

PRAKTISCHE

EINFÜHRUNG

IN DIE

MIKROSKOPIE

Programm Mikroskopierkursus

1. Einführung

1. Mikroskopaufbau/ Objektiv/Okular
2. Kondensator mit Irisblende und Filterhalter
3. Die Beleuchtung
4. Hilfsmittel und Zubehör
5. Arbeiten mit dem Objektführer/ Der Nonius
6. Hellfeldbeleuchtung

2. Beleuchtungstechniken 1

1. Hellfeldbeleuchtung
2. Schiefe Beleuchtung
3. Dunkelfeldbeleuchtung
4. Rheinbergbeleuchtung
5. Auflichtbeleuchtung

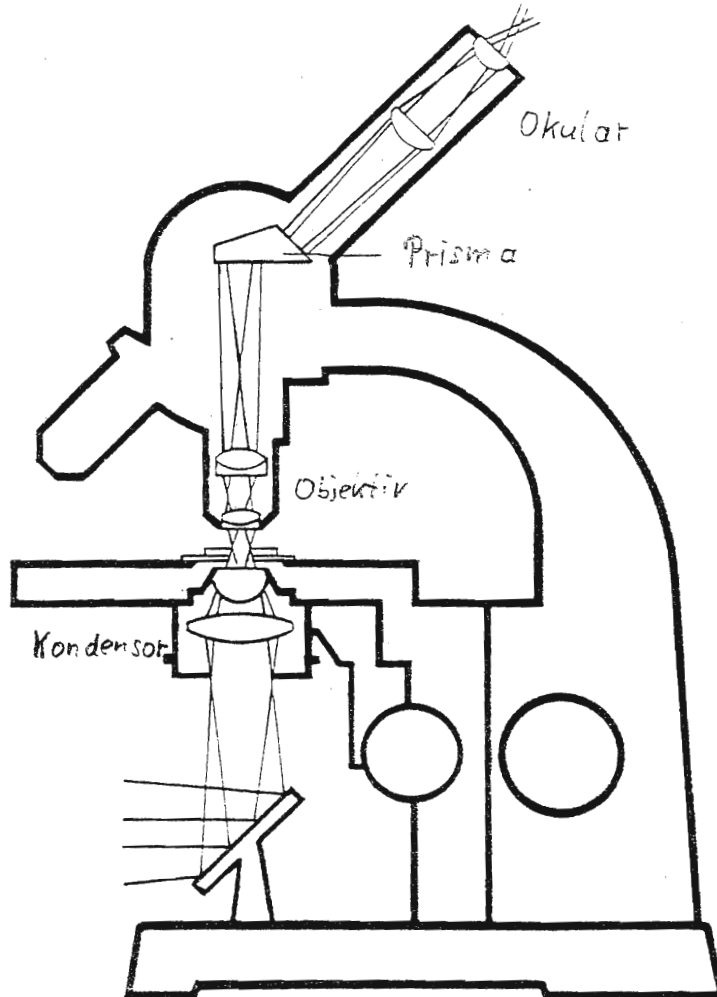
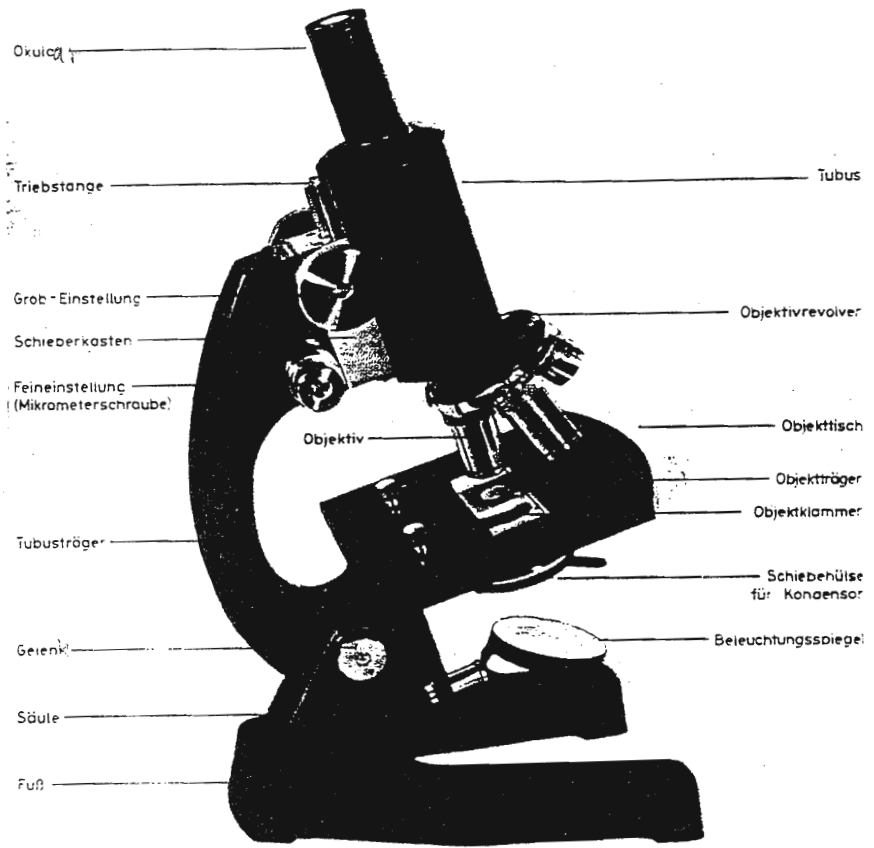
3. Beleuchtungstechniken 2

