

Materialwissenschaftliches Praktikum

Lichtmikroskopie

Versuch MP 02

09-2023

Versuchsziel

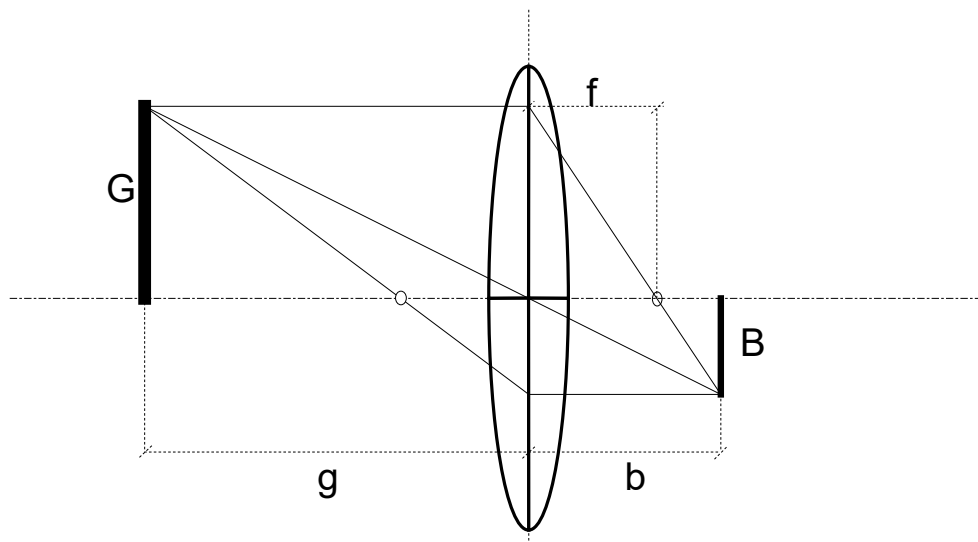
Ziel dieses Versuches ist es, das Gefüge verschiedener Werkstoffe im Lichtmikroskop zu beurteilen. Dabei soll den Praktikumsteilnehmern der Aufbau eines üblichen Lichtmikroskops erläutert werden und ein Überblick über die gebräuchlichsten Einstellungsmöglichkeiten des Lichtmikroskopes, wie Hellfeld, Dunkelfeld, Interferenzkontrast etc, gegeben werden..

Grundlagen

Zum Verständnis der Funktionsweise eines Lichtmikroskops müssen grundlegende Gesetze der Optik Beachtung finden. Einige Begriffe sind im folgenden aufgeführt und kurz erläutert.

Wirkung einer Linse:

Alle von einem Objekt ausgehenden Strahlen treffen wieder auf einem Bildpunkt zusammen, dem Brennpunkt einer Linse. Der Abstand f ist der Abstand von Linsenachse zu der Brennebene, in welcher sich alle parallel einfallenden Strahlen treffen.



Die *Vergrößerung* einer solchen bikonvexen oder Sammellinse ergibt sich gemäß dem Strahlensatz zu: $V = B/b = G/g$

Die *Brechkraft* einer Linse ergibt sich aus dem Kehrwert der Brennweite oder lässt sich aus den Größen Bild- und Gegenstandsweite berechnen zu $1/f = 1/g + 1/b$. Die Masseinheit der Brechkraft ist die Dioptrie.

