

11.1 Grundlagen des Mikroskops

Das Mikroskop ist die konsequente Weiterentwicklung der Lupe (Kap. 10.1), um kleine Details höher vergrößert abzubilden. Dafür wird die Brennweite der Lupe stark reduziert. Kleinere Objektstrukturen erfordern größere numerische Apertur, um im Bild dargestellt zu werden. Die Fokussierung wird empfindlicher und erfordert feinfühligere Bewegung. Auch die Augenposition so dicht am Objekt ist unangenehm.

Es gelingt kaum die Austrittspupille des Objektivs soweit außerhalb nach der letzten Linse anzuordnen, dass sie für das Auge direkt zugänglich ist. Deshalb wird für visuelle Mikroskope eine zusätzliche Abbildungsstufe eingeführt; es entsteht das *Mikroskop*.

Nach Abbildung der Objektiv-Pupille kann das Auge nun ein ausgedehntes Objektfeld entspannt überblicken (Abb. 11.2). Das Zwischenbild ist ein umgekehrtes und seitenverkehrtes Abbild des Objektes, im Gegensatz zur Lupe, deren virtuelles Bild die Orientierung des Objektes beibehält. Durch Prismen-Anordnungen oder Zwischenabbil-

dung entstehen je nach Mikroskop-Ausführung verschiedenen abgewandelte Bildorientierungen.

Liefert das Objektiv bis zum Zwischenbild einen Abbildungsmaßstab β'_{obj} und das Okular eine Lupenvergrößerung Γ'_{ok} , so ergibt sich für die *Mikroskop-Vergrößerung* Γ'_M :

$$\Gamma'_M = \Gamma'_{\text{ok}} \cdot \beta'_{\text{obj}} \quad (11.1)$$

Für die Abbildung der kleinsten Objekt-Strukturen ist es notwendig, dass mindestens die erste Beugungsordnung aus der *Beugung* (Abb. 11.3) an den Objektstrukturen innerhalb der Apertur-Begrenzung übertragen wird

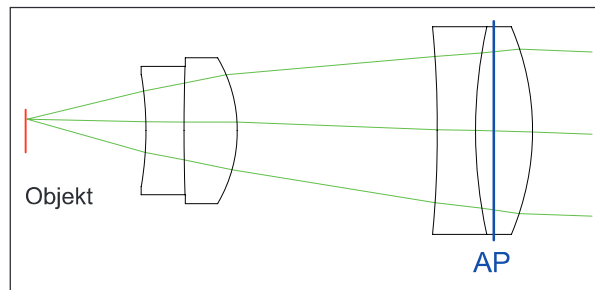


Abb. 11.1 Mikroskop-Objektiv als Lupe: Die optimale Augenposition wäre in der Austrittspupille AP.

11

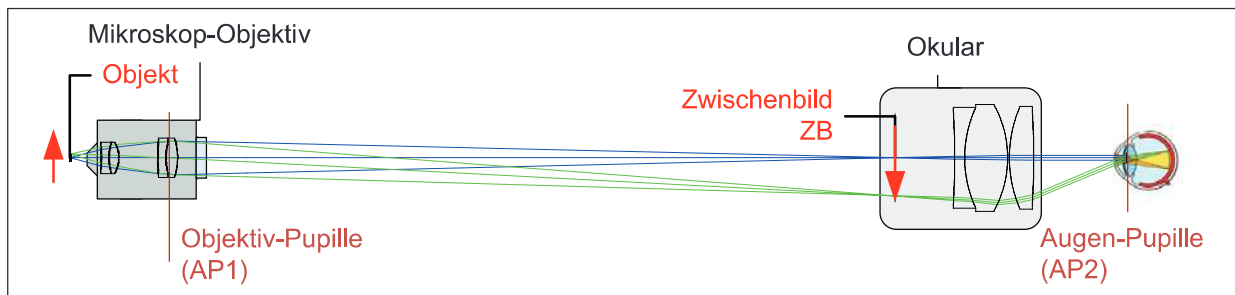


Abb. 11.2 Strahlengang vom Objekt mit Objektiv, Zwischenbild ZB, Okular bis zum Auge in der Position der Austrittspupille nach dem Okular AP2

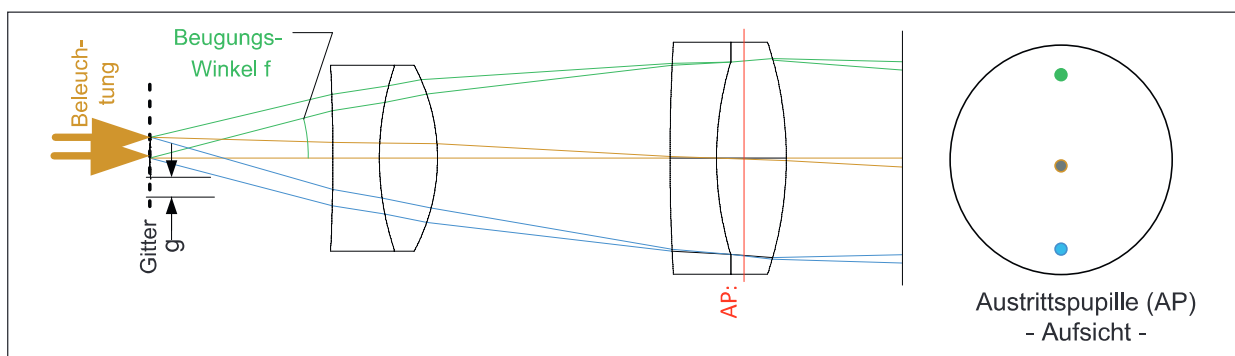


Abb. 11.3 Achszentral beleuchtetes Gitter als Objekt des Mikroskop-Objektivs mit einem Gitterabstand $g = \lambda / (n \cdot \sin(\phi)) > \lambda / NA$; erzeugt durch Beugung in der Objektiv-Pupille einen Fokus (auch erste Beugungsordnung bei Wellenlänge λ genannt): Der rechte Kreis stellt die Austrittspupille dar, mit einem Fokus des ungebeugten Lichtes im Zentrum. Wenn der Beugungswinkel ϕ kleiner als der Öffnungswinkel α ist, liegen die beiden ersten Beugungsordnungen des Gitters innerhalb der Objektivpupille.

(Abbe 1989). Als Maß für die Öffnung der Objektive am Mikroskop wird die *numerische Apertur NA* verwendet:

$$NA = n \cdot \sin(\alpha); \tag{11.2}$$

α – halber Öffnungswinkel,
 n – Objektraumbrechzahl

Die NA eines Mikroskop-Objektives stellt das grundlegende Leistungsmerkmal für die Erkennbarkeit von Objektdetails dar.

Damit in Abbildung 11.3 nicht nur die Gitterperiode übertragen wird, sondern auch eine Objekt-Ähnlichkeit entsteht (Form der Gitterkanten), kann die Beleuchtung mit einer angemessenen Beleuchtungs-Apertur nA_{Bel} erfolgen (Abb. 11.9). Als gute Abschätzung der *Mikroskop-Auflösung* für die bei Hellfeld-Beleuchtung unterscheidbaren Strukturgrößen Δy gilt das Rayleigh-Kriterium zur Auflösung zweier Objektpunkte (Gross 2008) mit 15 % Kontrast:

$$\Delta y = \frac{1,22 \cdot \lambda}{nA_{\text{Bel}} + nA_{\text{Obj}}} \tag{11.3}$$

mit $nA_{\text{Bel}} < nA_{\text{Obj}}$

Für andere Kontrastwerte, Objektstrukturen, Beleuchtungsarten oder Mikroskop-Verfahren ändern sich oft nur die Vorfaktoren (statt 1,22) in Formel (11.3). Aus der Kontrast-Definition

$$K = \frac{I_{\text{max}} - I_{\text{min}}}{I_{\text{max}} + I_{\text{min}}} \tag{11.4}$$

ergibt sich für einen Intensitätsunterschied I_{min} zu I_{max} von 26,5% der Bild-Kontrast $K = 15,3\%$ (Abb. 11.4).

