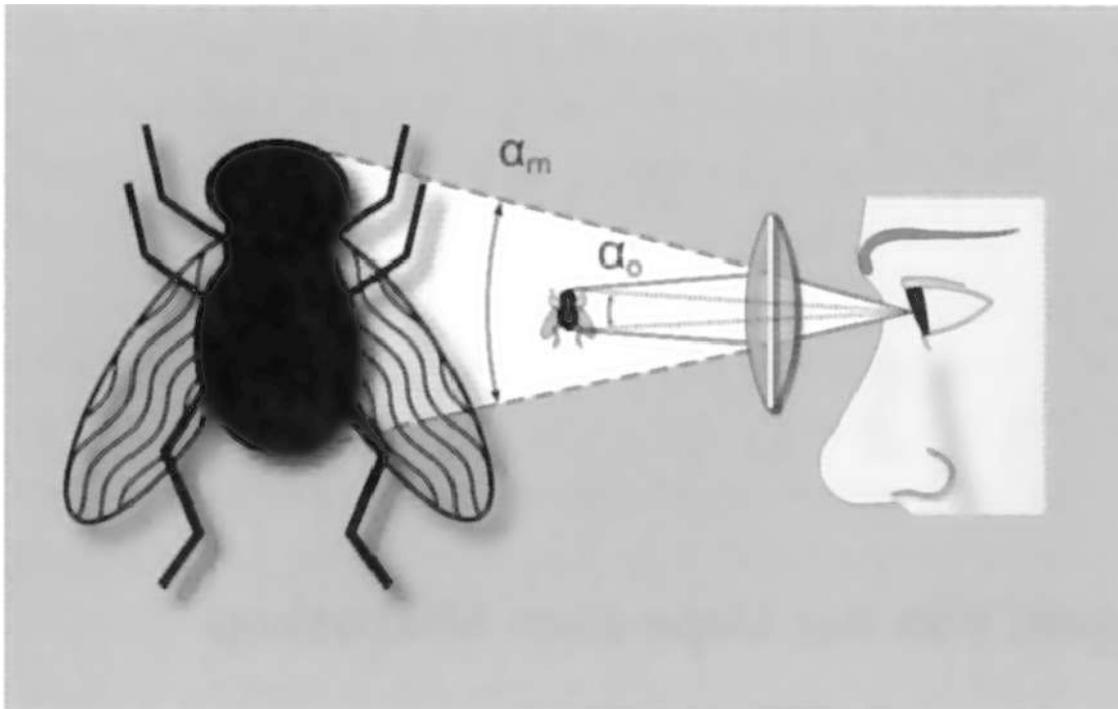


Lupen-Vergrößerung ↔ Sehwinkel-Vergrößerung

$$M = \frac{\alpha_m}{\alpha_o} \text{ Sehwinkelverhältnis mit/ohne Instrument}$$

unter Annahme kleiner Sehwinkel:

$M = \frac{\tan[\alpha_m]}{\tan[\alpha_o]} = \frac{s_o}{F}$ mit s_o , Sehweite ohne Instrument; s_o mit 250 mm festgelegt (sog. deutliche Sehweite, Objekt im Brennpunkt)
Brennpunkt)



im dargestellten Fall ist das Objekt zwischen Linse und Brennpunkt;
falls das Objekt im Brennpunkt liegen würde, würde es als im Unendlichen liegend wahrgenommen,
so daß sich das Auge unabhängig vom Abstand zur Lupe akkomodieren könnte.

Es gilt :

h_m und h_o als Bildgrößen mit / ohne Instrument

s_m und s_o als Sehweiten (vom Auge zum Bild / Objekt) mit / ohne Instrument

s_i als Abstand zwischen Auge und Instrument

F als Brennweite

$(s_m - s_i)$ als Bildweite

$$M = \frac{\tan[\alpha_m]}{\tan[\alpha_o]} = \frac{h_m}{s_m} \cdot \frac{s_o}{h_o}$$

Das Verhältnis ist $\frac{h_m}{h_o}$ entspricht dem Verhältnis $\frac{s_m - s_i}{s_o - s_i}$.

Die Abbildungsgleichung für virtuelle Bilder lautet hier: $\frac{1}{F} = \frac{1}{s_o - s_i} + \frac{1}{s_i - s_m}$.

$$\frac{h_m}{h_o} \text{ kann dann ausgedrückt werden als } (s_m - s_i) \cdot \left(\frac{1}{F} + \frac{1}{s_m - s_i} \right) = \frac{s_m - s_i}{F} + 1$$

$$\text{Somit gilt } M = \frac{s_o}{s_m} \cdot \left(\frac{s_m - s_i}{F} + 1 \right)$$

Bei Positionierung des Objekts im Brennpunkt wird $s_m = \infty$, woraus sich ergibt $M = \frac{s_o}{F}$

lens type

converging

diverging

+

focal length ▣ 1.5

coordinates

ray 1

ray 2

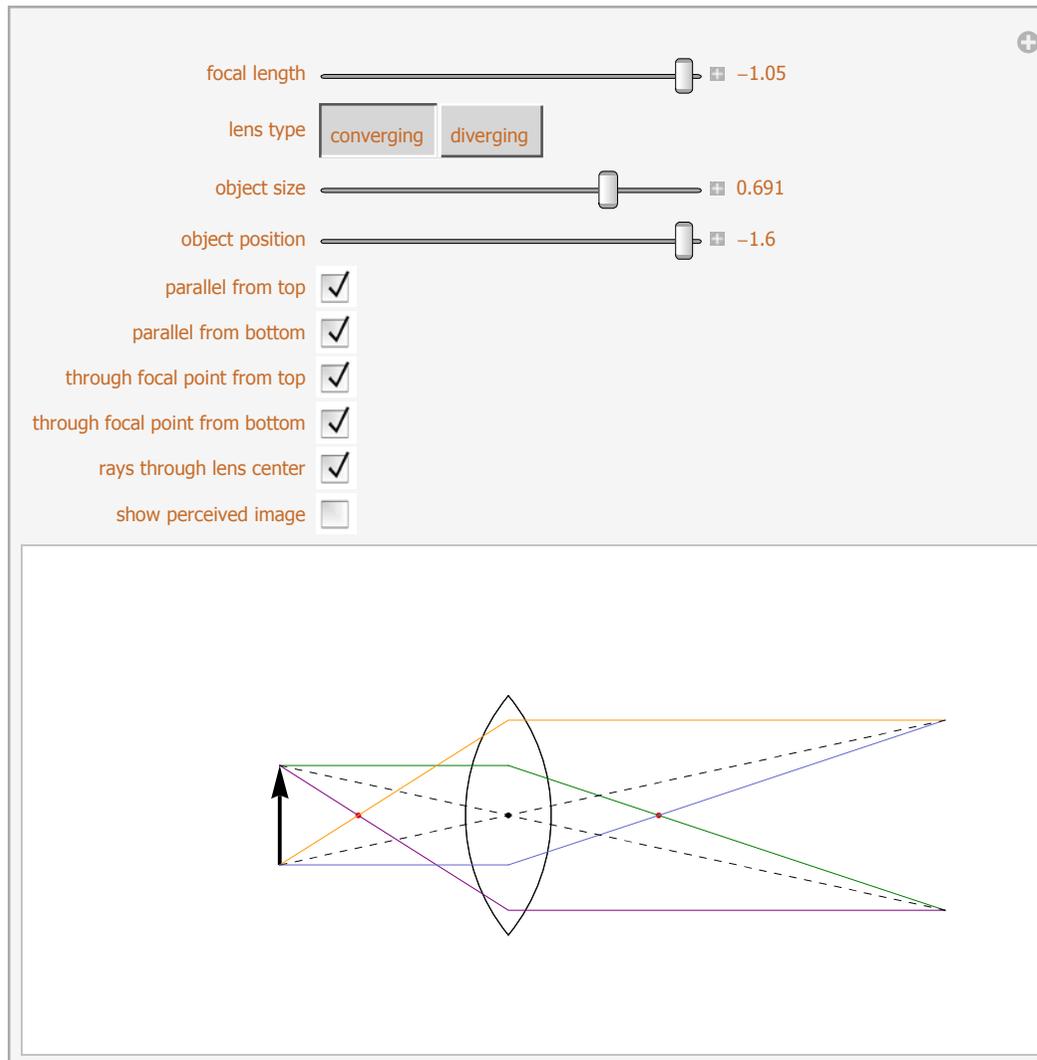
ray 3

reset to default values

The linear lens magnification is 50.. The image is virtual.

Lupe (Sammellinse): Objekt zwischen Brennpunkt und Linse → virtuelles Bild (kann nicht auf Schirm aufgefangen werden)

Hingegen: Objekt hinter Brennpunkt → reelles Bild (kann auf Schirm aufgefangen werden)



Brennweite: F

Gegenstandsweite: G_W

Bildweite: B_W

Gegenstandshöhe: G_H

Bildhöhe: B_H

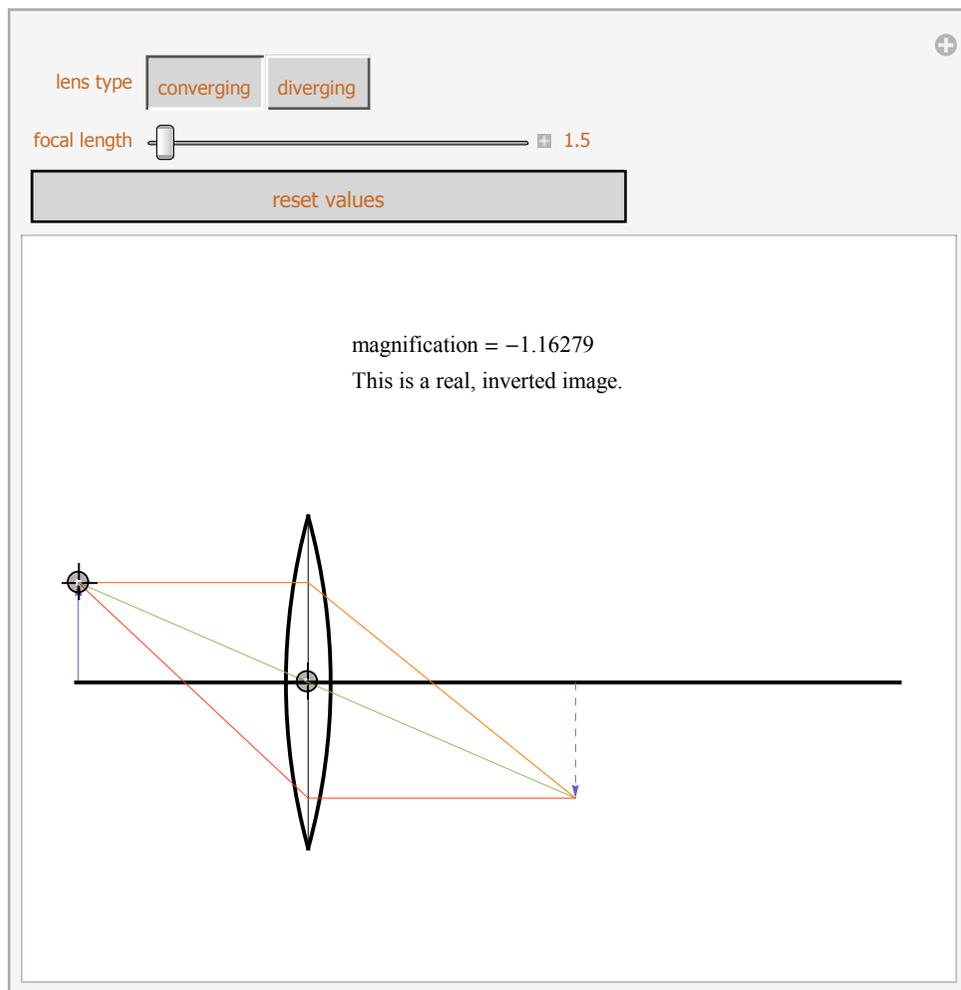
Abbildungsmaßstab: $A = \frac{B_H}{G_H} = \frac{B_W}{G_W}$

$$\frac{B_H}{G_H} = \frac{B_W - F}{F} = \frac{B_W}{G_W}$$

$$\frac{B_W - F}{F B_W} = \frac{1}{G_W}$$

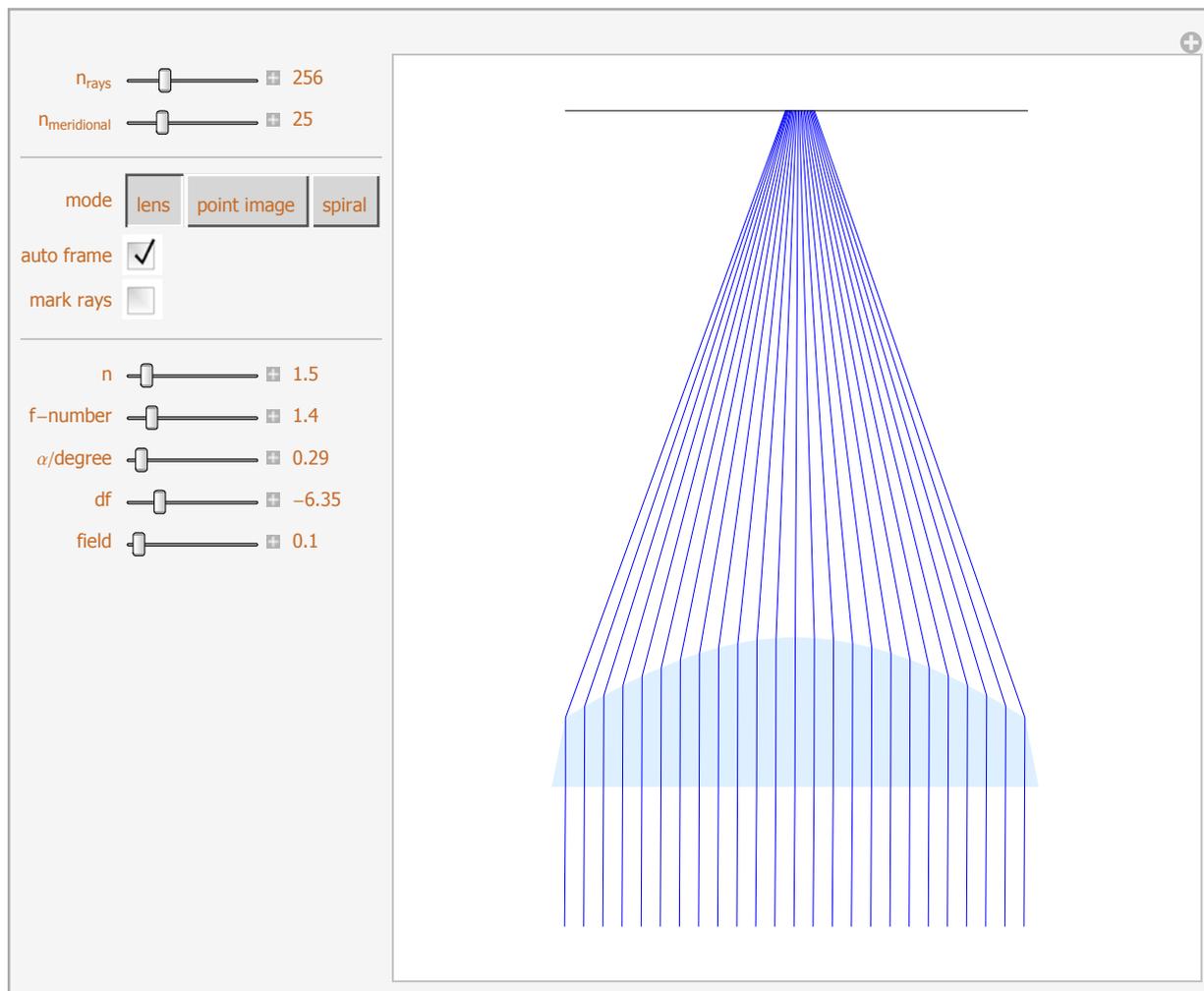
$$\frac{B_W}{F B_W} - \frac{F}{F B_W} = \frac{1}{G_W}$$

Linsengleichung (Abbildungsgleichung): $\frac{1}{B_W} + \frac{1}{G_W} = \frac{1}{F}$



Probleme von Einlinsensystemen bei großen Vergrößerungen (kleine Krümmungsradien): Abbildungsfehler!