Die *numerische Apertur* ist der Sinus des halben Winkels den zwei Lichtstrahlen miteinander bilden, die von einem Punkt des Objektes ausgehen, durch den äussersten Rand der Objektivlinse hindurchgehen und noch in das Okular gelangen. (Öffnungswinkel des Objektivs)

Auflösungsvermögen nach Abbe:

Mit Hilfe der Abbe'schen Formel ist es möglich, den minimalen Abstand zweier Punkte zu bestimmen die noch getrennt voneinander wahrgenommen werden können:

$$d_{\min} = \frac{l}{n \sin \alpha} \quad \text{mit} \quad \begin{array}{l} d_{\min} = \text{Auflösungsgrenze} \\ l = \text{Wellenlänge des Lichtes} \\ n = \text{Brechzahl des Immersionsmittels} \\ \sin \alpha = \text{numerische Apertur} \end{array}$$

⇒ das theoretische Auflösungsvermögen eines Lichtmikroskops errechnet sich mit $l = 400 \text{ nm}$ (blau, kürzeste sichtbare Wellenlänge), $\alpha = 72^\circ$ (maximal erreichbarer halber Winkel) und $n = 1,66$ (grösste erreichbare Brechzahl für das Immersionsmittel)

Aufbau des Lichtmikroskops

Das Mikroskop besteht aus zwei Linsensystemen, dem Objektiv und dem Okular. Das Objektiv erzeugt ein reelles Zwischenbild, das vom Okular zu einem virtuellen Bild umgewandelt wird. Dieses Bild ist im Okular zu sehen. Das Mikroskop kann im Durchlicht- oder Auflichtmodus betrieben werden. Im Praktikum wird ausschließlich mit Auflicht gearbeitet. Die Vergrößerung ergibt sich aus $V = V_{\text{Obj.}} \times V_{\text{Ok.}}$.

Die Angaben auf dem Objektiv bedeuten:

z.B.: 10 x/0,25 P

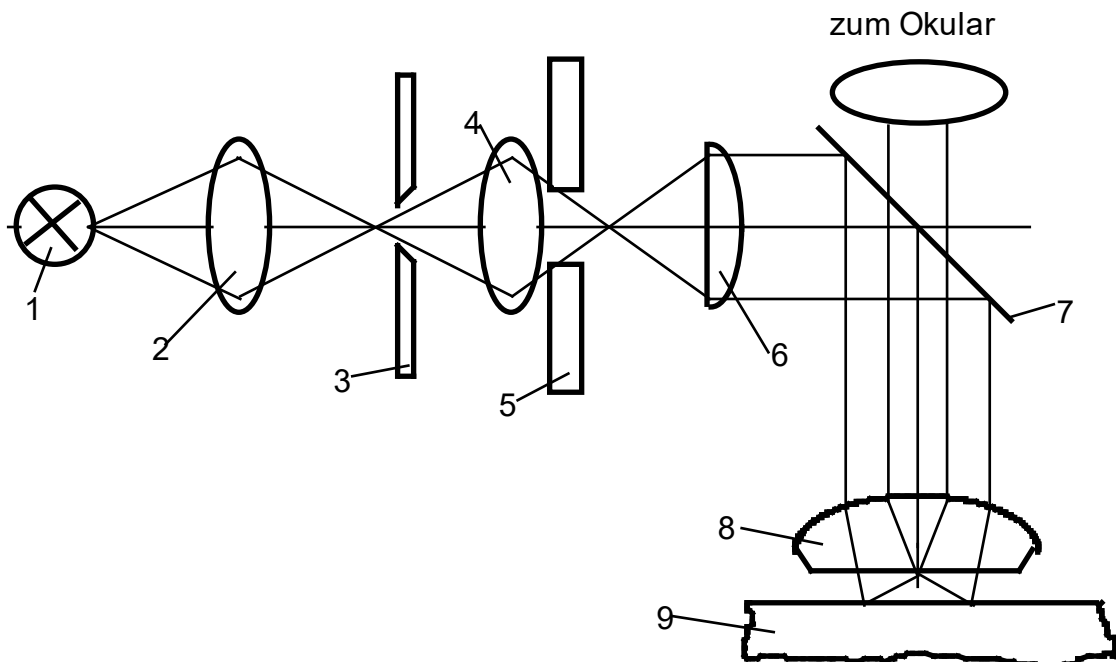
10 x Vergrößerung des Objektivs
0,25 Numerische Apertur
P Extrem spannungsarm ausgelegtes Objektiv
 z.B.: N Plan

Planachromatisches Objektiv, d.h. mit Korrektur des chromatischen Fehlers

Die jeweils benutzte Lampe bestimmt nach der Abbe'schen Gleichung das Auflösungsvermögen des Mikroskops. Für weißes Licht wird mit einer mittleren Wellenlänge von $l = 550 \text{ nm}$ gerechnet.