Die „förderliche“ *Mikroskop-Vergrößerung* soll die gerade noch auflösbaren Details soweit vergrößern, dass sie mit dem Auge oder einem anderen Empfänger gut dargestellt werden können. Sie hängt somit direkt von der NA des Objektives ab.

Wir wollen die förderliche Mikroskop-Vergrößerung Γ'_M mit Okular-Beobachtung unter der Annahme einer typischen Augenauflösung $\delta_\Delta = 0,58 \text{ mrad}$ ($\approx 2'$ Winkel-Minuten) ermitteln. Dabei sei Δy die objektseitige Auflösungsgrenze, NA die numerische Apertur des Objektives und $\lambda = 0,55 \mu\text{m}$ als mittlere sichtbare Wellenlänge angenommen, sowie auf Analogien zu Formel (11.10) bis Formel (11.12) verwiesen:

$$\delta_\Delta = \frac{\Delta y \cdot \Gamma'_M}{250 \text{ mm}} \tag{11.5}$$

und

$$\Delta y = \frac{0,61 \cdot \lambda}{NA} \tag{11.6}$$

$$\Gamma'_M = \frac{\delta_\Delta \cdot 250 \cdot 1000 \mu\text{m}}{0,61 \cdot \lambda} \cdot NA = 432 \cdot NA \tag{11.7}$$

Für $1' \dots 2'$ Winkel-Minuten Augenauflösung hat sich daraus die Orientierung für die förderliche Vergrößerung am visuellen Mikroskop ergeben:

$$\Gamma'_M < 500 \cdot NA \dots 1000 \cdot NA$$

Ist die Vergrößerung deutlich höher als die Möglichkeiten des Empfängers (z.B. des Auges), so sind die auflösbaren Strukturen zu groß, so dass sie wie bei übermäßiger Nachvergrößerung fotografischer Bilder in den Details ver-

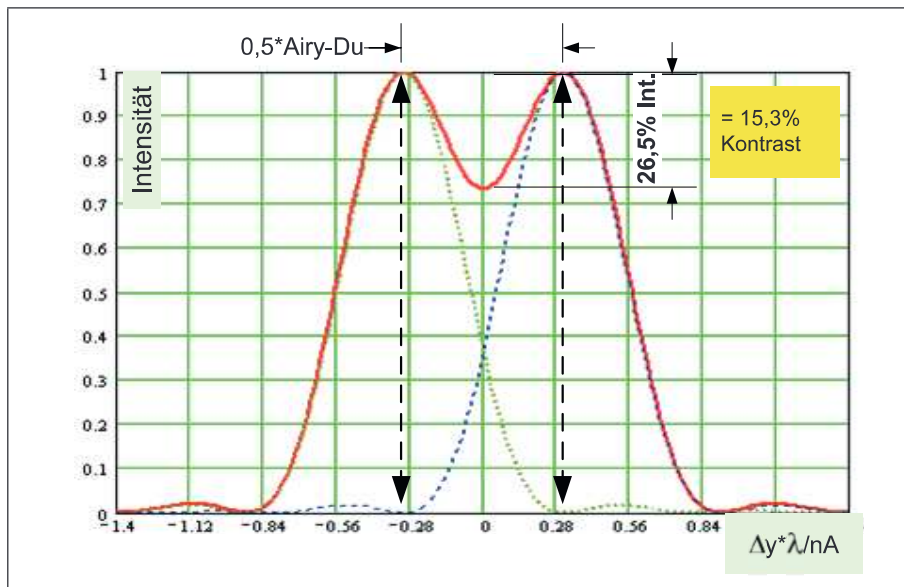


Abb. 11.4
 Rayleigh-Kriterium für Punktauflösung mit 15,3% Bild-Kontrast: zwei leuchtende Punkte im Abstand von $0,61 \cdot \lambda / NA$, was dem halben Airy-Durchmesser entspricht

schwommen, also nicht mehr aufgelöst erscheinen. Zur Veranschaulichung soll die Tatsache dienen, dass bei einer Mikroskop-Vergrößerung $500 \cdot NA$ und Verwendung eines Okulares $10\times$ der beleuchtete Durchmesser in der Augenpupille nur noch 1 mm beträgt.

Angepasste Vergrößerungen am Mikroskop für fotografische Bilder (z. B. bezogen auf die Körnigkeit des Filmes), wie für digitale Empfänger, sind ebenso bezogen auf deren Auflösungsvermögen notwendig. Für klassische Mikroskope mit Okular-Abbildung erfolgt diese Anpassung ge-

gebenenfalls durch Foto- und Kamera-Adapter mit Vergrößerungen von $0,5 \dots 2\times$ bezogen auf das Okularzwischenbild ZB.

Für eine Auflichtbeleuchtung oder das Einbringen von weiteren Bauelementen nach dem Mikroskop-Objektiv sollen nahezu keine störenden Bildfehler erzeugt werden. Deshalb entsteht das Zwischenbild nach dem Objektiv virtuell im Unendlichen und wird erst durch eine Tubuslinse in ein reales Zwischenbild ZB geformt.

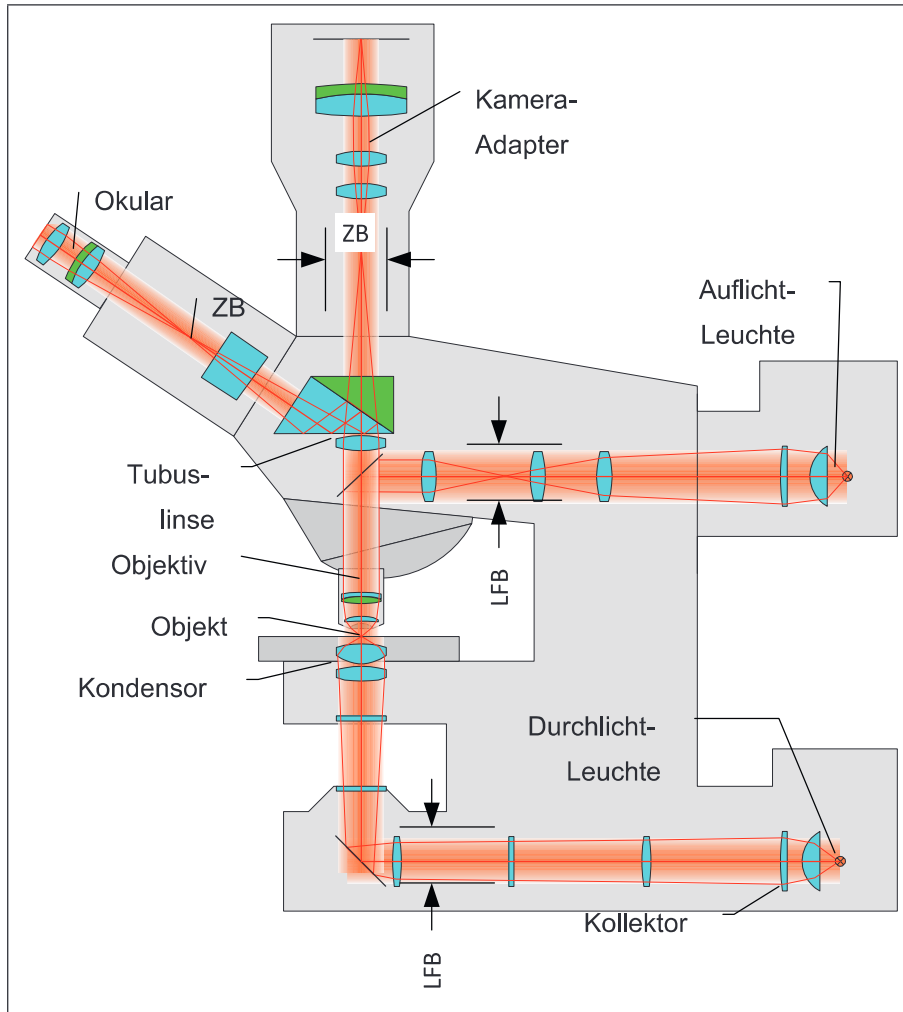


Abb. 11.5 Strahlengänge in einem Mikroskop; konjugierte Ebenen zum Objekt sind: LFB - Leuchtfeldblende (in Beleuchtung), ZB - Zwischenbild (in Abbildung)