U.a. nehmen Kugelgestaltsfehler (sphärische Aberrationen) zum Rand hin zu, d.h. mit wachsendem Achsabstand eines Parallelstrahls kommt es zunehmend zum Verfehlen des Brennpunktes.



Mehrlinsensysteme:

Gesamtvergrößerung als Zusammensetzung der Vergrößerungen bzw. Abbildungsmaßstäbe ihrer Komponenten

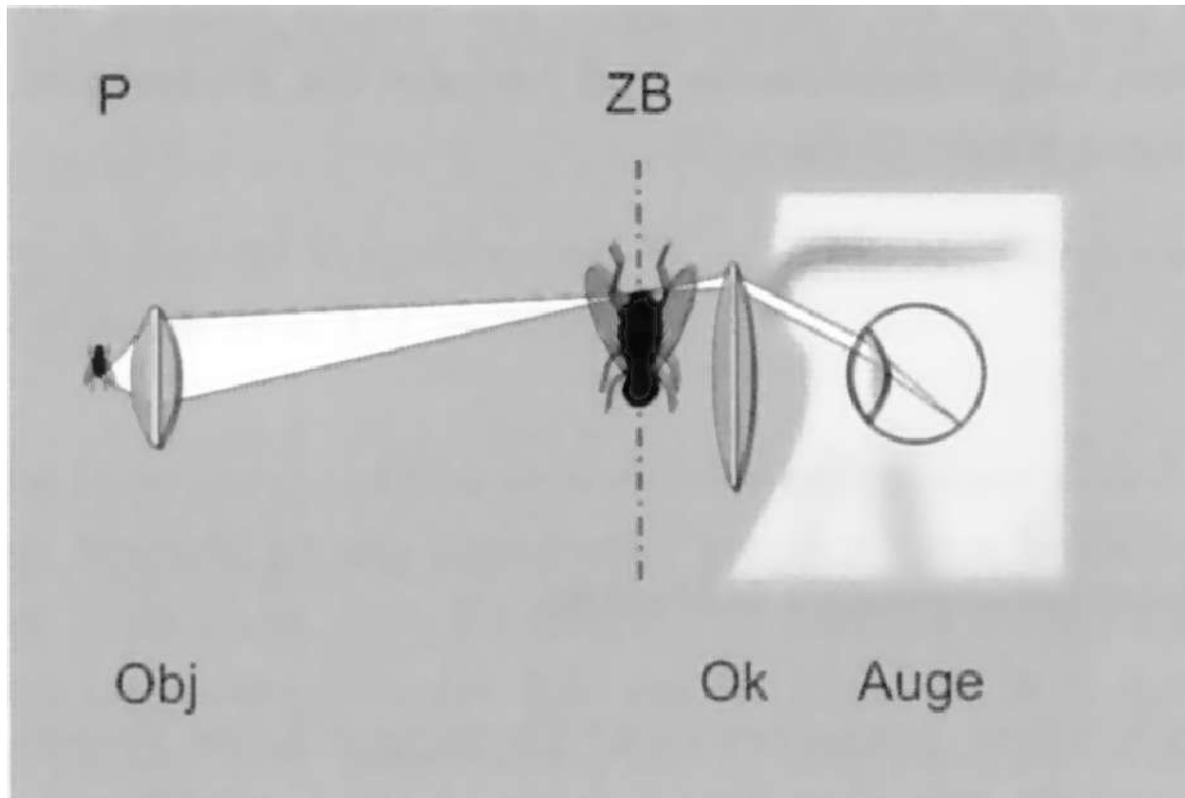
Einfachster Fall mit zwei Komponenten: Objektiv und Okular

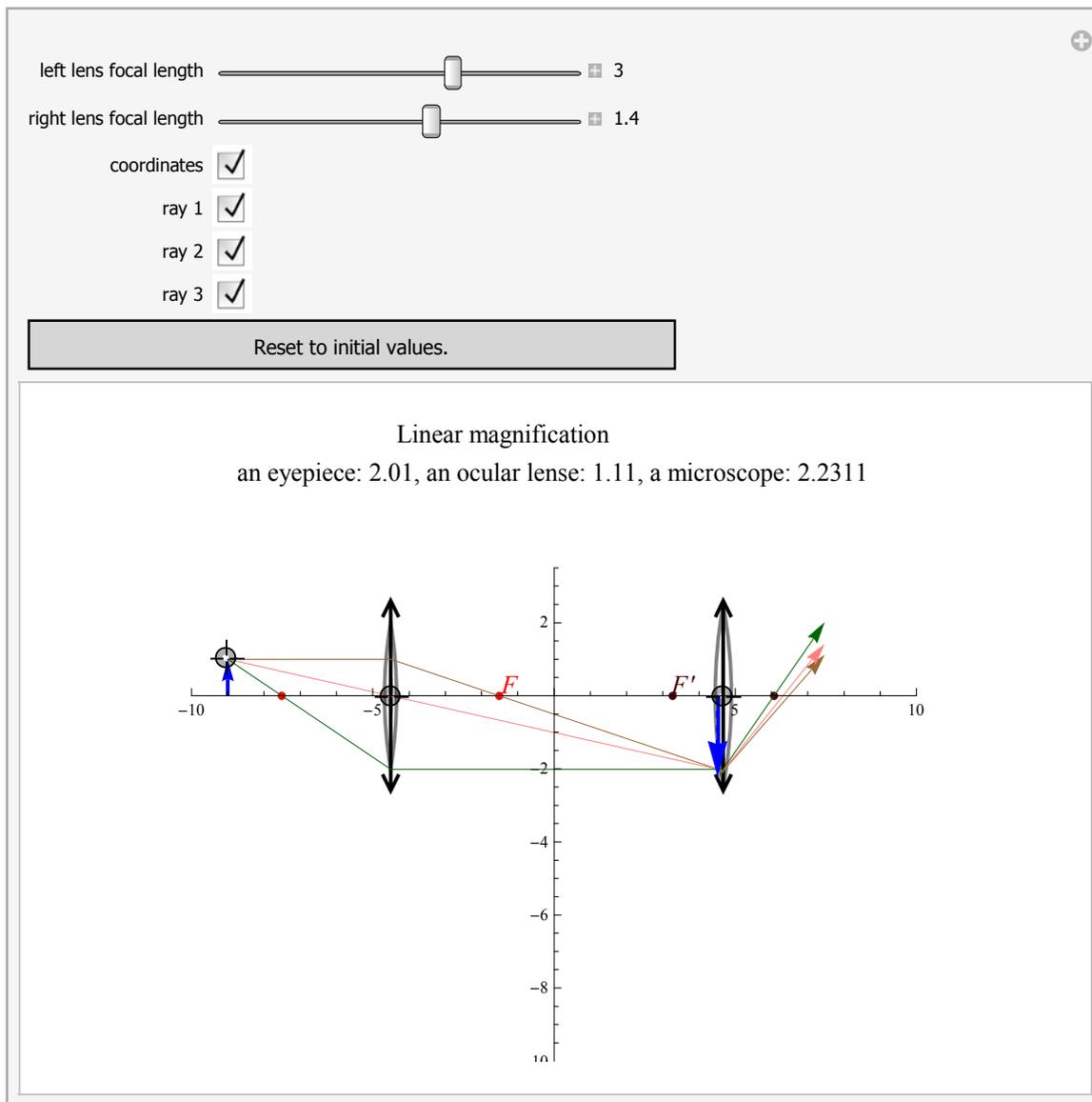
Objektiv: nimmt das vom Präparat kommende Licht auf und entwirft ein umgekehrtes, reelles Bild (Zwischenbild).
Abbildungsmaßstab z.B. $A = 40$.

Okular: setzt optische Abbildung fort, vergrößert das Zwischenbild (z.B. mit $M = 10$)

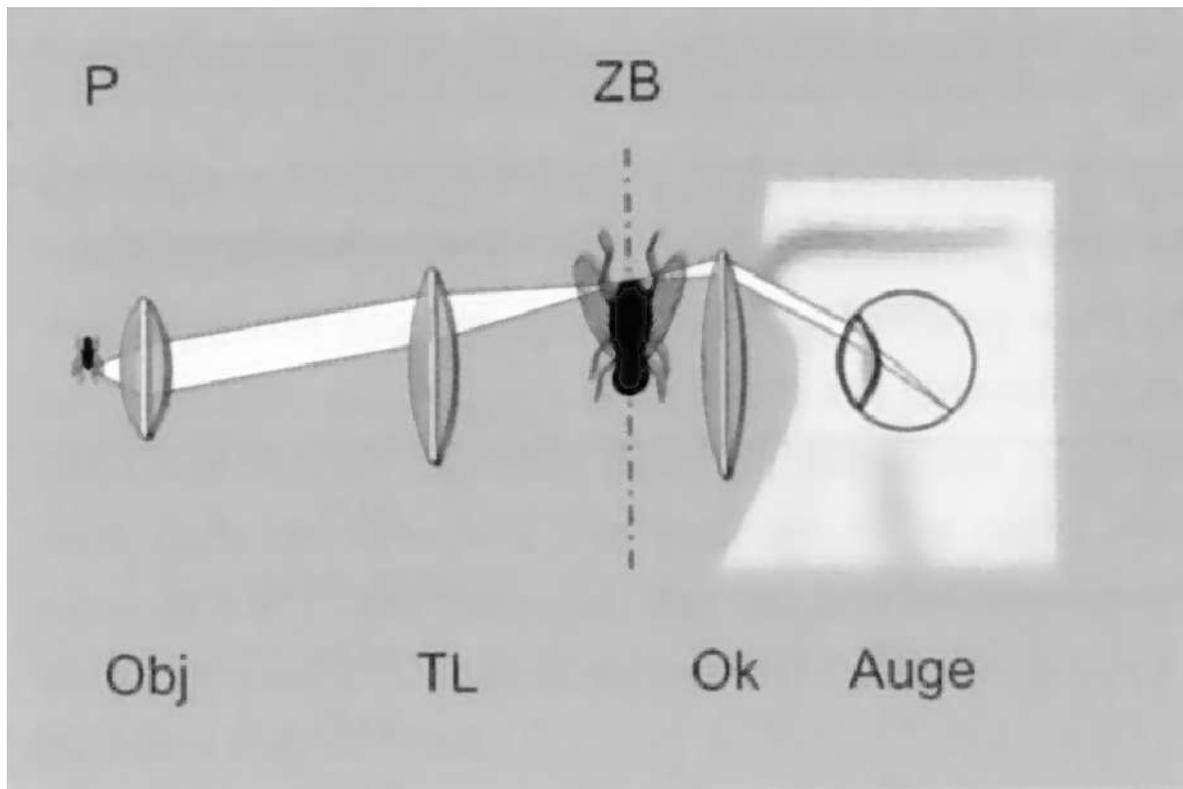
Zwischenbild: befindet sich in der Brennebene des Okulars (könnte mit Schirm sichtbar gemacht werden)

Gesamtvergrößerung: Produkt aus Abbildungsmaßstab des Objektivs und Vergrößerung des Okulars (z.B. $M_{\text{ges}} = 400$)

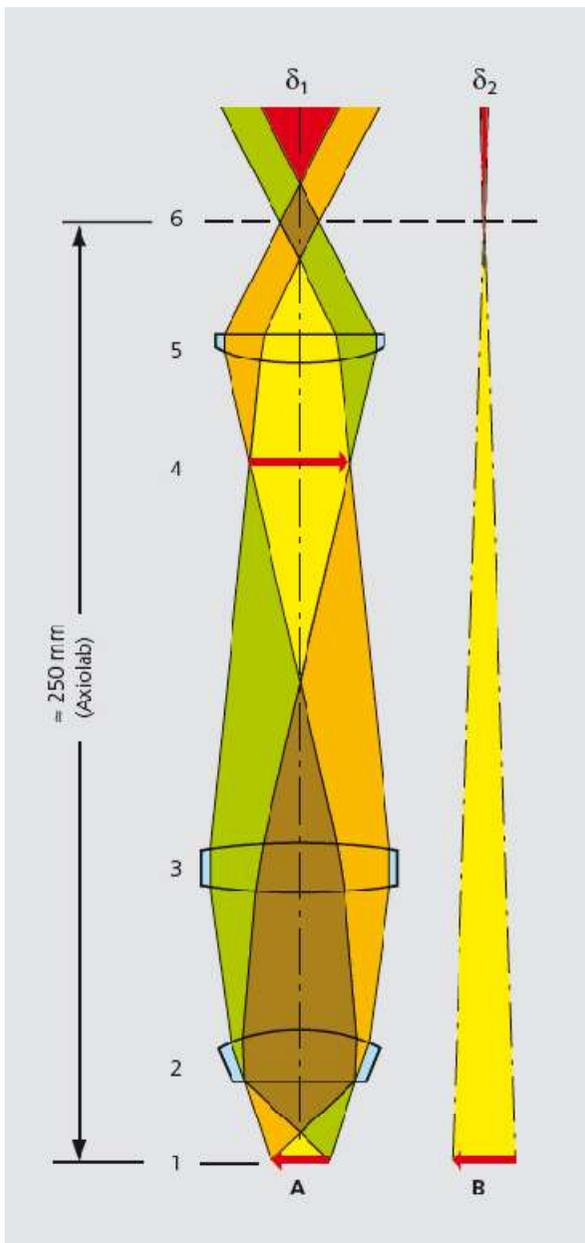




**Weitere Komponente im Strahlengang: Tubuslinse
(Unendlichoptik)**



- Objektiv entwirft ein Zwischenbild im Unendlichen (also kein reelles Bild)
- Tubuslinse überführt Zwischenbild wieder in eine Ebene, in der es mit dem Okular betrachtet werden kann
- Für Objektiv und Tubuslinse wird ein Vergrößerungsfaktor angegeben, der sich aus Brennweitenverhältnis TL/Obj ergibt
- Tubuslinse kann Farbabbildungsfehler von Objektiven kompensieren
- weitere Vorteile ergeben sich, wenn Komponenten zum Ein- und Auskoppeln placiert werden sollen

