

04 Mikroskop

① Grundlagen

Vergößerung V : Verhältnis der scheinbaren Größe eines Objektes mit optischem Instrument zur scheinbaren Größe ohne Instrument in der deutlichen Schweite

deutliche Schweite: $V = \frac{\tan \beta'}{\tan \beta}$

Ges. vergrößerung: $V = V_{\text{ob}} \cdot V_{\text{ok}}$

Okularmessplatte: Dient der Größenmessung von Objekten, wird an die Stelle des reellen Zwischenbildes gebracht \rightarrow Größenvergleich

$$V_{\text{ob}} = \frac{B}{G}$$

Auflösungsvermögen: $d = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha} = \frac{\lambda}{A}$ A = numerische Apertur d. Objektives
Kehrwert von $d \rightarrow$ Auflösungsvermögen

Förderliche Vergr.: Vergr. d. Mikroskop-es muss so gewählt werden, dass die kleinsten trennbaren Objektstände d im virtuellen Bild unter einem Winkel von zwei Bogenminuten erscheinen.
Vergrößerungen über diesen Betrag \rightarrow "leere Vergr."

Köhlersche Beleuchtung: Durch die Beleuchtungsanordnung können sowohl die Größe des ausgeleuchteten Feldes, als auch die Größe der Beleuchtungsapertur unabhängig voneinander verändert werden.

Kontraststeigerung: Verfahren: Dunkelfeld-, Phasenkontrast-, Polarisations-, Fluoreszenzmikroskopie dienen der besseren Sichtbarmachung von Strukturen in Präparaten ohne dass diese gefärbt werden.

Dunkelfeldmikroskop: Licht trifft nur aus solchen Winkeln auf das Präparat, die größer sind als die Objektivapertur. Zur Abbildung trägt nur das am Objekt gebeugte Licht bei.

Phasenkontrastmikro.: Im durchgehenden Licht durch Objekte treten Phasenunterschiede auf. Beim Amplitudengitter haben d. Gitteröffnungen -u.-stege unterschiedl. Lichtdurchlässigkeiten. Beim Phasengitter haben die Gitterelemente gleiche Lichtdurchlässigkeiten, aber versch. $n \rightarrow$ kein Bildkontrast

Polarisationskontrast: Polarisationsfilter lassen Licht einer Schwingungsrichtung nahezu vollständig hindurch, absorbieren aber das Licht der \perp Schwingungsrichtung vollständig \rightarrow Dichroismus

② Versuchsaufbau

- Mikroskop „Anastar“
- Hilfsmikroskop
- Polarisationsfilter
- Objektmikrometer
- Objektträger
- Deckgläser
- Präparate: Blutaussstrich, Schnitt einer Maus oder Kaninchenzunge, Hautschnitt, Sehne, Knochenschnitt, Diatomeen

③ Versuchsdurchführung

- alle Einstellungen mit dem Objektiv 10x durchführen
- Fokussierung des Okularmikrometers
- Kontrastreiches Präparat auf Objektisch legen
- Leuchtfeldblende einstellen
- Okular entfernen
- Aperturblende schließen bis Rand gerade sichtbar wird
Beleuchtungsapertur = Objektivapertur
" soll etwa $\frac{2}{3}$ der Objektivapertur betragen
- Bestimmung d. Abbildungsmaßstäbe der Objektive:
- Objektmikrometer wird auf den Objektisch gelegt, Mikroskop scharf stellen
- möglichst großes G wählen \rightarrow B ablesen
- Messungen für alle 4 Objektive durchführen
- Mikroskopische Untersuchung von Präparaten:
- mit schwächster Vergrößerung beginnen \rightarrow bis zur erforderlichen Vergr. schrittweise stärkere Objektive einsetzen
- Blutaussstrich: Durchmesser von 10 E. bestimmen
- Diatomeen-P.: an zwei Objekten Größe der Feinstrukturen messen/schätzen
- Phasenkontrast-P.: Untersuchung d. Strukturdetails mit/ohne Phasenkontrast
- Sehnen-P.: Gefärbter Schnitt mit Pol. Kontrast betrachten
- Knochen-P.: Untersuchung im Hell-, Dunkelfeld u. Pol. Kontrast
- Haar: an 10 Stellen ϕ bestimmen