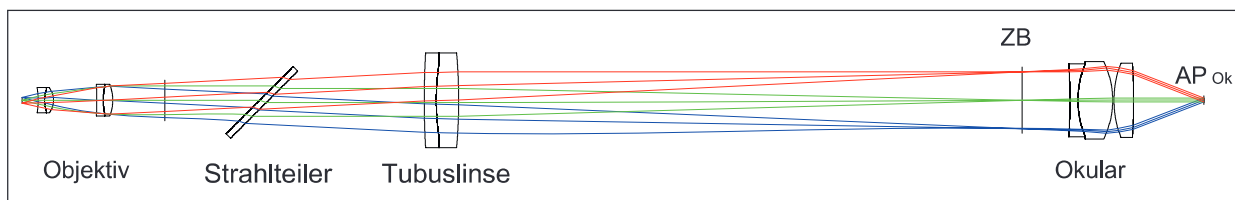


Abb. 11.6 Objektiv $10\times/0,25\text{ oo}/-$ ($f'_{\text{Obj}} = 18\text{ mm}$) ergibt Mikroskop-Vergrößerung $\Gamma'M = 100\times$ mit Tubuslinse $f'_{\text{Tul}} = 180\text{ mm}$ und Okular $10\times$ ($f'_{\text{Ok}} = 25\text{ mm}$)

Dann ergibt sich der Abbildungsmaßstab β'_{Obj} im Zwischenbild aus dem Verhältnis der Brennweiten von Tubuslinse und Objektiv:

$$\beta'_{\text{Obj}} = f'_{\text{Tul}} / f'_{\text{Obj}} \quad (11.8)$$

Für die Mikroskop-Vergrößerung folgt dann (ISO 8039):

$$\Gamma'_M = \frac{250 \cdot f'_{\text{Tul}}}{f'_{\text{Ok}} \cdot f'_{\text{Obj}}} \quad (11.9)$$

Das Modell der optischen Abbildung im Mikroskop geht auf Ernst Abbe zurück (Abbe, E. 1873) und kann in drei Abbildungsschritte geteilt werden (ISO 10934-1: Abbe theory)

- a) Das Objekt beugt das Licht einer Quelle (Abb. 11.3).
- b) Das Mikroskop-Objektiv sammelt einen Teil des gebeugten Lichtes und fokussiert es in seine hintere Brennebene (Abb. 11.3 Austrittspupille). Hier entsteht das primäre Beugungsbild des Objektes.
- c) Das gebeugte Licht wird im Mikroskop weitergeleitet und führt durch Interferenz der Lichtanteile zum primären Bild ZB (Abb. 11.2 und Abb. 11.6).

Eine ausführliche Betrachtung zu den Details der physikalischen Effekte in diesen Schritten ist für die Berechnung und Diskussion der erreichbaren Auflösung und Bildverbesserung notwendig (Singer et al. 2005, Beyer/Riesenberg 1988, Hoffmann 1980).

Wegen der hohen Anforderung an die Abbildungsgüte von Koma und Öffnungs-Fehler im mikroskopischen Bild hal-

ten die Mikroskop-Objektive die Sinus-Bedingung (Kap. 4.5) gut ein.

Damit folgt (vgl. Abb. 1.8):

$$n \cdot \sin(\alpha) = \frac{APD}{2 \cdot f'_{\text{Obj}}} \quad (11.10)$$

nicht nur für den Öffnungswinkel α , sondern auch für jede abgeblendete Öffnung.

Für den Zusammenhang zwischen der Objekthöhe y und dem Feldwinkel δ nach dem Objektiv gilt wegen der zu minimierenden tan-Verzeichnung aber eher Folgendes (Abb. 11.7):

$$\tan(\delta) = \frac{y}{f'_{\text{Obj}}} \quad (11.11)$$

Sehen wir uns den Abbildungsmaßstab β'_{Obj} von Objekt bis Zwischenbild ZB an.

Sei $NA' = n' \cdot \sin(\alpha')$ die numerische Apertur im Zwischenbild, so folgt mit der Sinusbedingung:

$$\beta'_{\text{Obj}} = \frac{y'}{y} = \frac{f'_{\text{Tul}}}{f'_{\text{Obj}}} = \frac{n \cdot \sin(\alpha)}{n' \cdot \sin(\alpha')} = \frac{NA}{NA'} \quad (11.12)$$

Für den Tiefenabbildungsmaßstab m_z gilt für kleine Öffnungswinkel α ein quadratischer Zusammenhang zum lateralen Abbildungsmaßstab β'_{Obj} (Kap. 4.2):

$$m_z = \frac{\Delta z'}{\Delta z} \approx \frac{n'}{n} \cdot \beta'^2_{\text{Obj}} \quad (11.13)$$