1. (Phasenkontrastbeleuchtung)
2. Polarisiertes Licht/ einfach und doppelt brechende Stoffe
3. Übungen: Wir "züchten" Kristalle

4. Färbungstechniken mit Übungen

5. und weitere Tage: Mikroskopieren von Objekten nach Lust und Laune.

1.1. Mikroskopaufbau:



Strahlengang im Mikroskop.

1.1. Objektive:

Mikroskopobjektive werden in einen "Objektivrevolver" mit drei, vier oder fünf Gewindeanschlüssen eingeschraubt. Das Mikroskopgewinde ist International genormt und hat einen Durchmesser von ca 23 mm.

Mikroskopobjektive können folgende Gravuren haben:

- a) eine große Zahl z.B. 4/ 10/ 25/ 40/ 100 oder andere; das ist die Vergrößerung .
- b) die Zahl 160 oder 170; das ist die mechanische Tubuslänge in mm, bei der das Objektiv seine beste Schärfe zeigt.
- c) die Zahl 0.17 gibt die Deckglasstärke an, die in das Objektiv mit hinein gerechnet ist.
- d) eine weitere Zahl hinter der Vergrößerung z.B. 10/0.25 oder 40/0.65 gibt die numerische Apertur an. Sie liegt meist zwischen 0.1 und 1.3 und ist ein Maß für die Auflösungsfähigkeit des Objektivs. Wir können uns merken, daß man nicht mit einer höheren Vergrößerung als das 1000fache der numerischen Apertur arbeiten darf. Eine weitere Vergrößerung würde nur noch eine Lehrvergrößerung bedeuten d.h. es werden keinerlei Details mehr darüber hinaus aufgelöst! Objektive mit mit einer nA über 1 dürfen nur mit Immersionsöl verwendet werden. Darauf verweist die Gravur "Öl" !
- e) ein Ph sagt uns, das es sich um eine "Phasenkontrast"-Optik handelt.
- f) SPL oder PL bedeutet Semiplan bzw. Plan; d.h. das mikroskopische Bild ist bis an den Rand scharf. Wichtig bei der Mikrofotographie.

1.3. Okulare

Oben im Tubus steckt lose das Okular. Als Gravur trägt es eine Zahl. Es ist die Eigenvergrößerung des Okulars. Desweiteren bedeutet ein "W", daß es sich um ein Weitwinkel-Okular handelt. Bei einem "P" um ein Planokular. Planokulare ebnen das Bildfeld.