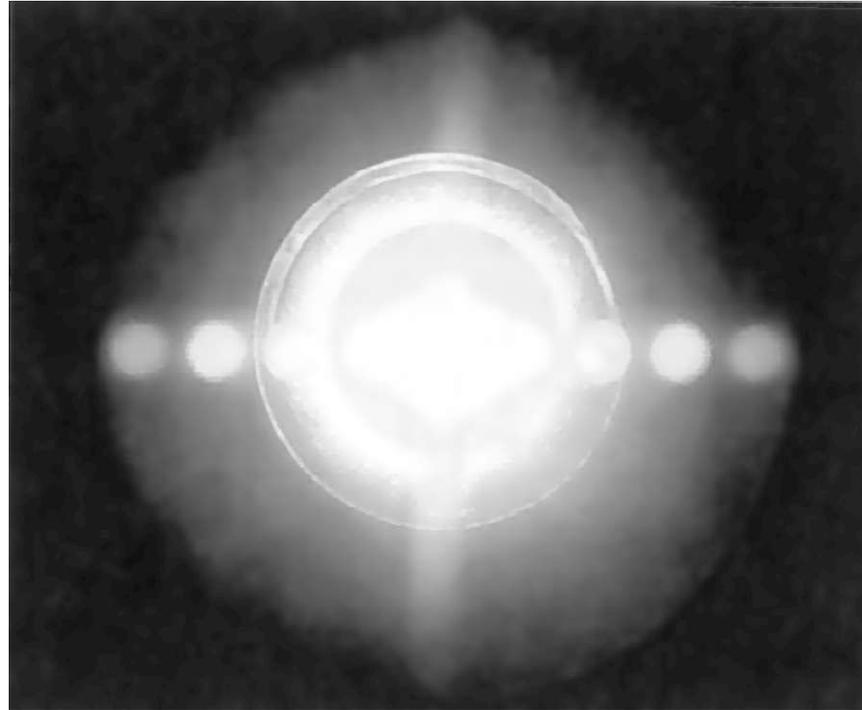
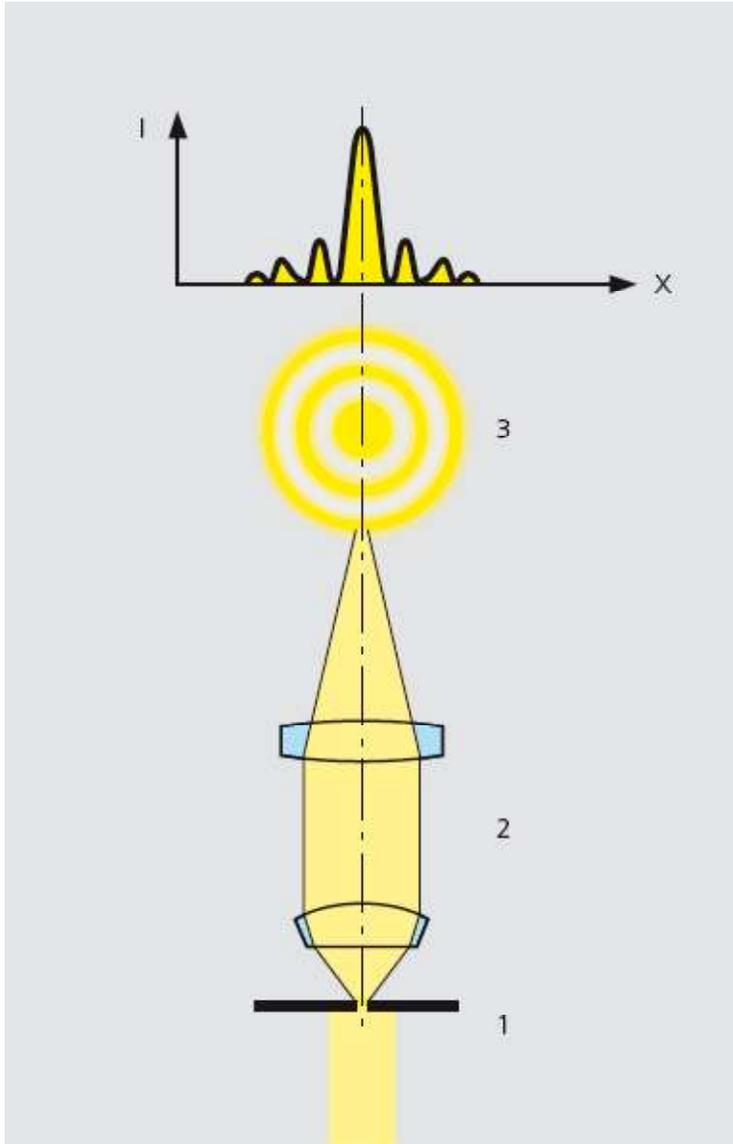


Die Beobachtungswinkel mit/ohne Mikroskop δ_1/δ_2 im Vergleich

Grenzen der Vergrößerung - Auflösung

- Gesamtvergrößerung ist kein geeignetes Maß zur Beschreibung des Bildergebnisses
- Bilddetails werden nicht ohne weiteres zahlreicher

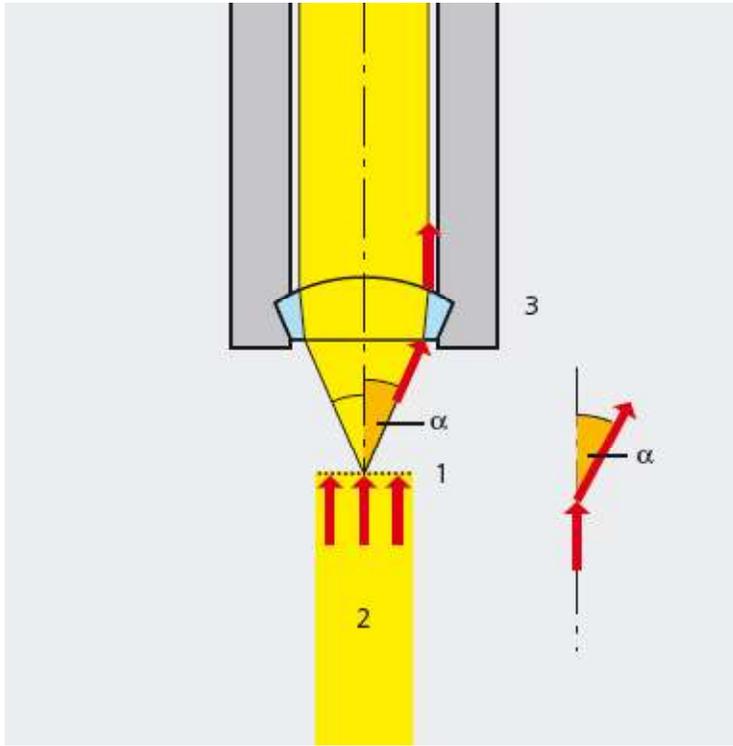
- charakteristische Beugungsmuster (Airy-Scheibchen) durch Objektivapertur



Links: an Lochblende: Fraunhofer'sche Beugungsmuster; rechts: Interferenzmuster eines Strichgitters in der hinteren Objektivbrennebene

- wesentliche Einflußgröße zur Kennzeichnung der Detailübetragung eines optisches Systems: N.A.

Numerische Apertur (N.A.) und laterales Auflösungsvermögen



- Beobachtet man im Mikroskop kleine Objekte (1), so wird das einfallende Licht (2) von solchen Objekten aus der ursprünglichen Richtung abgelenkt (gebeugt)
- Diese Ablenkung wird immer stärker, je kleiner sie werden.
- Um von kleinen Strukturen scharfe Bilder zu bekommen, muß das Objektiv (3) im Mikroskop möglichst viel von diesem gebeugten Licht "einsammeln".
- Dies geht besonders gut, wenn das Objektiv einen großen Raumwinkel überblickt.
- Der Begriff "Apertur" (Öffnung) beschreibt diese Eigenschaft.
- Damit zwei Objektive verglichen werden können, wurde die "Numerische Apertur" definiert, ein Maß für den Raumwinkel:

$$N.A. = n \cdot \sin[\alpha]$$

α ist der halbe Öffnungswinkel des Objektivs

n ist der Brechungsindex des zwischen Objektiv und Objekt verwendeten Immersionsmediums
(Luft: $n=1$; Öl/Glas (zueinander angepaßt): $n=1,51$)

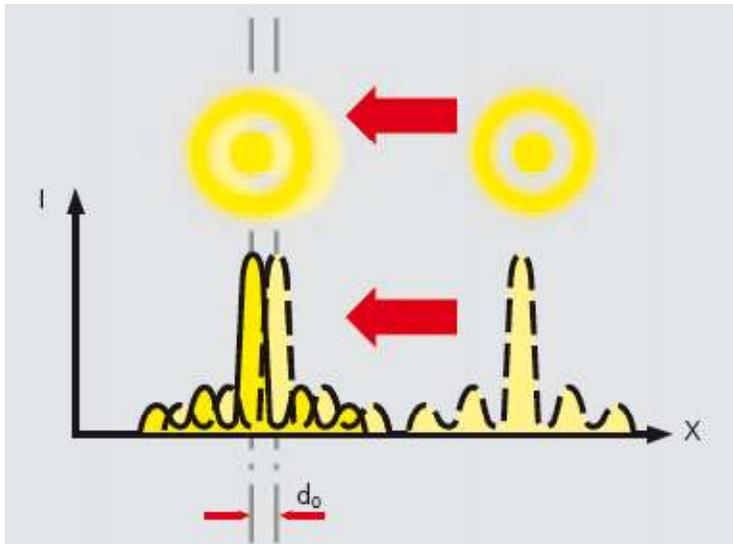
- Beispiel: voller Öffnungswinkel 81° bei Luftankopplung:

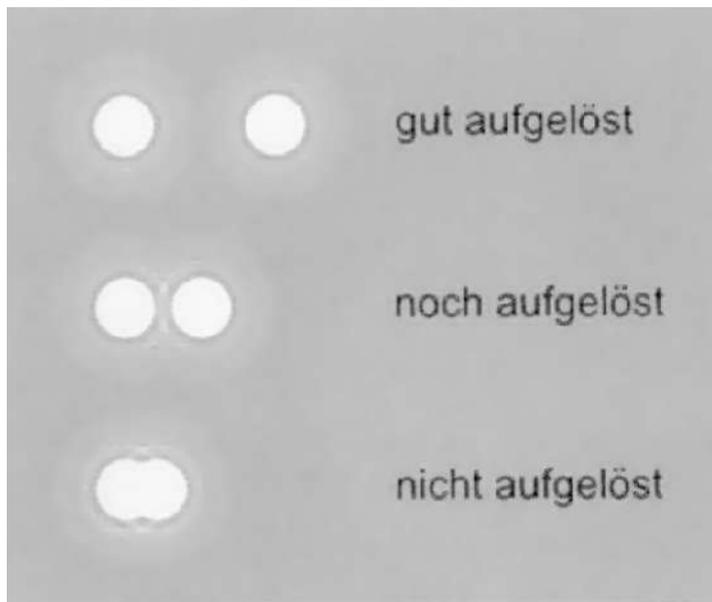
`Sin[81 / 2 Degree] // N`

0.649448

- Rayleigh-Kriterium zur Auflösung: zwei Bildpunkte können erst dann getrennt werden, wenn das zentrale Maximum des einen Bildpunktes in das erste Beugungsminimum des anderen fällt.