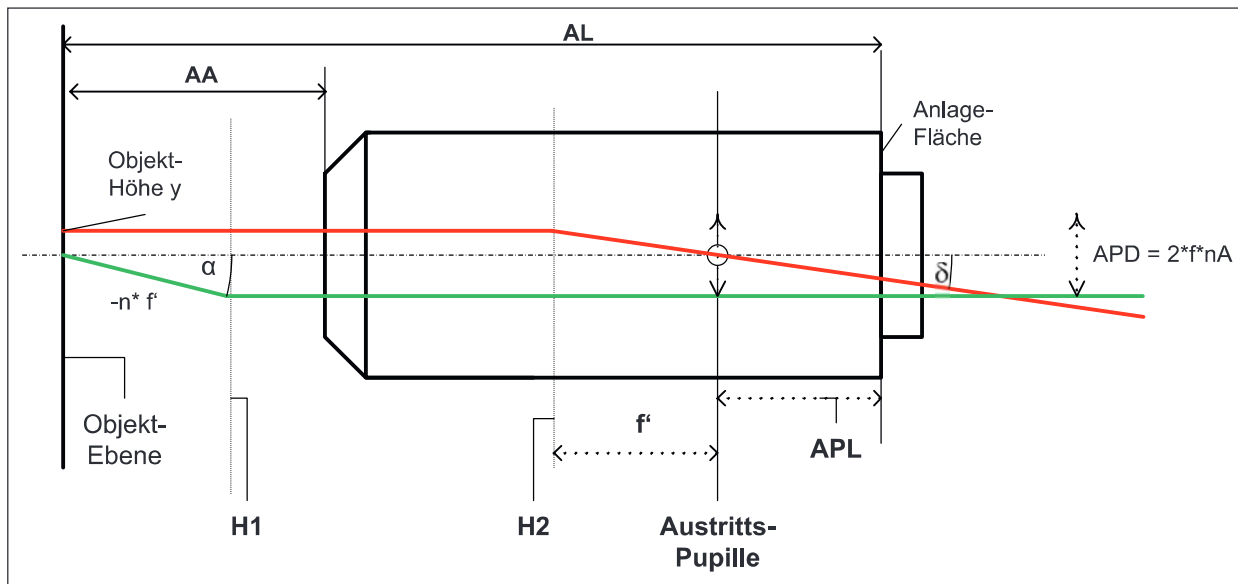


Abb. 11.7 Bezeichnungen und Zusammenhänge zwischen den Grundgrößen eines Mikro-Objektives mit unendlicher Bild-Lage: H1 objektseitige Hauptebene, H2 bildseitige Hauptebene, f' hintere Brennweite; n Brechzahl zwischen Objekt und Objektiv, APL Maß zur Lage der Austrittspupille, AL Abgleichlänge des Objektives (Objekt bis Anlage); AA Arbeitsabstand, APD Durchmesser der Austrittspupille, α halber Öffnungswinkel; δ halber bildseitiger Feldwinkel

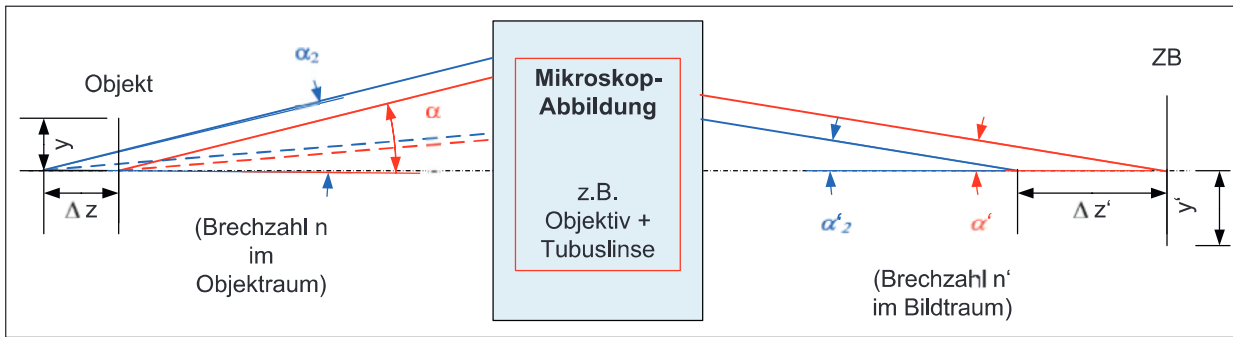


Abb. 11.8 Prinzip-Bild zur Erläuterung der Größen für die Herschel-Bedingung

Bei Einhaltung der Sinus-Bedingung für das Objektiv ergibt sich das Problem mit sphärischen Aberrationen (Abb. 11.8; im blauen Δz -defokussierten Fall). Für eine ausgeglichene aberrationsfreie Tiefenabbildung gilt

$$n \cdot \Delta z \cdot \sin^2\left(\frac{\alpha}{2}\right) = n' \cdot \Delta z' \cdot \sin^2\left(\frac{\alpha'}{2}\right) \quad (11.14)$$

weswegen die Herschel-Bedingung erfüllt werden muss, die im Widerspruch zu der Sinus-Bedingung steht. Außer für $\beta' = 1$ oder -1 entstehen keine exakten Lösungen für beide Bedingungen. In (Braat 1998) ist dargestellt, wie ein Optik-Entwurf mit einem Kompromiss zur Verletzung von Sinus- und Herschel-Bedingung angelegt werden kann.

11.2 Mikroskop-Belichtung und Beobachtungsverfahren

Wir unterscheiden am Mikroskop-Stativ zwischen Durchlichtbeleuchtung für lichtdurchlässige Proben (wie Objekte in Wasser oder dünne Schnitte) und Auflichtbeleuchtung für undurchsichtige Objekte. Während im ersten Fall ein Kondensator die Aufgabe der direkten Objekt-Beleuchtung übernimmt, erfolgt dies im zweiten Fall durch das Objektiv selber.

11

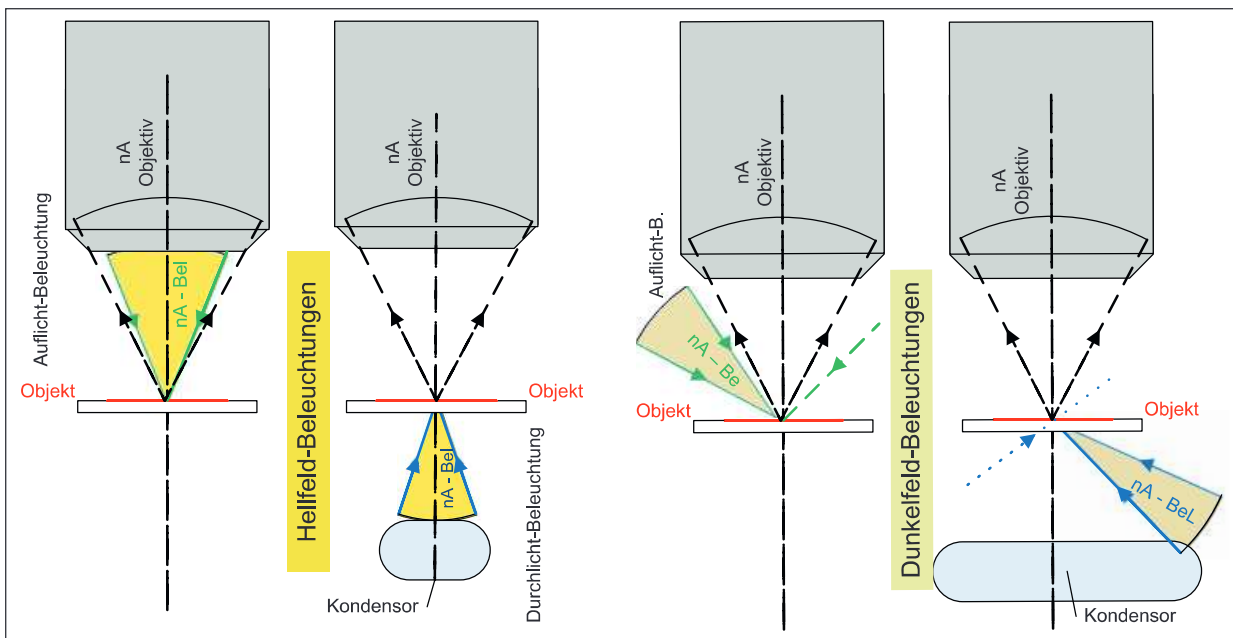


Abb. 11.9 Hellfeld- und Dunkelfeld-Belichtung des Objektes, jeweils im Durchlicht DL und Auflicht AL: Bei Dunkelfeld trifft das direkte Beleuchtungslicht nicht in die Beobachtungspertur.

11.2.1 Hellfeldbeleuchtung

Die Anforderungen an die Mikroskop-Beluchtungen ergeben sich aus den zu realisierenden Mikroskop-Verfahren. Einige noch gültige Grundsätze für die Hellfeld-Beleuchtung gehen dabei auf Köhler (1893) zurück (Haferkorn 1994):

- Das Objekt soll gleichmäßig ausgeleuchtet sein. Dazu wird angestrebt, dass alle Objektpunkte die gleiche Beleuchtungsapertur erhalten.
- Die Größe des beleuchteten Feldes ist auf das abzubildende Objektdetail (Objektfeld) zu beschränken, um Streulicht zu minimieren. Dazu wird eine *Leuchtfeldblende*, möglichst einstellbar, im Beleuchtungsstrahlengang vorgesehen.