Die Vergrößerung des Okulars multipliziert mit der Vergrößerung des Objektivs ergibt die Gesamtvergrößerung der Kombination, z.B. $10 \times 12.5 = 125$.

1.4. Der Kondensator

Unter dem Objektisch sitzt in einer Schiebehülse der Kondensator. Dieser ist ein kurzbrennweitiges Linsensystem, das den Lichtstrahl gebündelt in das Objektiv bringt. Über einen kleinen Hebel wird die Kondensatorblende, auch Irisblende genannt, eingestellt. Mit dieser kann die wirksame Öffnung der Mikroskopoptik verkleinert werden (abblenden). Sie darf aber nicht zur Regulierung der Bildhelligkeit verwendet werden. Die Bildhelligkeit darf nur mit der Beleuchtungseinrichtung geregelt werden.

Nach unten schließt der Filterhalter den Kondensator ab. Hier werden spezielle Filter für verschiedene Beleuchtungseffekte eingelegt.

Der Kondensator sollte zentrierbar sein und in der Höhe verstellbar.

1.5. Die Beleuchtung

Zur Beleuchtung dient entweder eine im Fuß fest eingebaute Leuchte; dies ist bequem, aber nicht notwendig, oder ein allseitig verstellbarer Spiegel.

Arbeiten wir mit dem Spiegel, so richten wir ihn auf eine

möglichst großflächige Lichtquelle, z.B. Himmel; aber jede andere Kunstlichtquelle ist ebenso geeignet. Bei Arbeiten mit Glühlampen legen wir ein Blaufilter in den Filterhalter ein. Dies bewirkt ein Anheben der Farbtemperatur. Unser Auge empfindet dies als natürlicher. Bei Benutzung einer punktförmigen Lichtquelle (z.B. Sonne) benutzen wir die Mattscheibe.

1.6. Hilfsmittel und Zubehör

Objektträger und Deckgläser;

Papier, Bleistift und Radiergummi;

Pipette, spitze Pinzette, Rasierklingen;

Schere, fusselfreies Papier (Küchenrolle);

Benzin, Feuerzeug, farbloser Nagellack;

zum Färben: Hohlschliffobjektträger oder Tüpfelplatte;

für hohe Vergrößerungen: Immersionsöl.

Ein wichtiges Zubehör für's Mikroskop ist ein Objektführer, auch Kreuztisch genannt. Mit diesem können wir unser Präparat sehr feinfühlig auf dem Objektisch bewegen.

Besondere Skalen mit 1/10 mm Teilung lassen uns ein Objekt immer wieder auffinden.

1.7. Objektführer

Auf dem Objektisch ist mit einer Rändelschraube der Objektführer montiert. Über zwei Einstellschrauben lässt sich der Objektträger kreuzförmig über den Objektisch bewegen, d.h. in der x - Achse von links nach rechts und zurück;

in der y - Achse von oben nach unten und zurück.

Zum Wiederauffinden einer bestimmten Position dient eine Skala mit Millimeter-Teilung. Weiterhin ist noch eine zweite Skala angebracht, es ist der Nonius. Dieser erlaubt ein ablesen bis auf 1 / 10 mm genau (wie bei einer Schieblehre).

1.8 Noch ein paar Tips für praktisches Arbeiten

- a: Beim Arbeiten mit einem monokularen Tubus nie ein Auge "zukneifen", sondern mit dem freien Auge am Tubus vorbeischaun.
- b: Kontrolle der Lichtführung ohne Okular.
- c: Zuerst immer mit der kleinsten Vergrößerung beginnen.
- c: Den Objektivrevolver immer in dieselbe Richtung drehen.
- d: Niemals darf man bei Objektiven mit geringem Arbeitsabstand das Objektiv ohne einen Blick von der Seite auf das Präparat senken. Man würde es nicht merken, wenn es auf das Präparat stößt. Die Frontlinse kann beschmutzt oder gar beschädigt werden. Die Arbeitsabstände der verschiedenen Objektive liegen ungefähr bei: 20 mm für das 4fache; 7 mm für das 10fache; 1 mm für das 25fache; 0,7 mm für das 40fache und 0,1 mm für das 100fache. Bei Arbeiten mit schwacher Vergrößerung können wir auch umgekehrt vorgehen. Wir stellen dann einen geringeren Arbeitsabstand ein und bewegen das Objektiv von unten nach oben.
- e: Nach Gebrauch dreht man immer den Revolver mit dem Objektiv der kleinsten Vergrößerung zum Objektisch.