④ Aufgabenstellung

- Einstellung des Mikroskopes u. der KÖHLERschen Beleuchtungseinrichtung
- Kalibrierung eines Okularmikrometers durch Bestimmung des Abbildungsmaßstabes für mehrere Objektive
- Justierung d. Phasenkontrasteinrichtung
- Beobachtung biologischer Präparate mit versch. Verfahren u. Ausmessung von Strukturen

⑤ Auswertung

40x

	Erythrozyten	Mittelwert	Standardabweichung	
1	7,5 μm	$\bar{x} = 7,25 \mu\text{m}$	s. unten	
2	7,5 μm			
3	6,25 μm			
4	7,5 μm			
5	6,25 μm			
6	7,5 μm			
7	8,75 μm			
8	7,5 μm			
9	7,5 μm			
10	6,25 μm			

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \underline{\underline{\pm 0,79 \mu\text{m}}}$$

Abbildungsmaßstäbe d. Objektive

	Objektiv I 5x	Objektiv II 10x	Objektiv III 20x	Objektiv IV
Gegenstandsgröße G	100	100	50	25
Bildgröße B	50	100	100	100
	50 TS $\hat{=}$ 1000 μ m 1 TS $\hat{=}$ 20 μ m	100 TS $\hat{=}$ 1000 μ m 1 TS $\hat{=}$ 10 μ m	100 TS $\hat{=}$ 500 μ m 1 TS $\hat{=}$ 5 μ m	100 TS $\hat{=}$ 250 μ m 1 TS $\hat{=}$ 2,5 μ m

Beobachtungen

Diatomeen:



Navicula
lyra

10 TS $\hat{=}$ 22 Reihen
1 TS $\hat{=}$ 2,2 Reihen

$$\rightarrow d = \frac{1 \text{ mm}}{22 \times 40} = 0,001 \text{ mm}$$

Auflösungsvermögen: 1:

$$\text{theor. Wert: } d = \frac{550 \text{ nm}}{2 \cdot 0,65} = 423 \text{ nm}$$

$$\hat{=} 423 \cdot 10^6 \text{ mm}$$



Triceratium
favus

20 TS $\hat{=}$ 10 Reihen

$$\rightarrow d = \frac{2 \text{ mm}}{10 \times 40} = 0,005 \text{ mm}$$

Auflösungsvermögen: 1:200

Je weiter die Beleuchtungsoberfläche geschlossen ist, desto höher der Kontrast u. Auflösungsvermögen \rightarrow Strukturen sind besser zu erkennen

Junge Maus

Zellmembranen, Zellkerne, Organelle erkennbar

in Phasenkontrast 1 u. Phasenkontrast 2, 40xer Vergrößerung

Haar Vergr. 40x

Messung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dicke TS	26	29	28	28	27	30	28	27	29	31
Dicke μm	65	72,5	70	70	67,5	75	70	67,5	72,5	77,5

$$\bar{x} = 28,3 \rightarrow 28,3 \cdot 2,5 \mu\text{m} = \underline{70,75 \mu\text{m}}$$

Standardabweichung:

$$s = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$\underline{\pm 3,74 \mu\text{m}}$$

17.01.05



0 10 Polarimeter

① Grundlagen

Licht: Lichtwellen gehören zu den elektromagnetischen Wellen, wobei jeder Lichtstrahl aus einer Vielzahl einzelner Wellenzüge besteht

linear polarisiert: Wenn alle elektrischen Felder in eine transversale Richtung schwingen. Magnetische Felder liegen dann \perp dazu in einer Richtung.

Dichroismus: Doppelbrechende Stoffe, die einen der beiden senkrecht zueinander linear polarisierten Teilstrahlen zusätzlich stark zu absorbieren vermag, während der andere fast ungeschwächt hindurchgeht.