Die Beleuchtungsapertur soll an die Abbildungsapertur angepasst sein und kann zur Helligkeits- und Kontrast-Steuerung benutzt werden. Dazu wird eine *Apertur-Blende* vorgesehen. Aus Abbildungs-Simulationen, wie dem Experiment, lassen sich für das *Kohärenz-Parameter*¹ S genannte Verhältnis (Haferkorn 1994) im Bereich $0,7 \dots 0,8$

¹ Es muss darauf hingewiesen werden, dass $S = 0$ den kohärenten Fall bezeichnet und $S = 1$ und größer als inkohärente Abbildung angesehen werden kann, also genau umgekehrt wie zum Kohärenzgrad.

kontrastreiche Mikroskop-Bilder mit noch guter Detail-Betonung erwarten:

$$S = nA_{\text{Bel}}/nA_{\text{Obj}} \approx 0,7 \dots 0,8 \quad (11.15)$$

Da in der Auflichtbeleuchtung das Objektiv auch gleichzeitig der Kondensor ist, erfolgt bei einem Objektiv-Wechsel automatisch eine Brennweiten-Anpassung auch für den Beleuchtungsstrahlengang. Nur die Apertur-Blende der Auflichtbeleuchtung sollte angepasst werden, da die Objektive unterschiedliche bildseitige numerische Aperturen erzeugen.

Teilweise ist der Lichtleitwert der Mikroskop-Leuchten (Produkt aus abstrahlender Fläche und Raum-Abstrahlwinkel) ausreichend groß, um auch in der Durchlichtbeleuchtung ohne Kondensor-Wechsel sowohl die großen Objektfelder der schwach vergrößernden Objektive, als auch die hohen NA, der hoch vergrößernden Objektive auszuleuchten. Dann kann die Anpassung der Lichtröhre durch Beschnitt des Lichtleitwertes des Kollektors mittels Variation von Apertur- und Leuchtfeldblendendurchmesser erfolgen. Die Anpassung der Lichtröhre kann auch durch Kondensor-Wechsel, Ausklappen der Kondensor-Frontlinse oder einem „pankratischen Kondensor“ (Zoom-System) erfolgen. Dadurch kann der Lichtleitwert an der Leuchte kleiner gehalten werden.

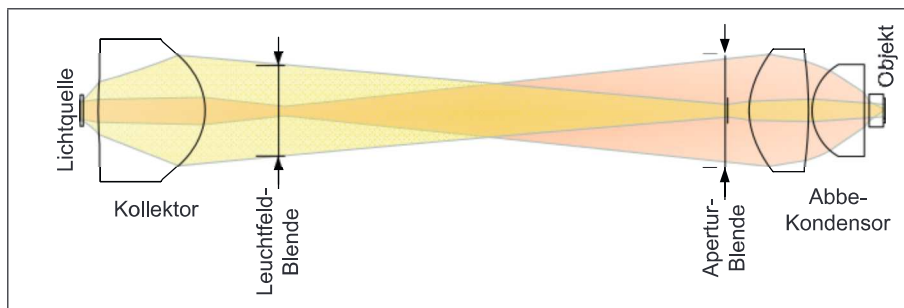


Abb. 11.10
Einfache Mikroskop-Durchlichtbeleuchtung nach Köhler mit Kollektor, Apertur- und Leuchtfeld-Blende und Abbe-Kondensor

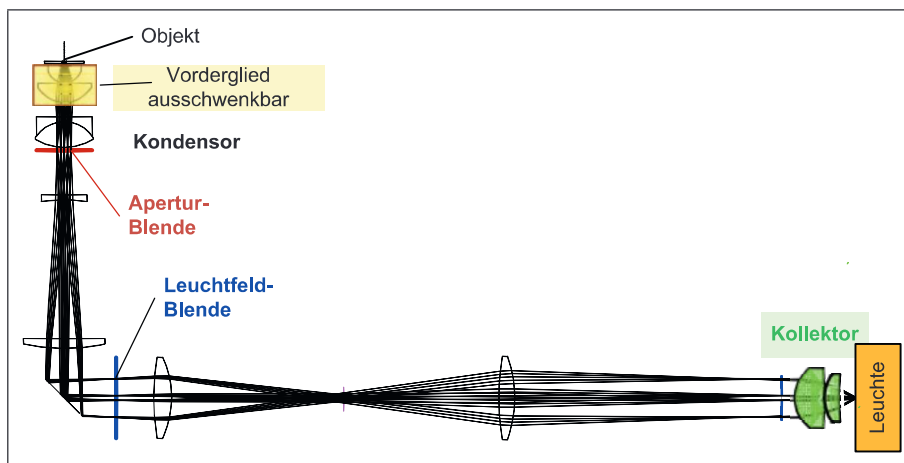
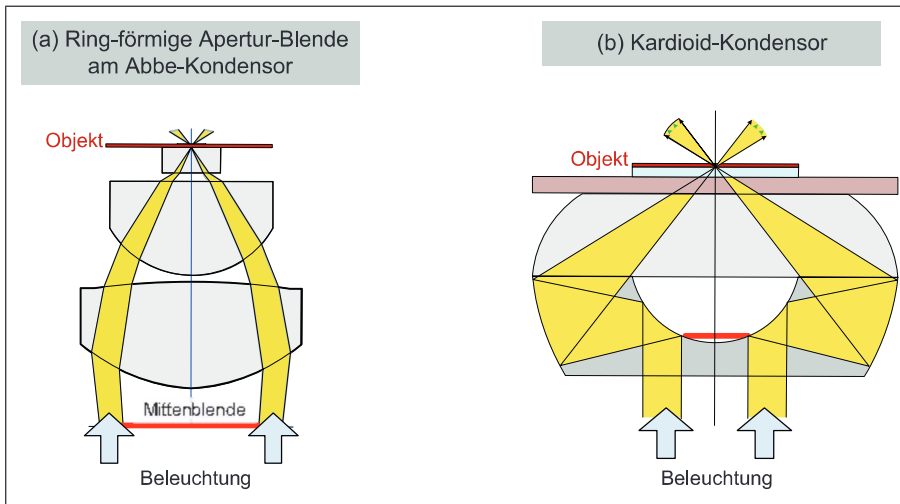


Abb. 11.11
Durchlicht-Beleuchtung mit Klapp-Kondensor und Zwischenabbildung, um die Leuchte außerhalb des Statives anzuordnen: Die ersten zwei Linsen des Kondensors werden zur Anpassung an größere Objektfelder ausgeklappt (im Bild markiert). Die Zwischenabbildung erfolgt, um die Leuchte außerhalb des Statives anzuordnen.

**Abb. 11.12**

Prinzip zur Erzeugung der Dunkelfeld-Beleuchtung: (a) mittels Ring-Blende im Kondensator und Apertur-Blende im Objektiv; (b) Kardiod-Kondensator, mit Umformung des Lichtringes an zwei sphärischen Spiegeln (namensgebend ist die näherungsweise kardioide Form am äußeren Spiegel)

11.2.2 Dunkelfeldbeleuchtung

Bei der Dunkelfeldbeleuchtung werden unstrukturierte Objektbereiche absolut dunkel abgebildet. Das Bild soll nur aus am Objekt gebeugtem oder gestreutem Licht gebildet werden. Dadurch sind ansonsten schlecht wahrnehmbare Details gut zu erkennen. Dieser Effekt ist sicher aus dem Alltag bekannt, wenn bei seitlichem Blick in einen Lichtkegel auch sonst nicht auflösbare Staubpartikel deutlich zu sehen sind.