2. Beleuchtungstechniken 1

2.1. Hellfeldbeleuchtung

Das ist die wichtigste Beleuchtungstechnik. Mit dieser werden wir alle mikroskopischen Untersuchungen beginnen. Hierbei fällt das Licht direkt durch das Objekt ins Objektiv. Durch die Objektstrukturen mit unterschiedlicher Transmission wird der Lichtstrom moduliert. Wir sehen dadurch das Objekt durch seinen Schatten (wie ein Kirchenfenster, durch das die Sonne hindurchscheint). Mit der Kondensorblende wird hierbei auf beste Kontrastleistung eingestellt.

2.2. Schiefe Beleuchtung

Die schiefe Beleuchtung ist eine abgewandelte Hellfeldbeleuchtung. Wir erhalten sie, indem wir in den Filterhalter eine bis zur Hälfte abgedeckte Glasscheibe einlegen. Hierdurch wird die Beleuchtung unsymmetrisch. Das Ergebnis ist eine Beleuchtung, die unser Objekt reliefartig erscheinen läßt, so als würde das Licht von der Seite über das Objekt streichen und zarte Schatten werfen. Hiermit können wir bei sehr kontrastarmen Objekten, z.B. Lackabdrücken, die ja nur aus Dickenunterschieden bestehen, noch sehr interessante Einzelheiten beobachten.

2.3. Dunkelfeldbeleuchtung

Bei der Dunkelfeldbeleuchtung ersetzen wir das in den Filterhalter eingelegte Glasscheibchen durch eines mit einer zentralen, schwarzen Abdeckung. Diese muß so groß sein, daß wir nun bei herausgenommenem Okular überhaupt kein Licht mehr sehen. Wenn wir jetzt ein Objekt auf den Objektisch bringen, so werden die lichtbrechenden Strukturen doch etwas Licht ablenken und so in unser Auge gelangen lassen. Nun sehen wir

alle Objektstrukturen hell vor schwarzem Untergrund. Diese Art der Beleuchtung ist sehr eindrucksvoll. Wir können nun Dinge sehen, die oftmals mit der Hellfeldbeleuchtung nicht möglich sind. Es ergeben sich dabei oft dramatische Lichteffekte. Aber leider sehen wir auch alle Verunreinigungen nur überdeutlich, so, daß eine saubere Arbeit angebracht ist!

2.4. Rheinbergbeleuchtung

Der Ort für die Rheinbergbeleuchtung ist wieder der Filterhalter. Sie ermöglicht uns ein "Färben mit Licht". Ersetzen wir nun die schwarze Abdeckung auf der Glasscheibe durch eine lichtdurchlässige Farbige, so sieht man nun das Objekt hell vor einem farbigen Hintergrund, da noch etwas Licht auf geradem Wege in unser Auge gelangen kann. Das ist die einfarbige Rheinbergbeleuchtung. Färben wir den lichtdurchlässigen Ring um die farbige Blende mit einer anderen Farbe ein, so erhalten wir die zweifarbige Rheinbergbeleuchtung. Bei dieser sehen wir nun das Objekt von den farbigen Randstrahlen durchflutet auf andersfarbenem Hintergrund leuchten. Kontrastarmen Objekten können wir durch diese Technik mehr Ausdruck verleihen. Aber dennoch sollten wir nicht übertreiben, denn sonst heißt es: "von Natur keine Spur".