Die Aperturblende begrenzt den Öffnungswinkel und damit den Kontrast. Die Leuchtfeldblende begrenzt die Größe des ausgeleuchteten Feldes auf der Probe. Das Planglas ist im Prinzip ein halb durchlässiger Spiegel, der das Licht durch das Objektiv auf die Probe lenkt. Das Licht wird senkrecht reflektiert, so daß auch das 0. Beugungsmaximum in das Objektiv gelangt. Von dort wird das Licht durch das Planglas in Richtung Okular gelenkt. Dieser Strahlengang wird als Hellfeldbeleuchtung bezeichnet.

Köhlersches Beleuchtungsprinzip (Darstellung beim Hellfeld)



- | | |
|---------------------|-----------------|
| 1: Lampe | 6: Hilfslinse 2 |
| 2: Kollektor | 7: Planglas |
| 3: Aperturblende | 8: Objektiv |
| 4: Hilfslinse 1 | 9: Probe |
| 5: Leuchtfeldblende | |

Die Dunkelfeldabbildung nutzt einen ähnlichen Strahlengang, wobei jedoch das Licht am Objektiv vorbei über einen Ringspiegel schräg auf die Probe fällt, und so das 0. Maximum nicht in das Objektiv fallen kann. Auf diese Weise entsteht eine Art Negativ der Probe, d.h. es erscheinen nur die Fehlstellen hell.

Bei der Polarisationsmikroskopie wird weißes, linear polarisiertes Licht von einem Polarisator im Beleuchtungsstrahlengang erzeugt. Ein Analysator vor dem

Okular erzeugt, bei einem Winkel von 90° zum Polarisator, Auslöschung. Bei anderen Stellungen zeigen die Proben charakteristische Farben. Mit der Polarisationsmikroskopie ist es möglich, die Oberflächenunebenheiten der Probe besser sichtbar zu machen. Die Auflösung liegt im Vergleich zum Hellfeld um das vierfache höher. Zudem besteht die Möglichkeit, z.B. bei ferromagnetischen Stoffen, die Struktur der magnetisch geordneten Domänen sichtbar zu machen und messen zu können.

Mit Hilfe der im Strahlengang eingebauten Farbfilter ist es möglich, Licht bestimmter Wellenlängen zu erzeugen und so das Auflösungsvermögen zu beeinflussen.

Wesentliche Baugruppen eines Mikroskops

Grundsätzlich lassen sich zwei Bauarten unterscheiden, aufrechte und inverse Mikroskope. Unten stehende Abbildung zeigt ein aufrechtes Mikroskop, bei einem inversen Mikroskop befindet sich das Objektiv unterhalb des Tisches, die zu beobachtende Probenoberfläche zeigt nach unten, wohingegen beim aufrechten Mikroskop die zu betrachtende Probenoberfläche nach oben zeigt. Die wesentlichen Baugruppen eines Mikroskops sind