Die Dunkelfeldbeleuchtung entsteht durch Abblenden der zentralen Beleuchtungsapertur, wenn die vorhandene Hellfeldapertur groß genug ist (Abb. 11.12 a) oder durch Methoden der Lichtführung (Abb. 11.12 b).

Extreme Sichtbarmachung kleiner Details gelingt mit einem großen Winkel zwischen der Beleuchtungsrichtung und der Abbildungsrichtung. Insbesondere bei einseitiger Beleuchtung wird die Objektähnlichkeit dabei beeinträchtigt, da ja kein vollständiges Bild des Objektes entsteht. Das kann bei der einseitigen Dunkelfeldbeleuchtung eindrucksvoll nachgewiesen werden, bei der nur die Kanten von einer Seite ausgeleuchtet werden, die gegenüberliegenden aber im Schatten bleiben (Kap. 11.5, Ultra-Mikroskop).

LED-Lichtquellen können wegen ihrer Besonderheiten (Kap. 6.4) auch im Mikroskop sinnvoll eingesetzt werden. Die Vorteile kommen bei einigen Anwendungen besonders zur Wirkung:

- schnelles Ein-/Aus-Schalten, geringe Probenbelastung bei Fluoreszenzbeleuchtung,
- direkte Erzeugung ausgewählter Spektralbereiche,
- mit adaptiver Beleuchtung schnelle Rohdaten erzeugen und
- lange Lebensdauer.

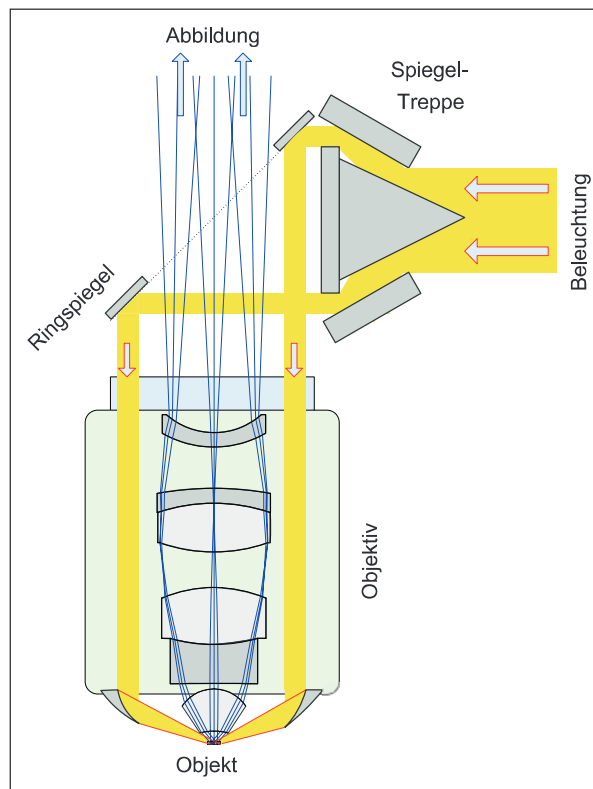


Abb. 11.13 Dunkelfeld-Beleuchtung für hochaperturiges Trocken-Objektiv, Erzeugung eines Lichtringes, mittels eines Ringspiegels: Die Fokussierung auf das Objekt ist kritisch und erfolgt mit einem Spiegel-Ausschnitt nahe der Paraboloid-Form. Für die optimale Auslegung reicht die Betrachtung des dargestellten Schnittes nicht aus.

Dabei sind folgende Schwierigkeiten zu beachten:

- Einstellung der Farbtemperatur,
- für die Applikation ausreichende Leuchtdichten.

11.3 Objektive und Okulare für Mikroskope

Die Bezeichnung von Mikroskop-Objektiven für Unendlich-Systeme, die eine Tubuslinse erfordern, soll an dem Beispiel *C-APO 40x/1,2 ∞/0,17 W* erläutert werden (Abb. 11.14).

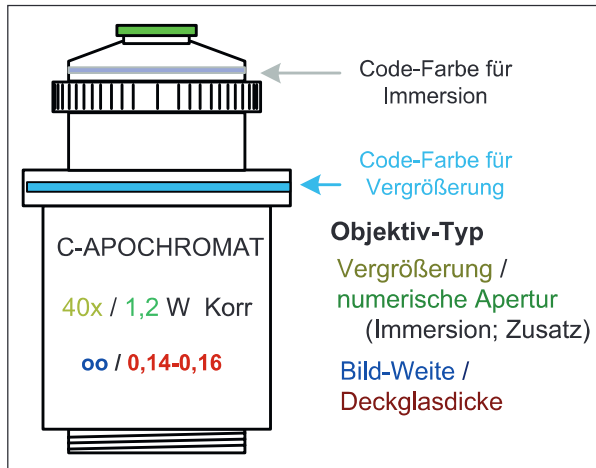


Abb. 11.14 Objektiv-Kennzeichnung nach (ISO 8578)

Vorangestellt ist eine herstellerabhängige Typ-Bezeichnung (mit Hinweis auf Farb-Korrektion (Achromat, Apochromat) und Ebnung (Plan)), hier bedeutet C: geeignet für konfokale Abbildung.

Nach Vergrößerung und numerischer Apertur erfolgt die Angabe des Immersions-Mediums zwischen Objekt und Objektiv (wenn nicht Luft; mit „W“ für Wasser), wie auch zusätzliche Angaben für Besonderheiten (Korr: Einstellung der Deckglas-Dicke) und Eignung für Kontrast-Verfahren.

Im Falle der endlichen Bildweite steht: 40/1,2 160/0,17 W

- für Abbildungsmaßstab 40; $nA = 1,2$ in Wasser;
- Tubuslänge 160 (ohne Tubuslinse verwendbar).

Die Vielfalt der Mikroskop-Objektive ergibt sich aus unterschiedlicher Abbildungsgüte, aus der Spezialisierung auf die verschiedenen Mikroskop-Verfahren und den unterschiedlichen Experiment-Umgebungen im Objektraum zwischen Objektiv und dem abzubildenden Objekt (Deckglas, Immersion, Eindring-Tiefe).

Die Objektivbezeichnungen (ISO 19012-2) beziehen sich auf den Spektralbereich des visuellen Lichtes mit dem Schwerpunkt von blau (ca. 480 nm) bis rot (640 nm). Die führenden Mikroskop-Hersteller bieten auch Objektive für einen erweiterten Spektral-Bereich von 400 – 950 nm mit guter Farb-Korrektur an, die insbesondere für einige Anwendungen der konfokalen Fluoreszenz-Mikroskopie

notwendig sind. Spezielle Applikationen erfordern auch Abbildungen im Bereich unter 400 nm oder im infraroten Spektralbereich, für die jeweils spezielle Objektiv-Ausführungen angeboten werden; so bei (Zeiss) zum Beispiel die C-Apochromate für die entsprechenden konfokalen Mikroskopie-Verfahren.

11.3.1 Mikroskop-Objektiv-Typen

Biologische Präparate werden unter einem Deckglas der Norm-Dicke 0,17 mm geschützt (Abb. 11.15). Das Deckglas muss optische Güte (Dicke, Glas-Homogenität, Brechzahl) haben, insbesondere wenn mit hoher NA gearbeitet wird (ISO 8255). Geringe Brechzahl- und Dicken-Abweichungen lassen sich durch einen am Objektiv einstellbaren Korrekturring (KORR) für die sphärische Aberration kompensieren.