- $$\Delta x = \frac{0,61 \cdot \lambda}{N.A.}$$

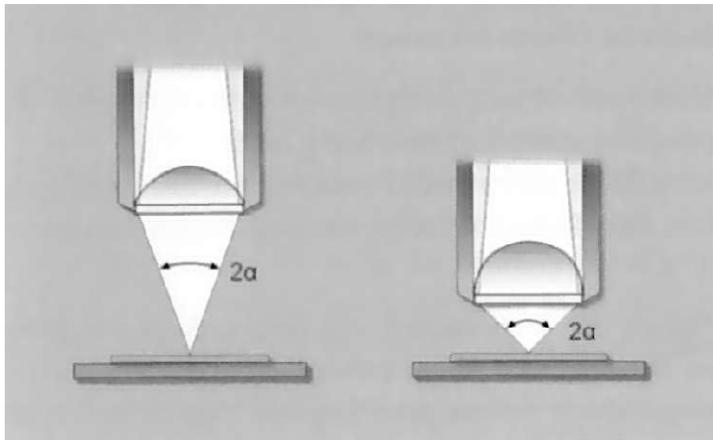




- vereinfacht in der Handschrift von Ernst Abbe:

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$

- je größer der Öffnungswinkel, desto höher die numerische Apertur

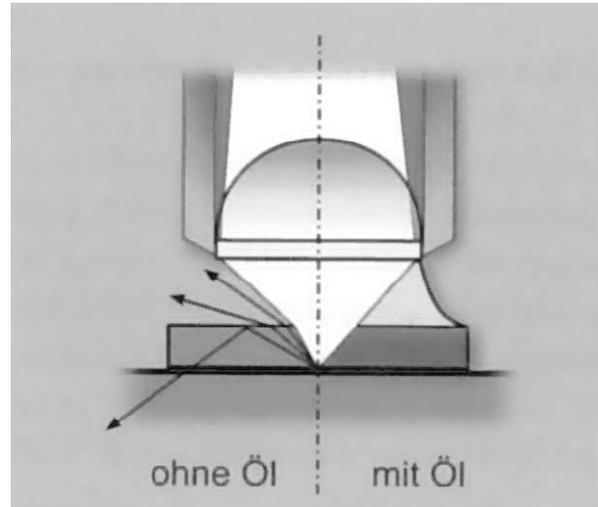
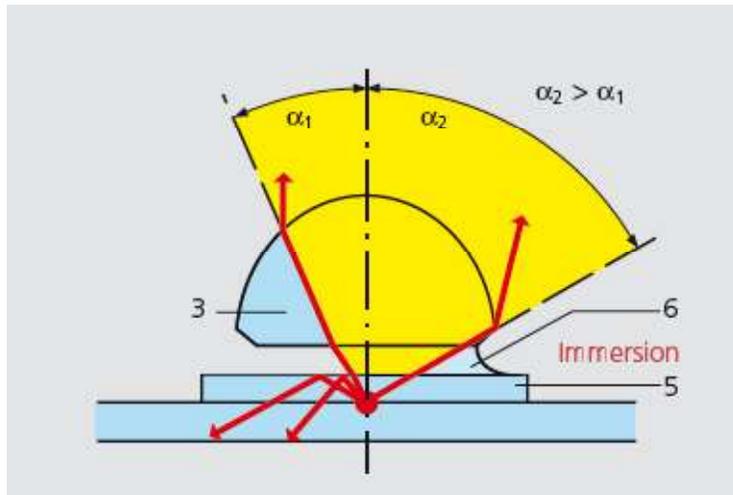


Ölimmersion

- mit Ölimmersion und ca 112° Öffnungswinkel:

$$\text{Sin}[112 / 2 \text{ Degree}] * 1.51 // N$$

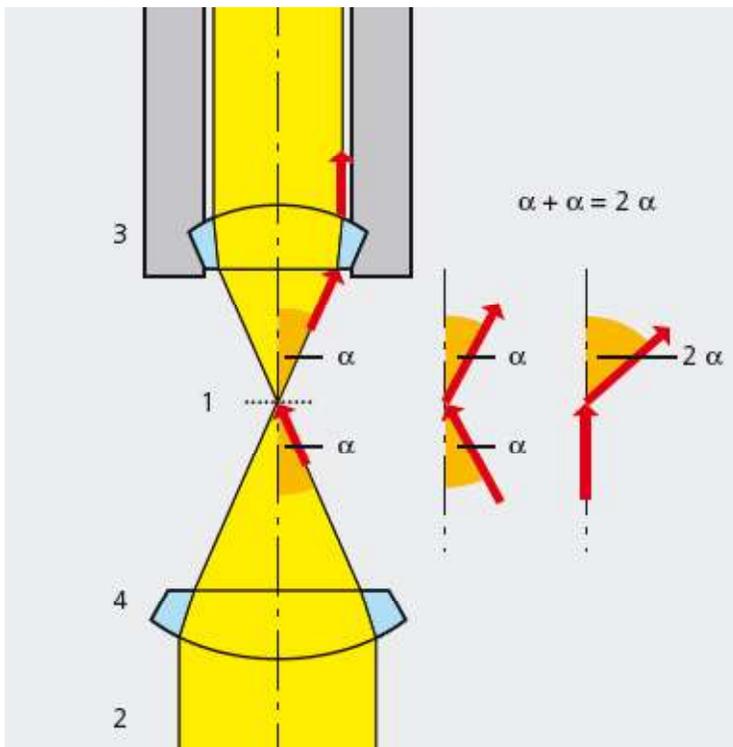
1.25185



- linker Teil ohne Ölinkopplung: es geht immer Licht im Deckglas und an der Frontlinse verloren, die nutzbare Apertur des Objektivs würde durch diese Reflexionen verringert, das Auflösungsvermögen vermindert.

Weitere Möglichkeit zur Auflösungserhöhung:

- Kondensator, der großen Winkel für Strahlenkegel erzeugt
- Winkel entspreche dem des Öffnungswinkels des Objektivs (N.A. beider Komponenten gleich)



$$\Delta x = \frac{1,22 \cdot \lambda}{N.A. \cdot Obj + N.A. \cdot Cond}$$

Abschätzung der typischen unteren Auflösungsgrenze eines Lichtmikroskops bei Ölimmersion

- N.A. wie oben bestimmt bei ca. 1,25 (bis 1,45 bei Zeiss und 1,65 bei Olympus ist in Ausnahmen möglich)
- grünes Licht mit $\lambda=550\text{nm}$

$$0.61 \cdot 550 / (\sin[112 / 2 \text{ Degree}] \cdot 1.51) // N$$

268.004

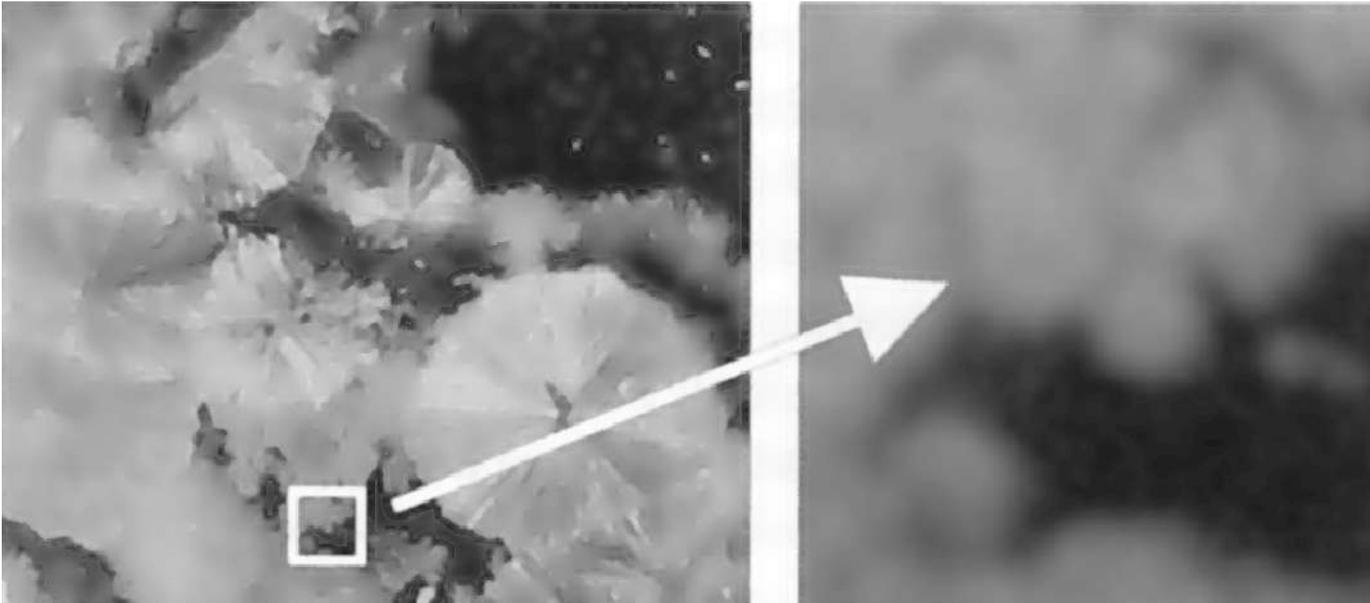
Weitere Einflußgrößen der Auflösung

- Sauberkeit von Objektiven und Präparaten
- richtige Dicke der Deckgläschen (0,17mm; Toleranz $\pm 0,01\text{mm}$ bei $N.A.>0,7$;

- Toleranz $\pm 0,03\text{mm}$ bei $0,3 < \text{N.A.} < 0,07$
- Verwendung des richtigen Immersionsöls

Förderliche Vergrößerung

- die Gesamtvergrößerung soll im Bereich zwischen dem 500fachen und dem 1000fachen der Objektivapertur liegen
- Überschreitungen führen zu “leeren Vergrößerungen”:

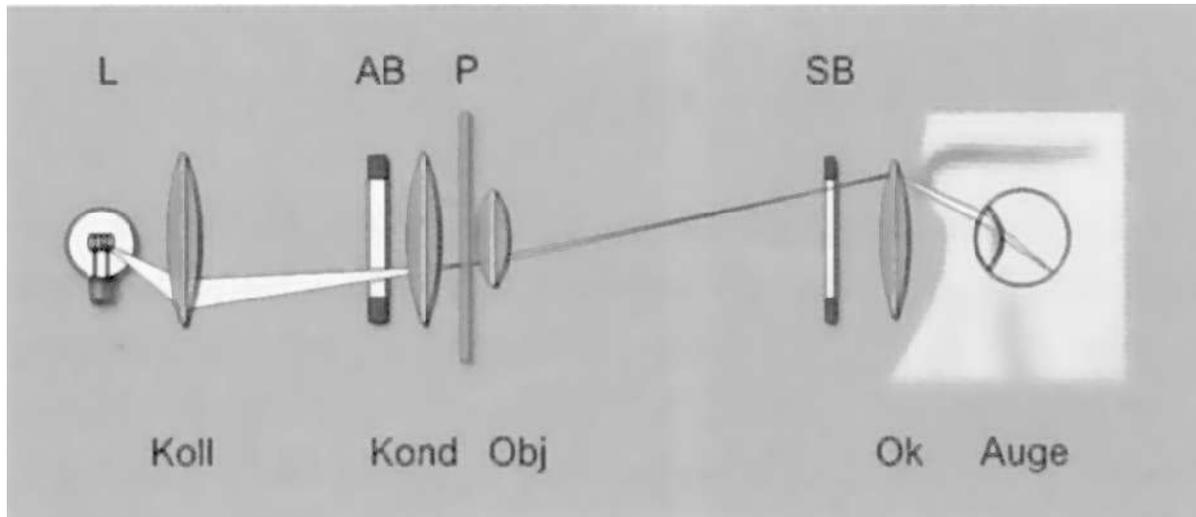


Beleuchtung: von “kritisch” zu “Köhler”

- es braucht ausreichende Intensität!
- Quellen: Himmelslicht, Öllampen, elektrische Lampen
- weitere Komponenten: Kollektor, Kondensator (von Abbe vorgeschlagen), Rückreflektor an Lampe

Kritische Beleuchtung:

- Quelle wird in Präparatebene abgebildet:



Eigenschaften:

- da Lampenwendel in Präparatebene abgebildet wird, kann die Beleuchtung stark inhomogen ausfallen
- es kann zu Überstrahlungen kommen
- Versuch der Homogenisierung durch Mattscheiben, aber Helligkeitsverlust
- nur bei billigen Mikroskopen

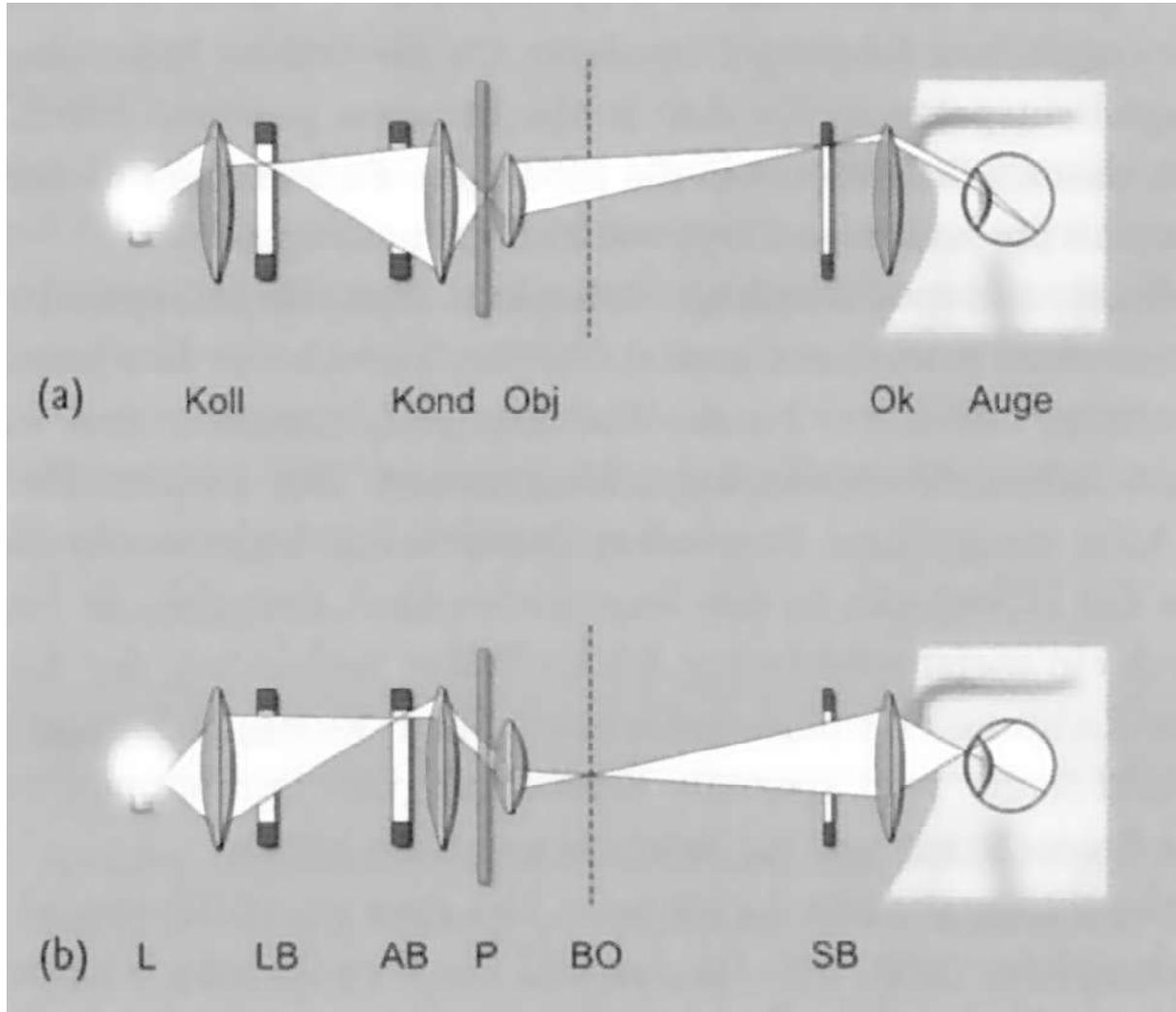
Köhler'sche Beleuchtung:

- Grundprinzip: Lichtquelle wird nunmehr in die Ebene der Aperturblende (AB) abgebildet
- zum Kollektor und Kondensator kommt noch eine Leuchtfeldblende hinzu
- Im Ergebnis wird die Leuchtfeldblendenöffnung sehr homogen ausgeleuchtet
- Beschreibung üblicherweise als "Verflechtung" zweier Strahlengänge:

- (a) Abbildungsstrahlengang: beschreibt Lichtbündel, die jeweils einen Punkt des Präparats beleuchten und damit abbilden. Bildet den Rand der Leuchtfeldblende in die Präparatebene ab, was ein definiertes Justagekriterium für die Beleuchtung nach Köhler darstellt.