Bei all diesen Beleuchtungstechniken von Punkt 2.2 bis 2.4 bleibt die Kondensorblende normalerweise geöffnet. Durch leichtes Heben und Senken des Kondensors kann der Kontrast noch etwas verändert werden. Diese Beleuchtungstechniken sind nur mit schwach bis mittelstark vergrößernden Objektiven möglich. Für starke Vergrößerungen benötigt man einen besonderen Dunkelfeldkondensor. Für unsere Arbeiten ist die "Selbstbaumethode" aber vollkommen ausreichend.

2.5. Auflichtbeleuchtung

Die Auflichtbeleuchtung benötigen wir zur Betrachtung von lichtundurchlässigen Objekten. Hierzu beleuchten wir mit ein oder zwei Lampen das Objekt schräg von oben. Wegen der ganz geringen Schärfentiefe unserer Mikroobjektive verwenden wir nur schwache Vergrößerungen bei möglichst ebenen Objekten.

3. Beleuchtungstechniken 2

3.1. Phasenkontrastbeleuchtung

Alle bisher beschriebenen Beleuchtungseffekte wurden vor dem Mikroskopobjektiv erzeugt. Bei der Phasenkontrastbeleuchtung wirkt das Objektiv mit. Hierzu benötigen wir Phasenkontrastobjektive sowie einen speziellen Phasenkontrast-Kondensator. Hierbei wird das Licht durch eine Ringblende im Kondensator über das Präparat in das Objektiv geleitet. Wir sehen das Objekt zart umsäumt vor einem graublauen Hintergrund. Durch diese Lichtführung werden noch zarteste Strukturen sowie die Zellkerne sichtbar. Phasenkontrastobjektive arbeiten mit einem geringen Verlust an Auflösungsvermögen auch im Hell- und Dunkelfeld.

3.2. Polarisiertes Licht

Diese Art der Beleuchtungstechnik setzt einen Umbau des Mikroskopes als Polarisationsmikroskop voraus. Auch diesen können wir mit etwas Geschick selbst vornehmen. Ein Stück Polarisationsfolie wird so zurechtgeschnitten, daß sie in den Filterhalter passt. Es ist der Polarisator. Dieser stellt ein optisches Gitter dar, d.h.: das normalerweise nach allen Richtungen schwingende Licht wird nur in einer Richtung hindurchgelassen (es ist linear polarisiert). Einen zweiten Polarisationsfilter, den Analysator, müssen wir im Strahlengang

oberhalb des Mikroobjektivs drehbar anbringen. Dies geschieht am besten im Tubus selbst. Ist dieses nicht möglich, so wird die Polarisationsfolie in das Okular eingelegt. Sehen wir nun in das Okular hinein und drehen dabei den Tubus (oder das Okular), so wird das Bild bei einer Umdrehung zweimal dunkel und zweimal hell werden. Es werden je zwei Maxima und Minima durchlaufen.

Bei Dunkelstellung spricht man auch von "gekreuzten Filtern". Bringen wir in dieser Stellung nun ein Präparat mit doppelbrechenden Objekten auf den Objektisch, so werden diese hell, oder auch in bunten Farben (Interferenzfarben) aufleuchten. Diese Bestandteile nennt man "Optisch aktiv". Dazu gehören fast alle kristallinen Materialien, Zellulose, Chitin usw..

Das Arbeiten mit polarisiertem Licht gehört mit zu den schönsten "Spielereien" am Mikroskop, was aber nicht bedeuten soll, dass man hierbei nicht auch ernsthaft arbeiten kann. Und Objekte hierfür gibt es wirklich genug!

Durch Eintrocknung von Lösungen aus Wasser oder organischen Lösungsmitteln kann man sich geeignete Kristallpräparate leicht selbst herstellen. Ebenso durch Abkühlen von Schmelzen auf dem Objektträger, mit und ohne Deckglas. Allein die Hausapotheke aus vergangenen Krankheitstagen bildet noch Experimentierstoff für Jahre.