Insbesondere die stärkeren Mikroskop-Vergrößerungen erfordern im Objektiv einen hohen Korrekturaufwand. Dabei sind die numerische Apertur (NA), der Arbeitsabstand (AA), die Güte der Ebnung großer Bildfelder und die Farbkorrektur treibend für den Aufwand, was die folgenden Objektivbeispiele veranschaulichen:

Achromatische Objektive sind häufig aus mindestens zwei verkitteten *Achromaten* (Kap. 4.5) aufgebaut. Bei *Plan-Objektiven* werden Bildfeldwölbung und Astigmatismus durch Menisken im Front und Hinterteil des Objektivs und/oder zusätzliche Negativ-Brennweiten im Mittelteil des Objektivs korrigiert. Um eine Verminderung des *sekundären Spektrums* (Kap. 4.5) bis hin zur apochromatischen Korrektur zu erreichen, werden (teure) Gläser mit anormalen Teil-Dispersionen verwendet und zwar in den Positiv-Linsen flussspatähnliche Gläser und in den Negativ-Linsen passende Kurzflint-Sondergläser.

Ausführliche Diskussion der Korrektionsweisen von Mikroskop-Objektiven bieten (Kap. 42.2 in Gross 2008), auch (Seward 2010). Ein Beispiel für Spiegel-Linsen-Objektive, wie es in Wafer-Inspektionsmikroskopen mit großem Zoom- und breitem Wellenlängenbereich verwendet werden kann, zeigt (Abb. 11.18).

Für die Auflicht-Hellfeld-Beobachtung kommt eine weitere Anforderung an die Mikroskop-Objektive hinzu. Da die Beleuchtung durch das Objektiv geleitet wird, kann das von den Linsen- und Fassungsflächen reflektierte Licht den Kontrast im Bild beeinträchtigen (Abb. 11.19).

Die Risiken für *Auflicht-Reflexe* im Mikroskop-Bild entstehen insbesondere an der Frontlinse durch die häufig verwendeten konzentrischen Flächen (ohne Brechkraft), aber auch andere schwach gekrümmte Linsenflächen. Werden Objekte mit schwachem Kontrast oder großem Streuwinkel bezüglich der Objektiv- NA abgebildet, ist die Wirkung der Auflicht-Reflexe besonders deutlich.

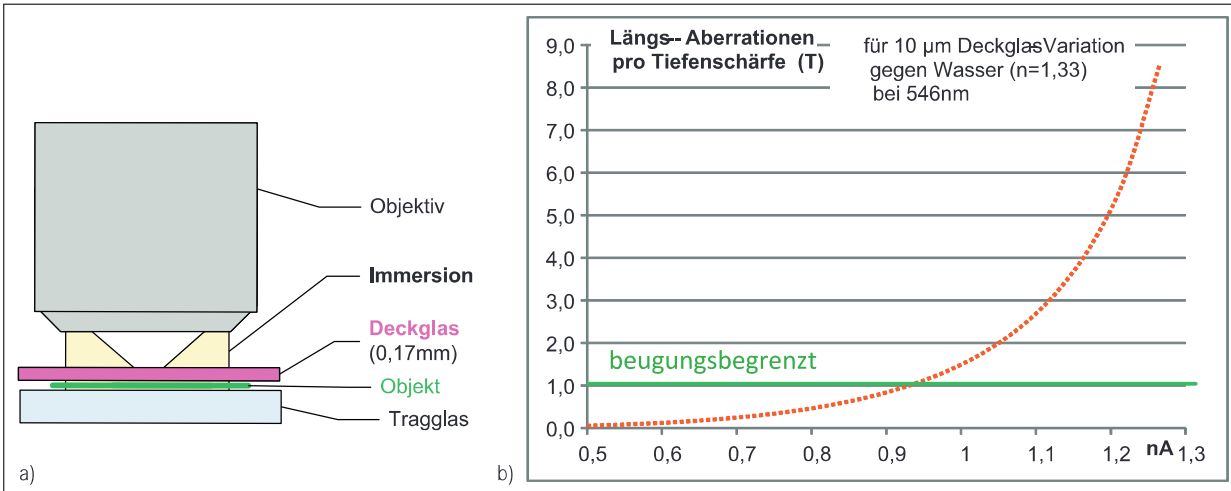


Abb. 11.15 (a) Objektiv mit Deckglas-Anordnung am aufrechten Mikroskop; (b) sphärische Aberration bei 10 µm Deckglasdickendifferenz für Objektive mit Wasser-Immersion und Deckglas-Korrektur (Soll 0,17 mm); Abszisse: NA = 0,5 ... 1,3. Ab NA > 1 sollte das Objektiv mit „KORR“ zur Kompensation ausgerüstet sein, da die sphärischen Aberrationen sonst spürbar werden. (Trockenobjektive sollten diese Funktion schon für NA > 0,75 haben, wegen des größeren Brechzahl-Sprunges zwischen Deckglas und Luft.)