- (b) Beleuchtungsstrahlengang: verfolgt den Beitrag eines Punkts der Lichtquelle zur Beleuchtung und Abbildung des Präparats (in dessen Umgebung paralleles Lichtbündel, scheinbar aus ∞ , somit beleuchtet jeder Punkt der Quelle das gesamte Präparat, was die Inhomogenitäten senkt). Damit entsteht auch im Auge eine optimale

Ausleuchtung.

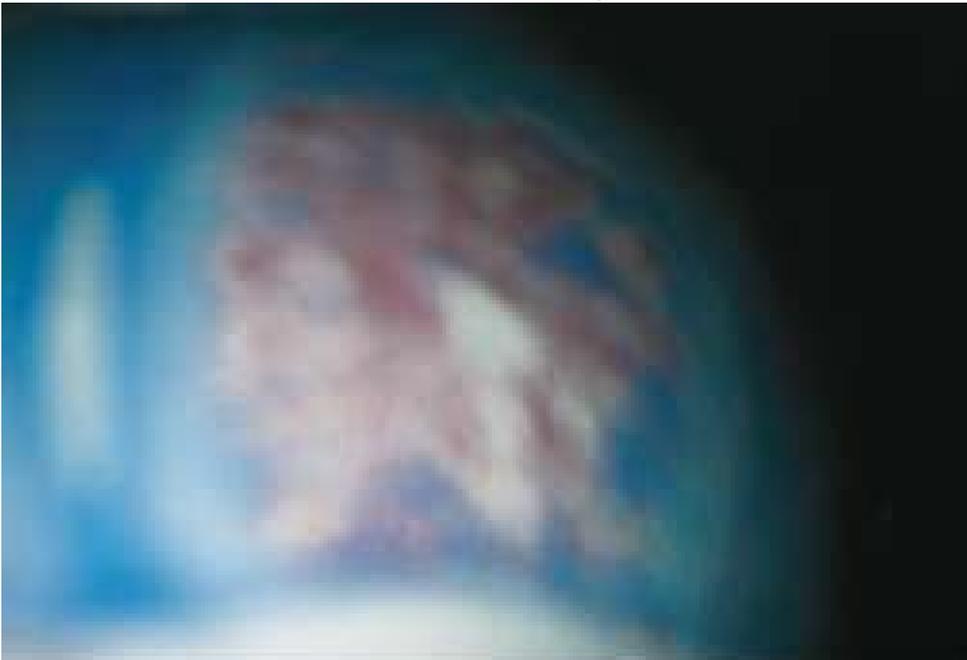


Komponenten für die Köhler'sche Beleuchtung:

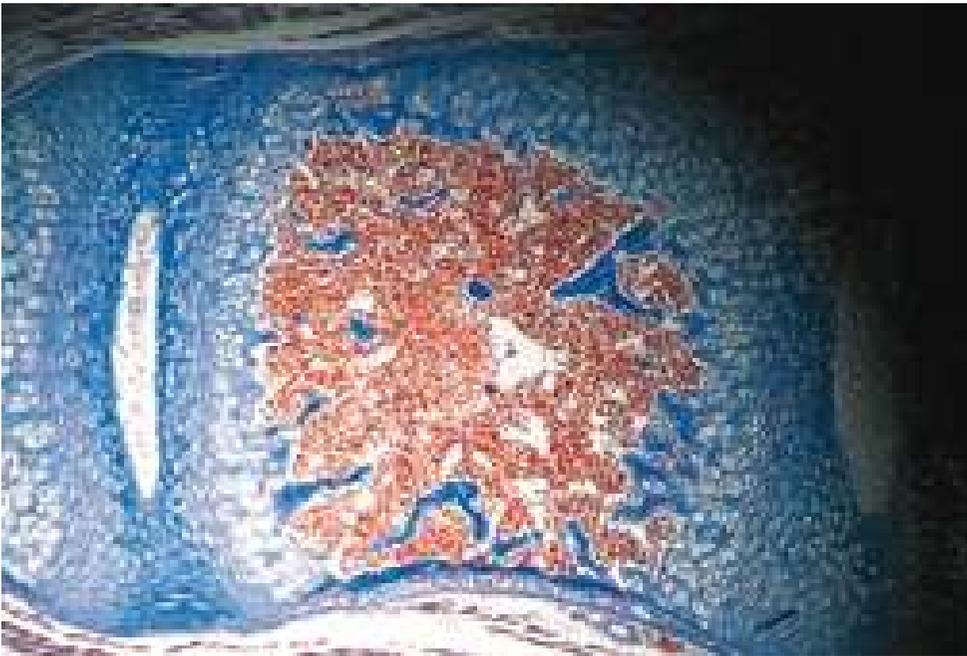
- Kollektor (Koll)
 - Leuchtfeldblende (LB)
 - Aperturblende (AB)
 - Kondensor (Kond)
-
- Koll und LB im Beleuchtungsstutzen des Mikroskopfußes, AB ist Teil des Kond
 - beide Blenden sind Irisblenden
 - alle vier Komponenten mechanisch auf optische Achse zentrierbar
 - Kondensor höhenverstellbar, um LB auf Präparatebene (P) abbilden zu können
-
- Zudem BO: Brennebene Objektiv, SB: Sehfeldblende

Schritte der Köhler'schen Beleuchtung:

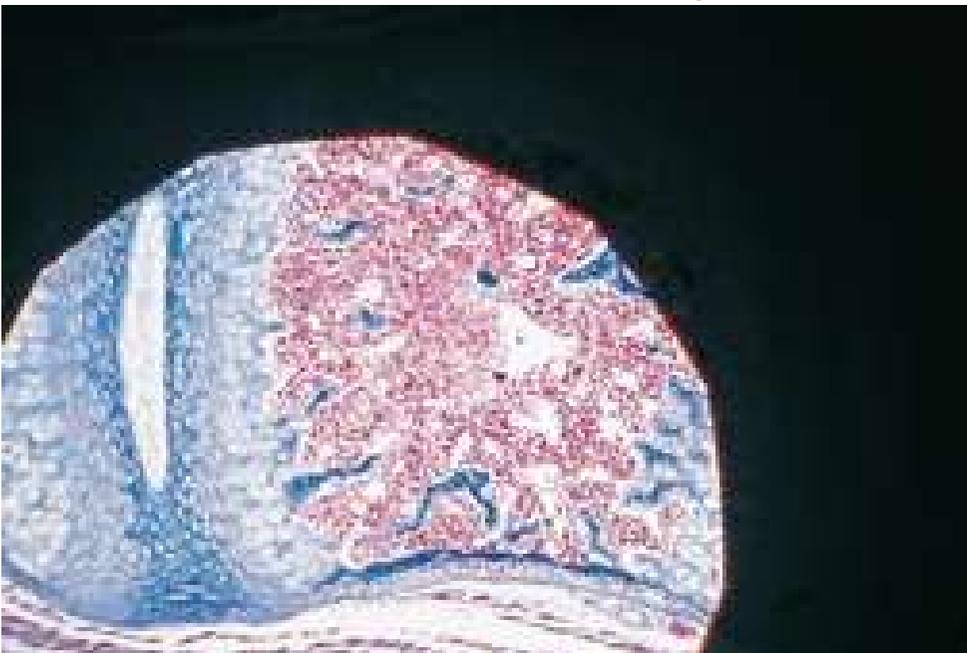
1. Präparat auf den Mikroskoptisch legen



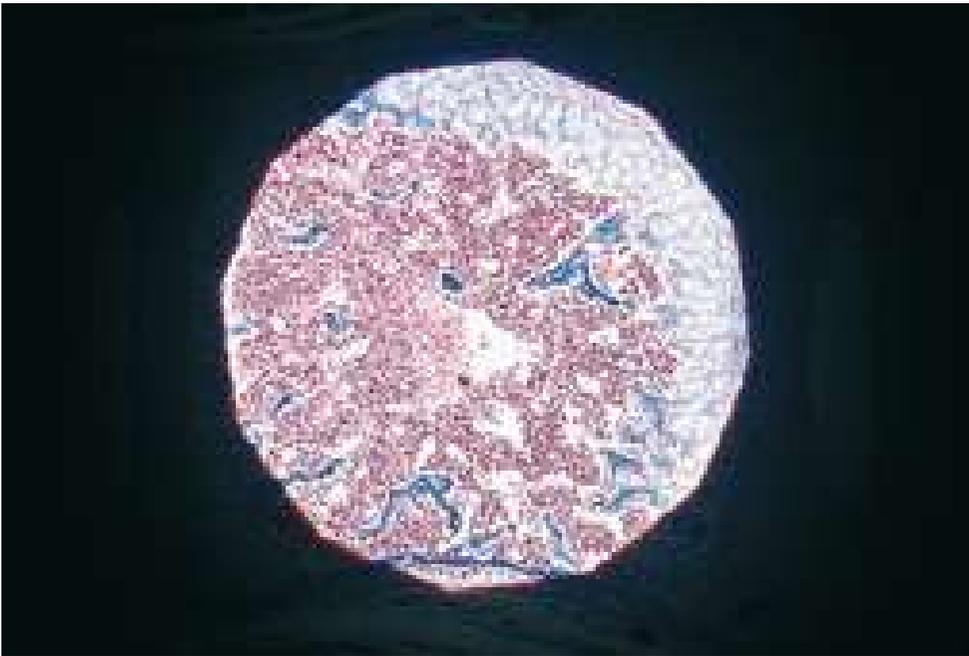
2. Leuchtfeldblende schließen; es bleibt dabei stets ein kleiner Durchmesser offen, durch den Licht hindurchtreten kann
3. Mikroskop auf das Präparat fokussieren



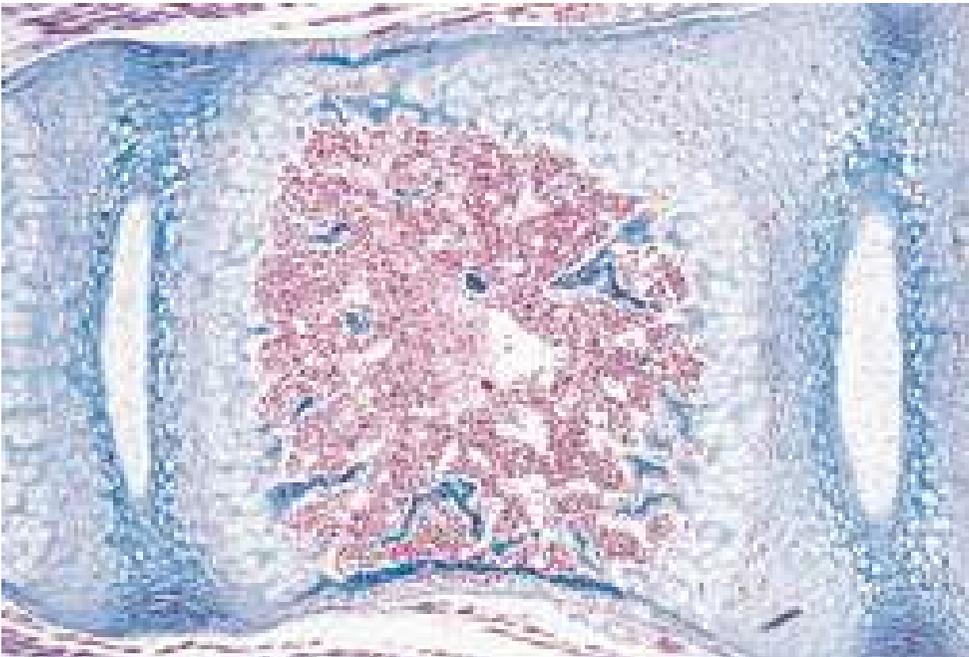
4. Kondensort am Kondensortrieb verfahren, bis der Rand der Leuchtfeldblende im mikroskopischen Bild mit maximal möglicher Schärfe sichtbar wird



5. Kondensort bzw. Leuchtfeldblende zentrieren



6. Leuchtfeldblende so weit öffnen, daß ihr Rand gerade aus dem Sehfeld verschwindet. Damit ist das Präparat homogen ausgeleuchtet, das Mikroskop ist jetzt "geköhler"



Ergebnis des "Köhlerns"

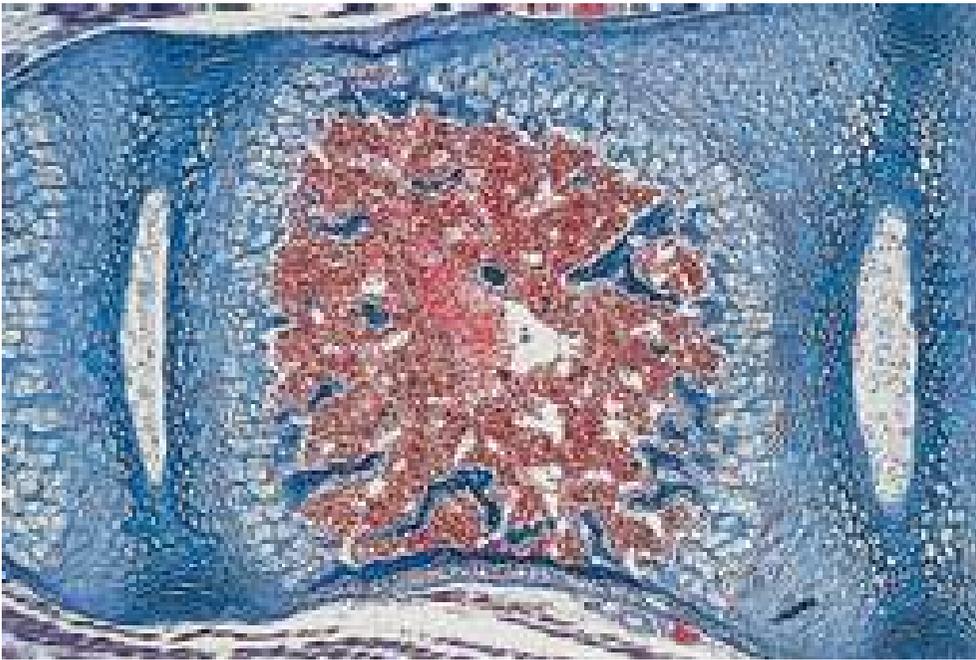
- optimale Anpassung von Beleuchtungs- und Abbildungslichtkegel
- dadurch optimale Ausnutzung des Auflösungsvermögens
- Bildhelligkeit ist proportional zum Quadrat der N.A. des Objektivs;
ist umgekehrt prop. zum Quadrat des Abbildungsmaßstabs