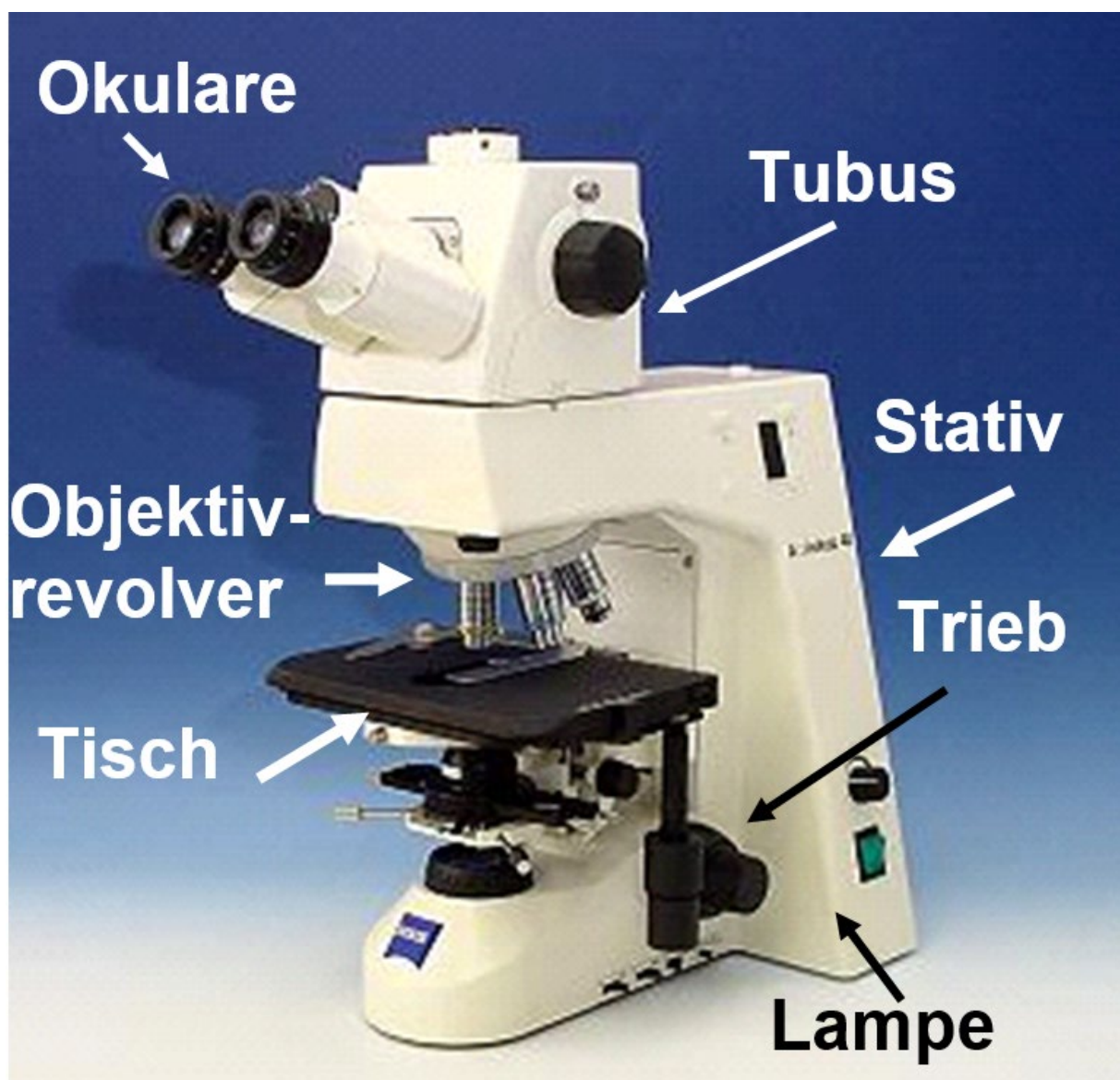
- Das Stativ
- Der Tubus
- Die Okulare
- der Objektivrevolver
- die Objektive
- der Tisch
- die Beleuchtungseinrichtung

Mit dem Grob- (bzw. Fein-) Trieb dient zur Verstellung des Tisches in Z-Richtung zur Einstellung der Schärfe. Grundsätzlich wird das Präparat nahe an das Objektiv herangefahren – aber ohne es zu berühren. Dann wird der Tisch vom Objektiv weg nach unten gefahren, während der Benutzer die Probe durch die Okulare beobachtet, bis das Objekt scharf zu sehen ist. Da die Objektive aufeinander abgestimmt sind, ist bei korrekter Justierung der Übergang von einem Objektiv auf das andere durch Drehen des Objektivrevolvers mit nur geringer Nachvergrößerung möglich. Daher beginnt man zweckmäßigerweise mit einer geringen Vergrößerung und arbeitet sich dann zu stärkeren Vergrößerungen vor.