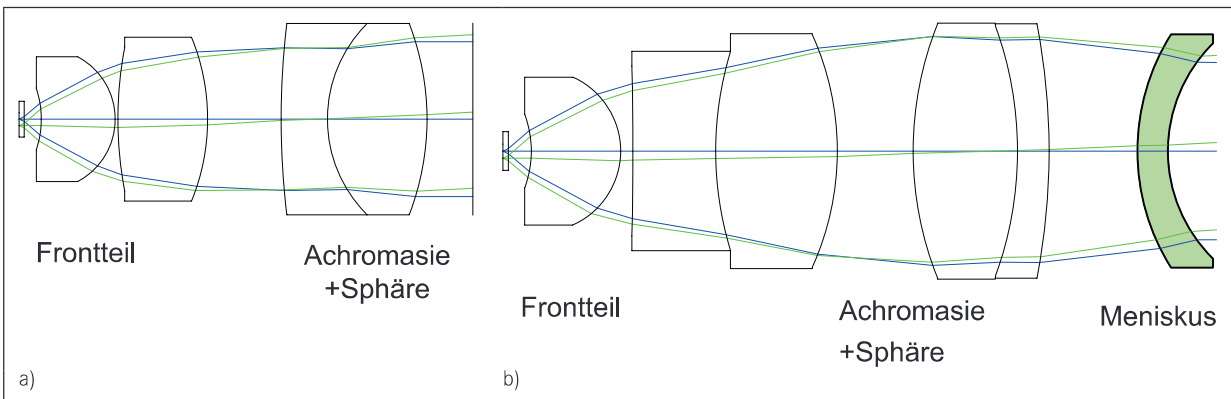


Abb. 11.16 (a) Achromat 40x/0,65, (b) Plan-Achromat 40x/0,65

11

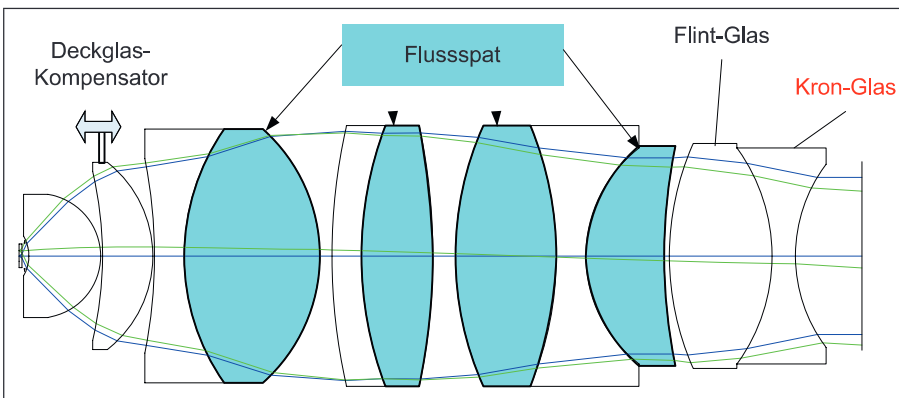
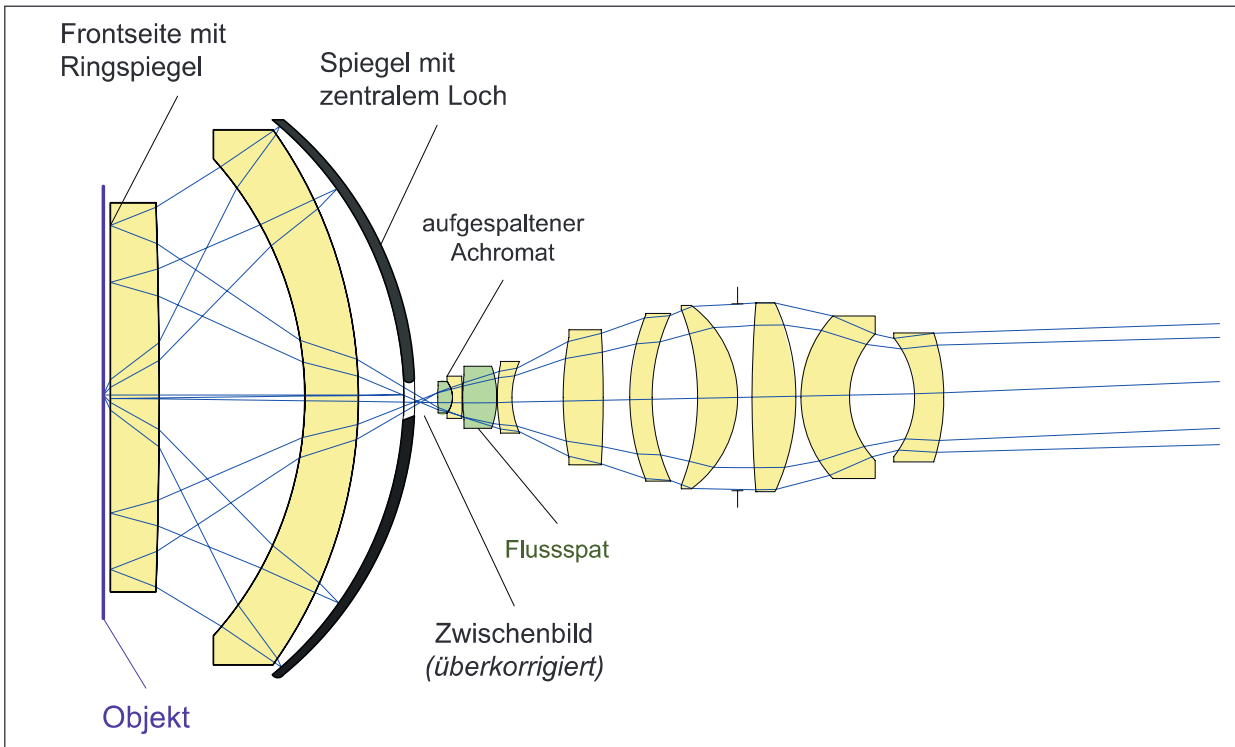


Abb. 11.17
 Objektiv PlanAPOCHROMAT
 40x/0,90 oo/0,17 für Tubuslinse
 $f' = 180$ mm:
 - statt Flusspat auch ähnliche Sondergläser für die Apochromasie möglich,
 - die zweite Linse ist verschiebbar, um Deckglasdicken zu kompensieren (KORR),
 - Gläser im letzten Kittglied erlauben es, den Farbquerfehler zu korrigieren.



11

Abb. 11.18 Katadioptrisches Mikroskop-Objektiv (Spiegel-Linsen-System) aus (Lange/Shافر 2002): In dem vorderen Objektivteil mit dem Spiegel-Paar lassen sich die Aberrationen nicht nur gut korrigieren, sondern sogar etwas darüber hinaus, was im zweiten Objektivteil mit geringerer Eingangs-Apertur aufgebraucht werden kann. Es werden große Arbeitsabstände von mehr als 1 mm und Objektfelder von 1 mm bei NA 0,9 relativ breitbandig auch im UV-Wellenlängenbereich erreicht. Im dargestellten Beispiel sind nur die zwei markierten Linsen als „Kron-Glas“ aus Flussspat, alle anderen aus dem preiswerteren Quarzglas. Durch die Lage des Zwischenbildes in der Nähe des großen Spiegels kann die Mittenabschattung mit < 5% gering gehalten werden, sodass keine nennenswerte Wirkung auf die Abbildung erfolgt.

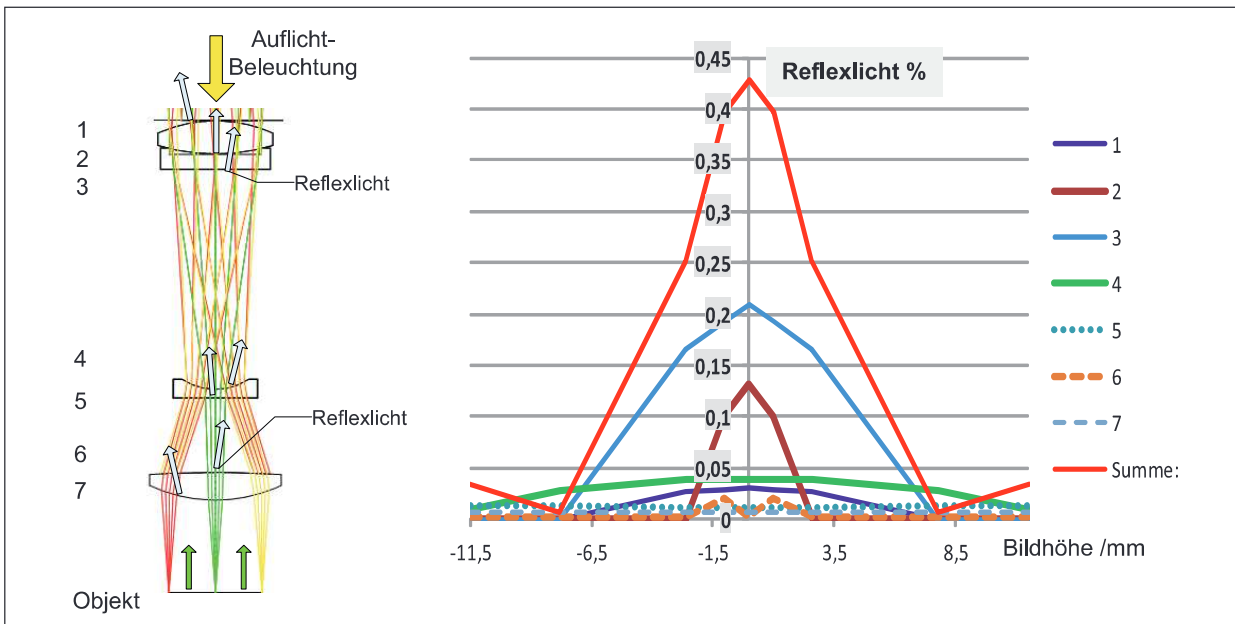


Abb. 11.19 Schnittbild eines schwachen Mikroskop-Objektivs und Tabelle mit Reflexlichtenergien der Einzelflächen, soweit sie den Empfänger erreichen und das Bild überlagern; angegeben relativ zur Abbildung bei 100% spiegelndem Objekt (besonders die Flächen 2 und 3 sind für den zentralen Reflex im Bild verantwortlich!)