Schließen der Aperturblende:

- Erhöhung der Abbildungstiefe (scheinbare Kontrasterhöhung)
- Verminderung der Auflösung

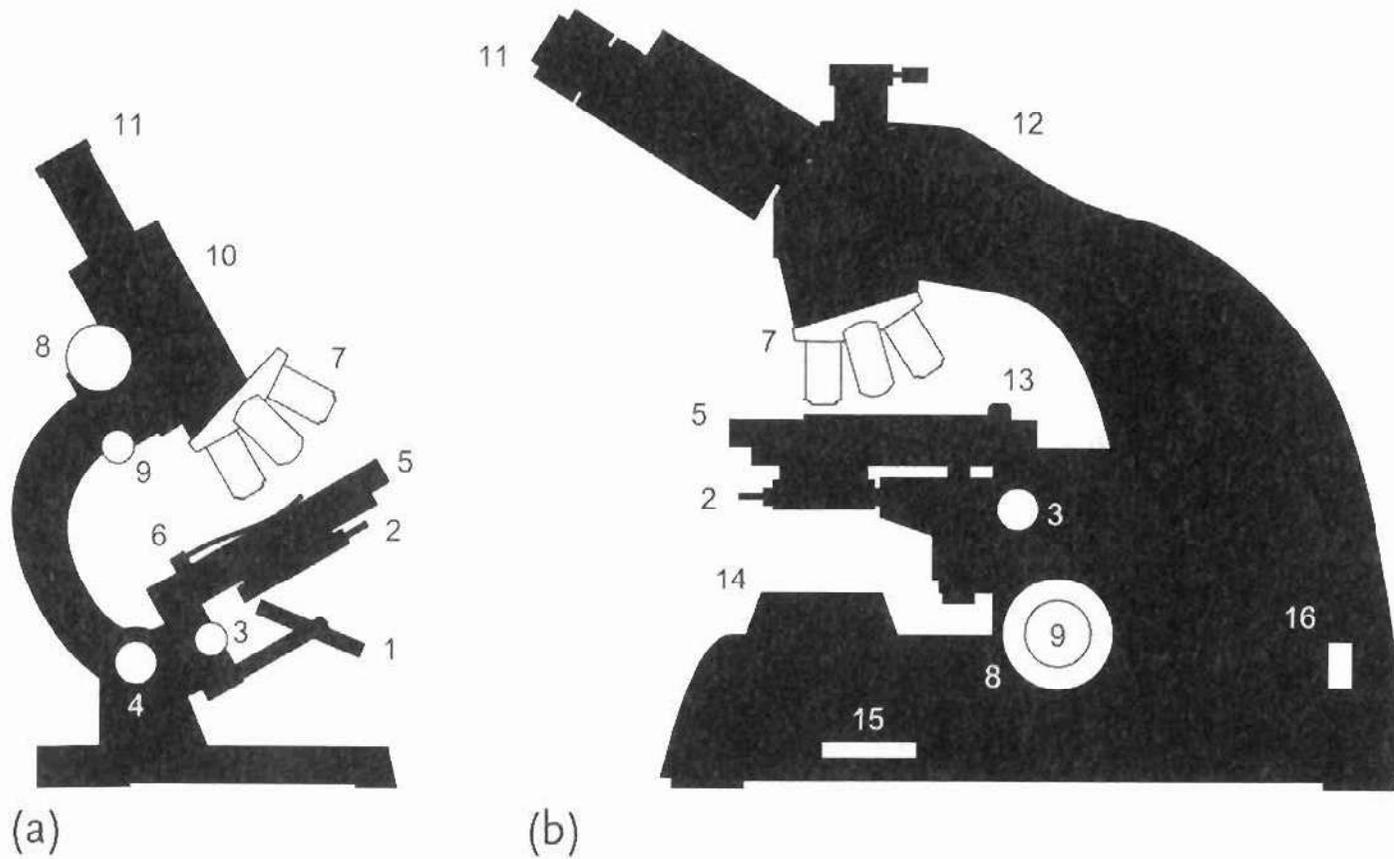


Daher ist ein Kompromiß zu finden! Typisch ist ca. 80% des Maximaldurchmessers der Aperturblende (ca. 2/3 der Fläche).

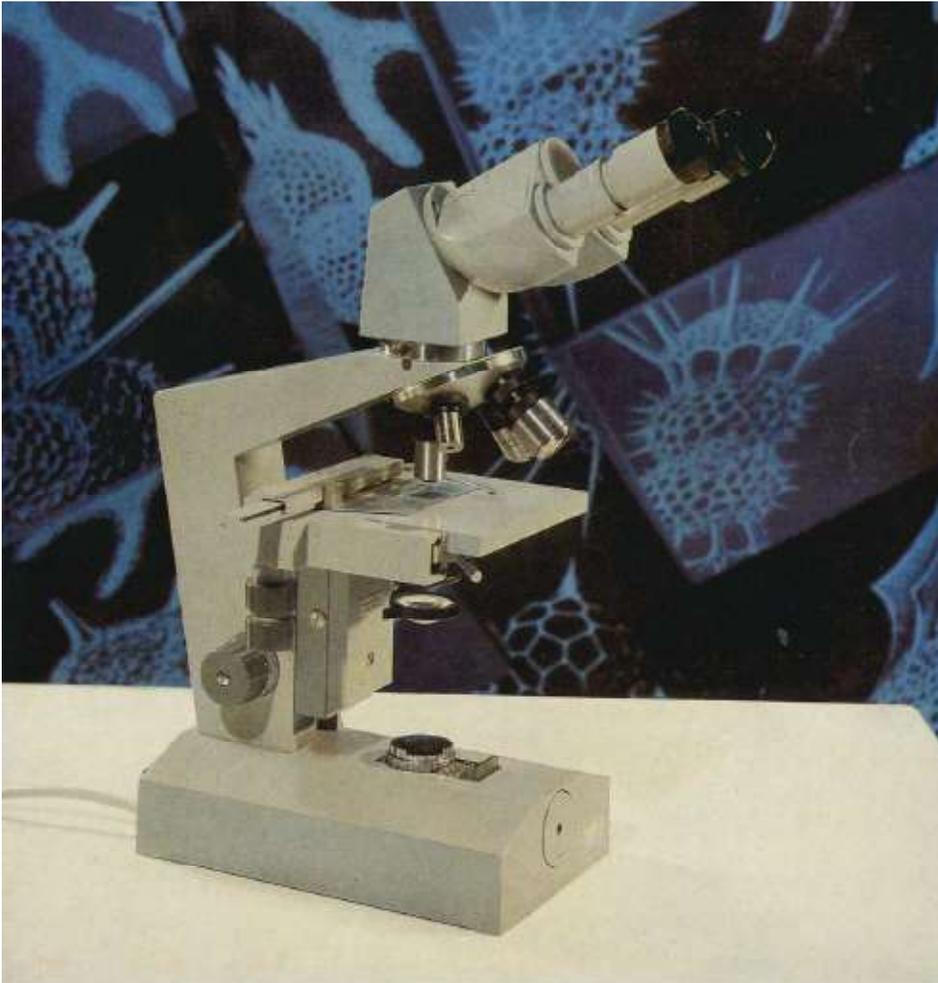


4. Aufrechtes Durchlichtmikroskop

Stativformen

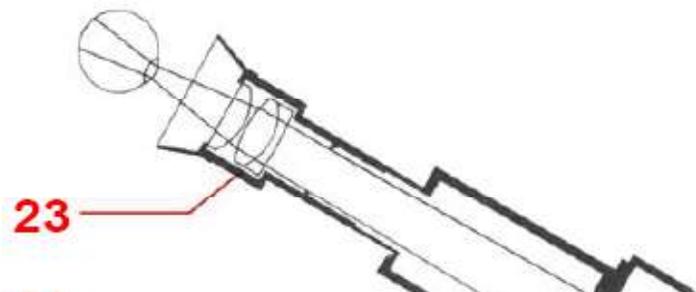


alte (a) und moderne (b) Stativform : 1 – Spiegel, 2 – Kondensor, 3 – Kondensortrieb, 4 – Gelenk, 5 – Mikroskoptisch, 6 – Präparatklemmen, 7 – Objektivrevolver, 8 – Grobtrieb Fokussierung, 9 – Feintrieb Fokussierung, 10 – Tubus, 11 – Okular (e), 12 – Trinokulartubus, 13 – Objektführer, 14 – Beleuchtungsstutzen mit Leuchtfeldblende und Kollektor, 15 – Helligkeitsregler, 16 – Schalter

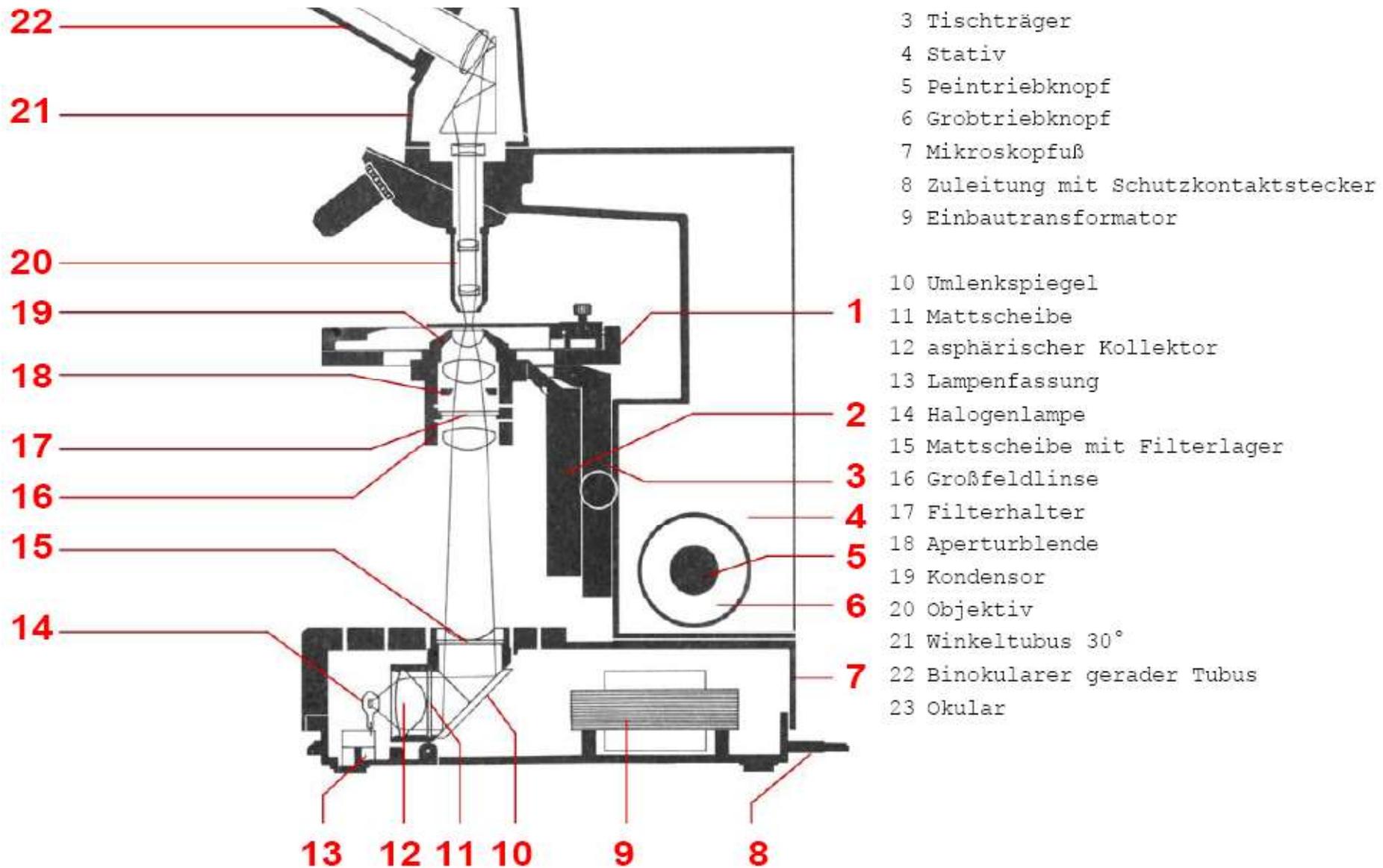


Laboval 3 (ca. 1981, VEB Carl Zeiss Jena)

Prinzipaufbau



- 1 Kreuztisch
- 2 Kondensorträger

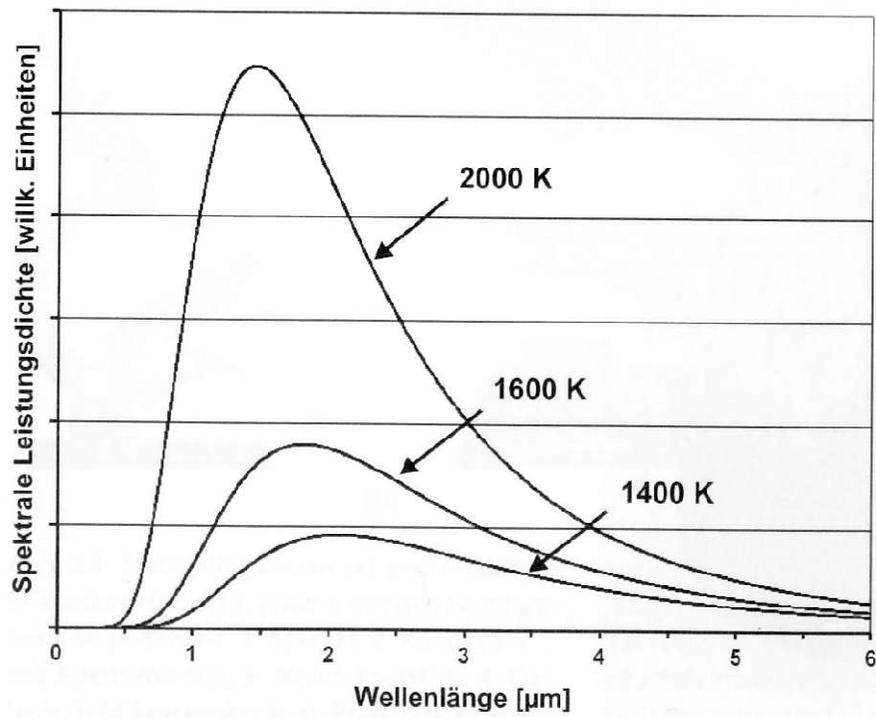


Beleuchtung

Tageslicht mit Aufsatzspiegel (kritische Beleuchtung)