Am Tisch selbst sind meist noch ein Trieb für die Verschiebung der Probe in x und y Richtung vorhanden. Die Lampe ist am Stativ angebracht, für Durchlicht in der Regel unten, für Auflicht oben. Die Spannungsversorgung ist meist im Stativ integriert.

Grundsätze:

- Berühren Sie keinesfalls das Glas der Objektive – während der Fokussierung nie den Tisch in Richtung Objektiv bewegen.
- Kein Staub .
 - keine Demontage von Teilen ohne Abdeckung der Öffnungen.
 - Staubschutzhülle verwenden aber **Achtung heißes Lampengehäuse** nicht bedecken.
- Nicht an Schrauben für die Justage der Lampe drehen.
- Maximale Spannung für Lampe nur in kurzzeitig in Ausnahmefällen anlegen.



Baugruppen eines Mikroskops (Photo: Axioskop 40, <http://mikro.shopzeiss.de>)

Verwendete Geräte und Materialien

Verwendete Proben: TiO₂ Poliert und thermisch geätzt
 TiO₂/ Ni - Verbundwerkstoff
 GGL

Der Versuch findet an einem Lichtmikroskop Leica DMR statt. Dieses Mikroskop ist, über Kamera und Computer, an eine Software zur quantitativen Gefügeanalyse gekoppelt.

Versuchsdurchführung

Die Teilnehmer haben für das jeweils verwendete Objektiv die entsprechende Vergrößerung und Auflösung zu berechnen. Die Vergrößerung durch die Kamera ist nicht mit einzubeziehen.

Nach der Einführung durch den Praktikumsleiter, sind am Mikroskop folgende Arbeitsschritte auszuführen:

- Strahlzentrierung
Einzustellen nach einem kleinen Sichtfenster an der Seite des Mikroskops.
- Aperturblende / Leuchtfeldblende
Einzustellen nach Einklappen der Bertrandlinse.

Die Proben sind jeweils im Hell-/Dunkelfeld zu betrachten. Ebenso mit dem Polarisationsfilter (ICR-Phasenkontrast). Von den Proben sind Fotos anzufertigen.

Auswertung

Das Praktikum ist mit einem Protokoll, welches

- die Versuchsdurchführung
- die Rechenergebnisse
- angefertigte Fotos
- sowie die Diskussion der Gefügestrukturen

beinhaltet, abzuschließen.

Besonderer Schwerpunkt ist auf die Bewertung des Gefüges als Funktion der verschiedenen Beleuchtungsverfahren und optischen Kontrastierungen zu legen. Die Aussagen sollen mit den Fotos verdeutlicht werden. Die Vor- und Nachteile der einzelnen Beleuchtungsverfahren sind darzustellen.

Literatur

Herman Schumann,: „Metallographie“, Wiley-VCH Verlag, 1991

Jerry Rzeznik: Das Mikroskop, expert verlag 1988

Fragen:

- Was sind die wesentlichen Baugruppen eines Mikroskops
- Wo liegt der Unterschied zwischen Hell- und Dunkelfeld, und was ist auf der Probe zu erkennen ?
- Wie gross ist das maximal erreichbare Auflösungsvermögen?
- Welches maximale Auflösungsvermögen ist mit weißem Licht zu erreichen?

Wie groß ist die förderliche Vergrößerung (Abbesche Regel) für ein Objektiv:
10 x/0,