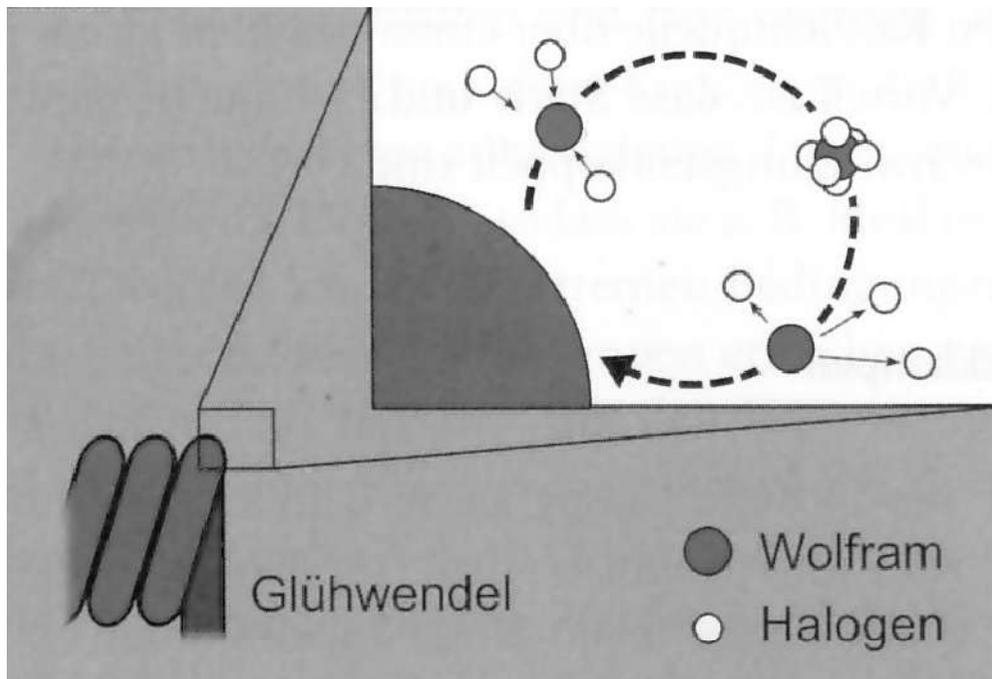


Halogenlampen: spektrale Leistungsdichte (theoretisch Schwarzkörperstrahlung) hängt von Temperatur ab



kontinuierliche Spektren

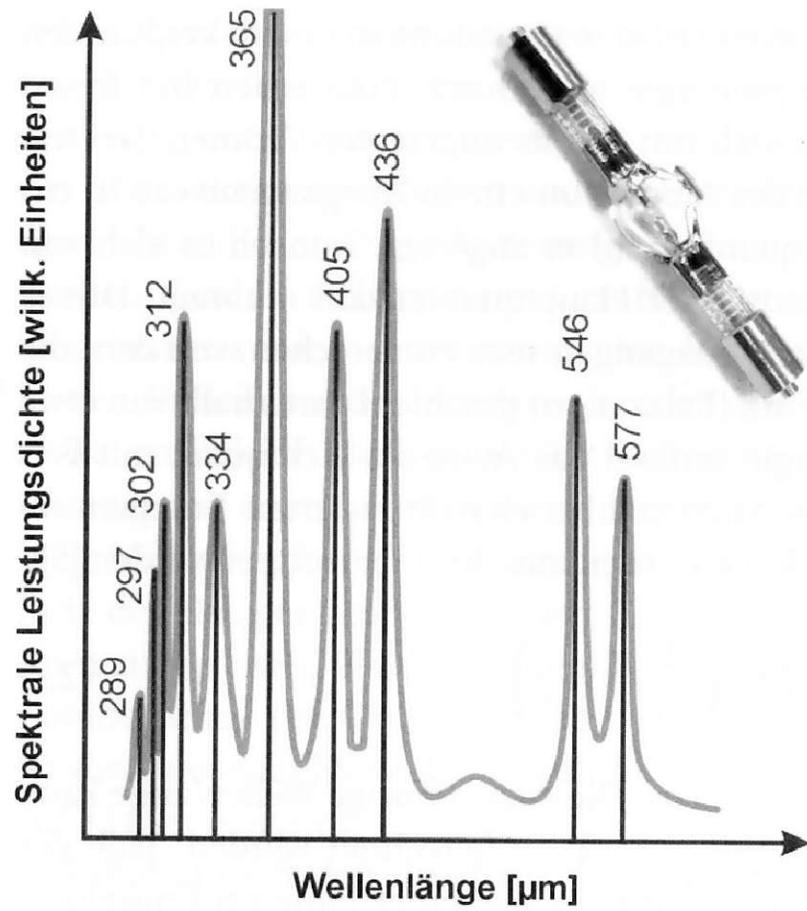
zyklische Regeneration des Wolframfadens: Wolframatome verbinden sich mit Halogenatomen zu Wolfram-Hexahalogeniden, die bei neuem Kontakt mit heißem Glühfaden dissoziieren, so daß Wolframatome wieder absorbiert werden



heute typische Lampenleistung: 20W

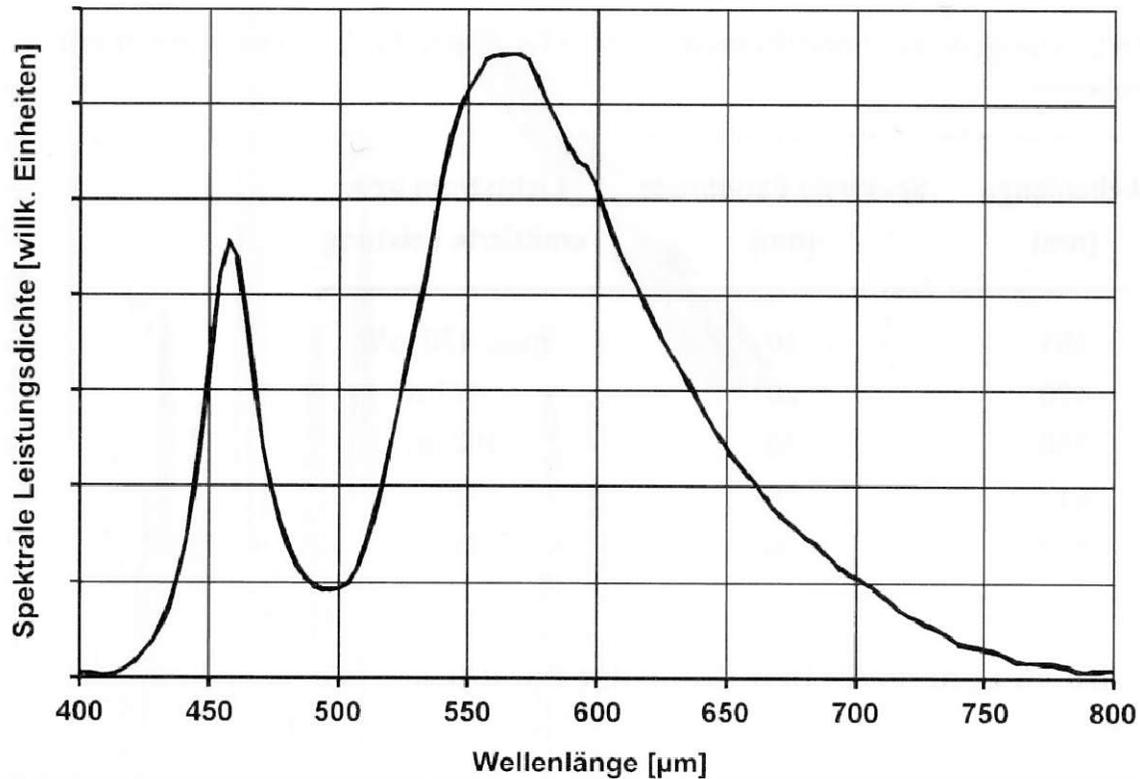
Quecksilber-Hochdrucklampen: Linienspektren, Breite steigt bei Druckerhöhung an

u.a. durch ausgeprägte UV-Linien ideal in der Fluoreszenzmikroskopie



- Achtung, Einheit an der Abszisse muß nm sein!

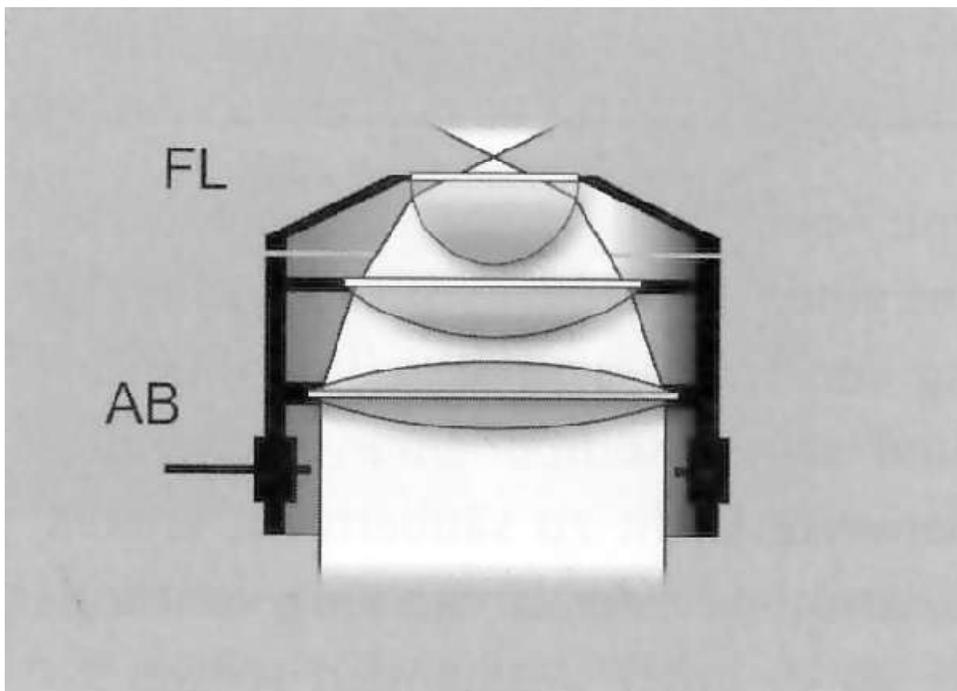
Leuchtdioden: Alternative zu Halogenlampen



- Achtung, Einheit an der Abszisse muß nm sein!
- keine Beiträge im IR-Bereich, vermindert Erwärmung des Präparat!
- aber dennoch wegen sehr kleinem Volumen der Lichtentstehung hoher Abwärmeeinfall, der abgeführt werden muß
- geringere Leistungsaufnahme und längere Lebensdauer gegenüber Halogen
- monochromatische Typen für Fluoreszenz
- Weißlicht-LEDs für alles andere
- Nachteil: Grün-Lücke, die u.U. in der Pathologie stört

Kondensoren

- bilden Leuchtfeldblende auf Präparat ab
- tragen mit eigener N.A. zur Erhöhung des Auflösungsvermögens des Mikroskops bei



FL: ausschwenkbare Frontlinse, AB: Aperturblende

- Mehrlinsensysteme zur Verringerung des Farbfehlers



N.A. 1,2 oder 0,6, umschaltbar mit Klapplinse

Fokussierung und Mikroskoptisch

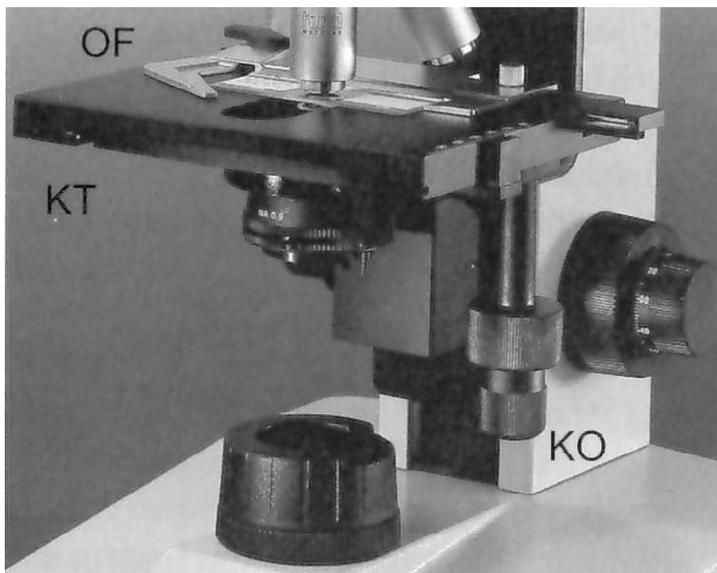
- feinfühlig und exakte Scharfstellung durch Variation der Tischhöhe
- Tischführungen stellen mechanisches Herz des Mikroskops dar (Kugeln auf polierten Laufbahnen, spezielles Fett)
- je höher die Vergrößerung, desto größer feinere Verstellung erforderlich
- Grob- und Feintrieb koaxial angeordnet



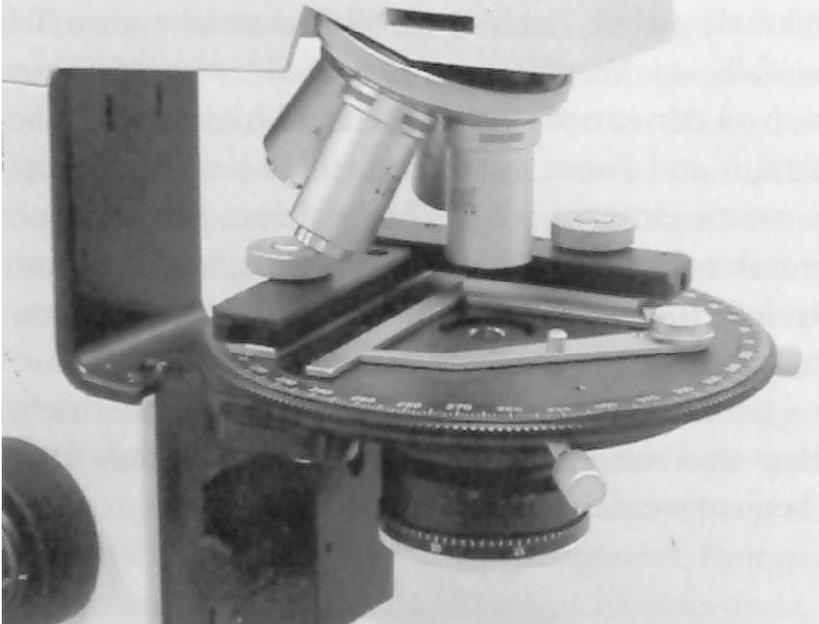
- Tisch nimmt Präparat auf Objektträger auf, Durchbruch für Strahlengang

Varianten:

- seitlich feste Tische, auf denen der Objektträger manuell verschoben werden kann
- Kreuztische, die mit Koaxialtrieb seitlich verschoben werden können, federnde Klammer zur Fixierung des Objektträgers



- Dreh- und Zentriertische (insbes. für Polarisationsmikroskope)



Objektive

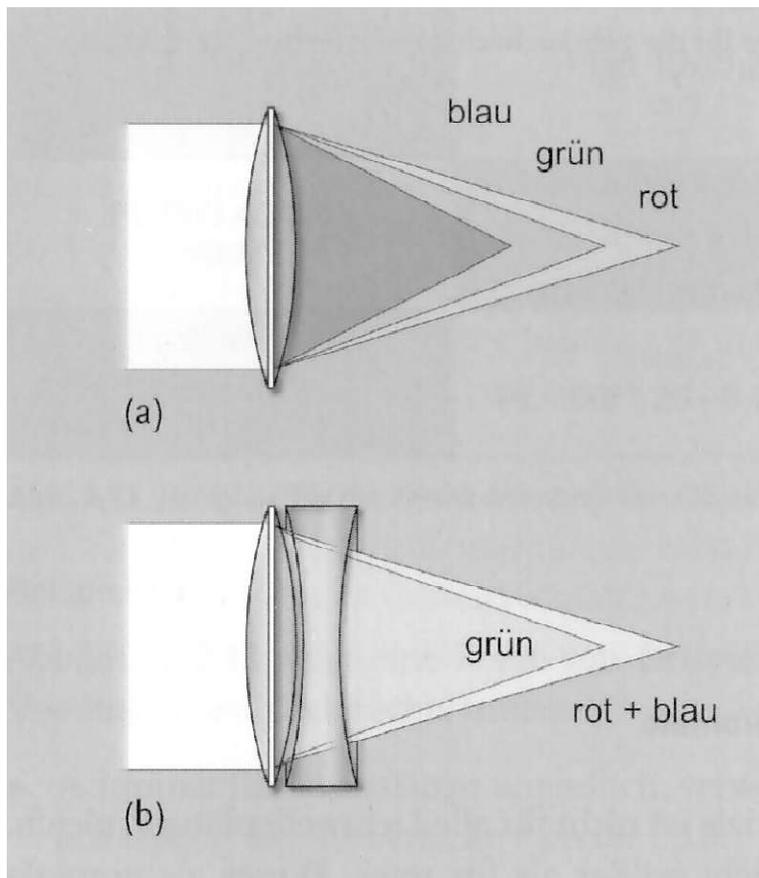
- zwei Hauptparameter: Abbildungsmaßstab bzw. Vergrößerung und N.A.

- ISO 8578 beschreibt notwendige und empfohlene Kennzeichnungen
- Abbildungsmaßstab (Objektive mit fester Tubuslänge, typ. 160mm): einfache Zahl
- Vergrößerung (Objektive mit Tubuslänge ∞): Zahl mit dahintergestelltem \times
- es folgt durch Schrägstrich getrennt die N.A. (und falls zutreffend, die Angabe des Immersionsmediums: Oil, W, GLYC)
- nach Tubuslänge (160 oder ∞) folgt Deckglaskorrektur, z.B. 0.17, 0 (ohne Deckglas), oder - (mit oder ohne Deckglas)
- weitere Abkürzungen kennzeichnen Eignung für bestimmte Kontrastverfahren: Ph, POL
- Farbkorrektion z.B. durch A oder Apo
- Ebnung des Bildfeldes durch PL oder Plan

A 4x/0,10 ∞ / -	Plan 10x/0,25 ∞ / 0
PL Ph3 40/0,65 160/0,17	Plan-APOCHROMAT 40x/1,00 - 0,50 Iris ∞ / 0,17
160/0,17 50/1,00 W FLUORESZENZ	160/0,17 PL 100/1,25 - 0,60 Oel

Farbkorrektion: Achromate und Apochromate

- Brechzahl ist für blaues Licht größer als für rotes: normale Dispersion (Regenbogen)

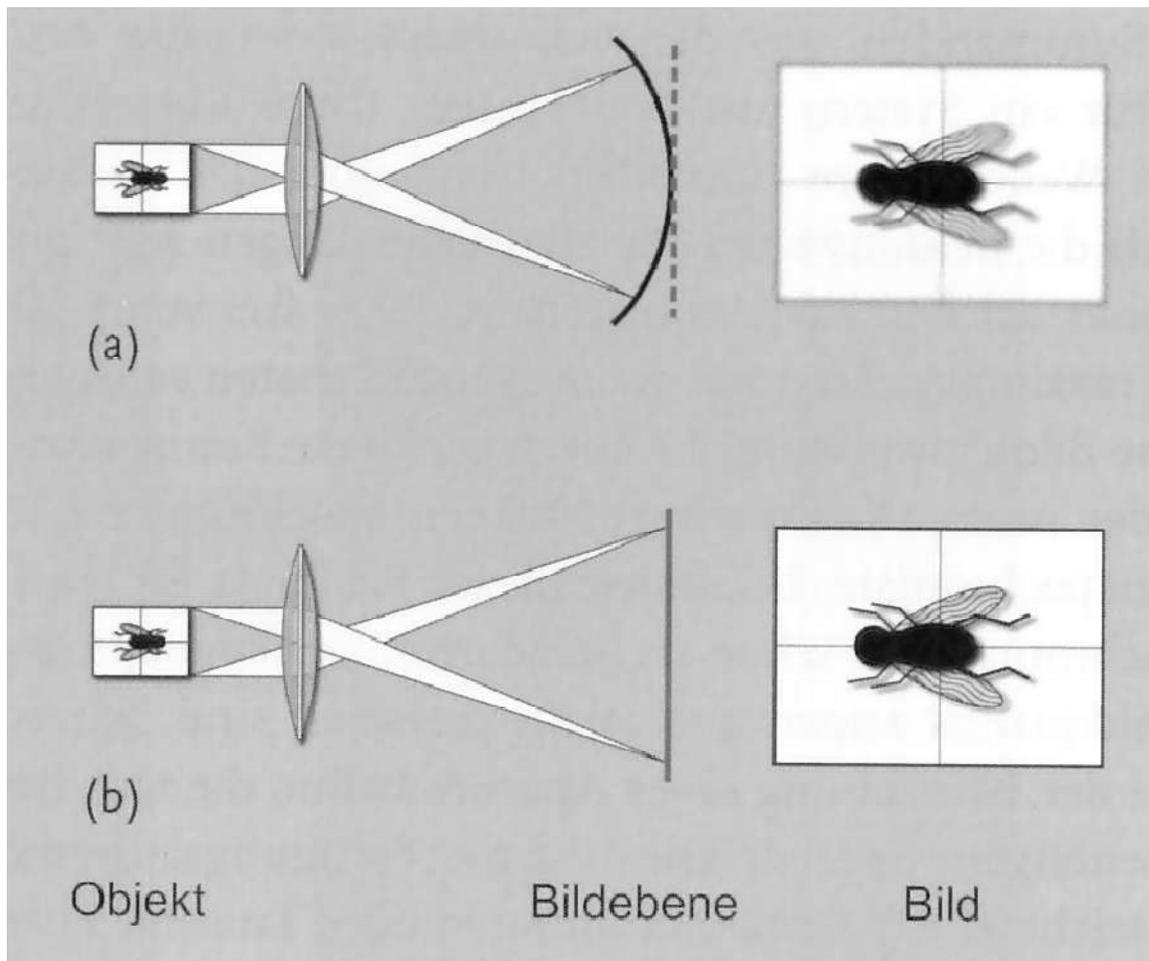


(a) einfache Positivlinse, (b) Achromat aus Positiv- und Negativlinse

- Achromat kompensiert die Abweichung für rotes und blaues Licht
große Dispersion der Positivlinse wird mit kleiner Dispersion der relativ kleinbrennweitigen Negativlinse kompensiert
- Apochromat kompensiert den Restfehler im grünen Spektralbereich

Ebene Bilder: Planobjektive

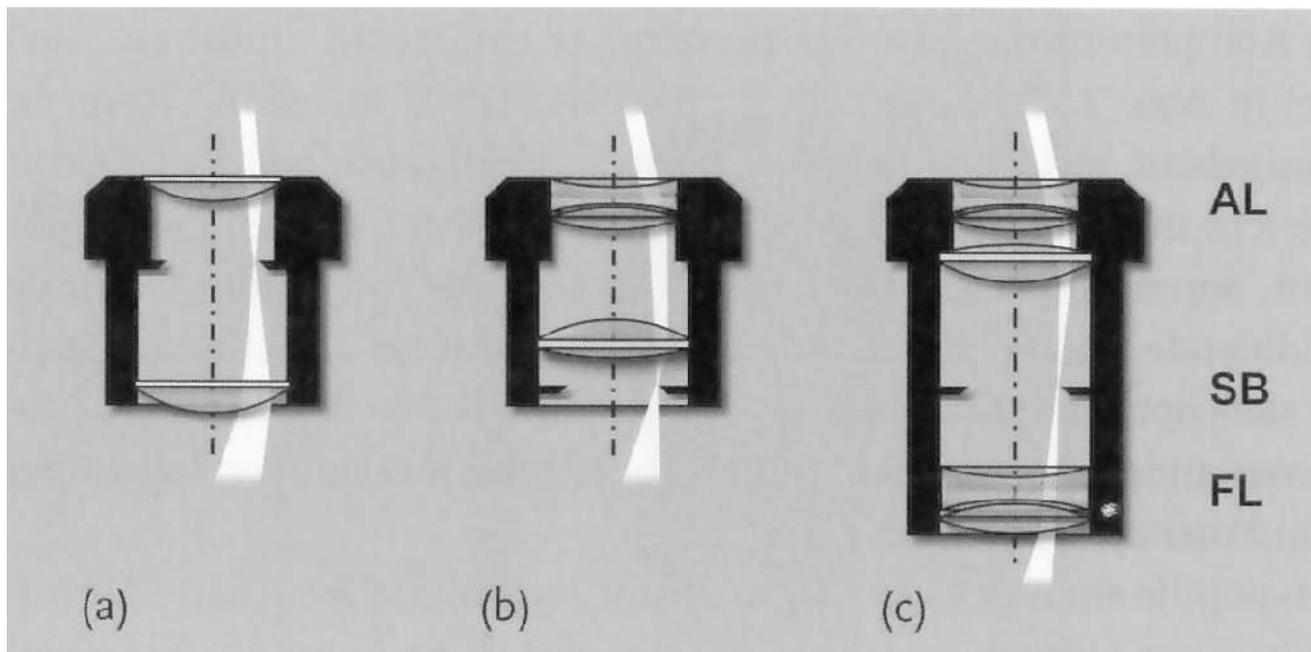
- Bildfeldwölbung verhindert homogene Fokussierung



- kompensierende Linsen speziell gekrümmt
- Verbindung von Farb- und sphärischer Korrektur

Okulare

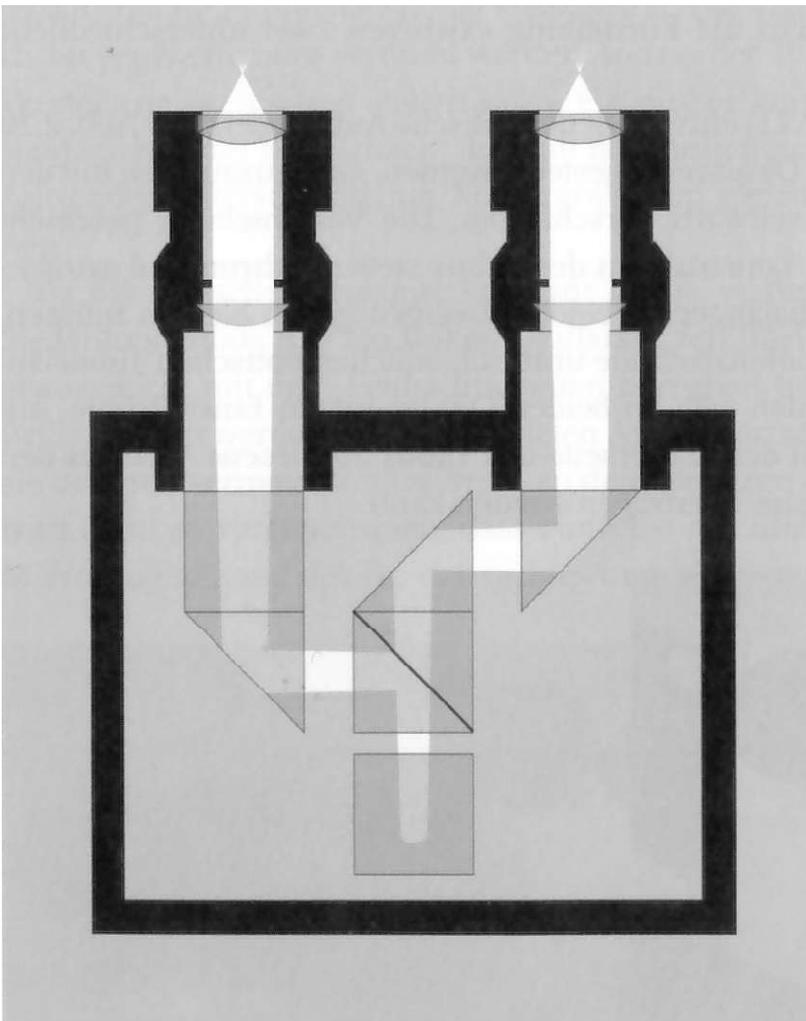
- einfache Formen mit zwei Linsen: Feldlinse FL und Augenlinse AL, ggf. Sehfeldblende SB



(a) Huygens-O., (b) Kellner-O. mit Augenlinse als Achromat, (c) Periplan-O. (kompensiert Fehler stärker vergr. Objektive)

Beobachtungstuben

- trägt Okulare und definiert Tubuslänge
- monokular bis trinokular
- Aufbau eines einfachen Schiebetubus' (Augenabstand durch seitliches Schieben einstellbar, für beide Augen müssen Tubuslängenänderungen angepaßt werden)



- heute dominant: Siedentopf-Tubus: Lichtweg bleibt bei Abstandsänderungen gleich