Optische Aktivität: Eigenschaft von Stoffen die Schwingungsrichtung von linear polarisiertem Licht zu drehen

Rotationsdispersion: Wellenlängenabhängigkeit. Drehwinkel: $\varphi = K \cdot l \cdot c$

K = spezifisches Drehvermögen
 l = Länge d. Polarimeterrohrs
 c = Konz. d. Stoffes

② Versuchsaufbau

- Polarimeter mit Na-Spektralleuchte
- Polarimeterrohr
- Flasche mit Zuckerlösung

③ Versuchsdurchführung

Polarimeter: monochromatische Lichtquelle (Na-D-Licht, $\lambda = 589,3 \text{ nm}$)

- Polarimeterrohr
- Polarisator
- drehbarer Analysator mit Winkelmessereinrichtung

Gesichtsfeld dunkel: Schwingungsrichtungen von Polarisator und Analysator stehen senkrecht zueinander (gekreuzt)

Gesichtsfeld hell: Zuckerlösung zwischen Polarisator und Analysator

- Schwingungsrichtung des linear polarisierten Lichtes wird um den Winkel φ gedreht
- Drehung des Analysators um denselben Winkel φ → Gesichtsfeld wird wieder dunkel

- Na-Spektralleuchte einschalten, 5 min. warten
- Nullstellung des Polarimeters bestimmen (Umschlagpunkt einstellen)
- Winkel φ ablesen
- Messung 10 x wiederholen
- Polarimeterrohr blasenfrei mit Zuckerlsg. füllen
- Rohr einlegen
- Analysator nachdrehen u. erneut den Umschlagpunkt einstellen
- Winkel φ_m ablesen \rightarrow 10 x durchführen
- Länge des Polarimeterrohrs messen

④ Aufgabenstellung

Die Konzentration einer wässrigen Zuckerlösung (Saccharose) ist zu bestimmen.

⑤ Auswertung

Messdaten

	φ_0	$\overline{\varphi_0}$	φ_m	$\overline{\varphi_m}$
1	0,1	0,08	6,7	6,8
2	0,1		6,75	
3	0,05		6,9	
4	0,1		6,85	
5	0,05		6,8	
6				
7				
8				
9				
10				

\Downarrow
 $s = \pm 0,027$

\Downarrow
 $s = \pm 0,079$

$$\varphi = \bar{\varphi}_m - \bar{\varphi}_0 = 6,8^\circ - 0,08^\circ = 6,72^\circ$$

Konzentration c (g/l) der Zuckertösung:

$$\varphi = k \cdot l \cdot c \rightarrow c = \frac{\varphi}{k \cdot l} = \frac{\text{dm} \cdot g \cdot 6,72 \text{ grad}}{66,456 \text{ grad} \cdot \text{ml} \cdot 2 \text{ dm}} = \underline{\underline{0,05 \text{ g/ml}}}$$

$$k = 66,456 \text{ grad} \cdot \text{ml} / \text{dm} \cdot g$$

$$l = 2 \text{ dm}$$

$$= 50 \text{ g/l}$$

Fehlerrechnung:

$$c = \frac{\varphi}{k \cdot l} = \varphi^1 \cdot k^{-1} \cdot l^{-1}$$

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{\Delta x_1}{x_1} + \frac{\Delta x_2}{x_2} + \frac{\Delta x_3}{x_3}$$

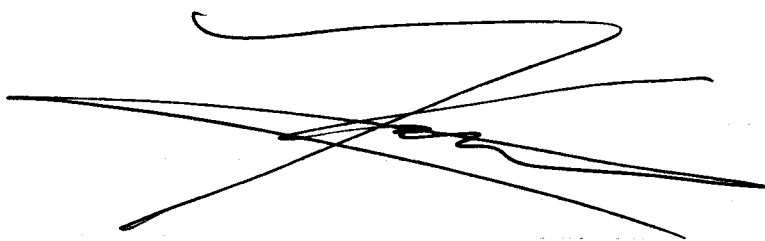
$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{\Delta \varphi}{\varphi} + \frac{\Delta l}{l}$$

$$\frac{\Delta c}{c} = \text{---} + \text{---}$$

Relativer Fehler:

Absoluter Fehler:

24.07.05



0 15 Refraktometer

① Grundlagen

Brechzahl: $n = \frac{c_0}{c}$ → Verhältnis Lichtgeschw im Vakuum zu Lichtgeschw im Stoff

ist abhängig von d. Wellenlänge λ des Lichtes (\rightarrow Dispersion) und vom Material

Brechungsgesetz: $n_1 \cdot \sin \alpha = n_2 \cdot \sin \beta$ α = Einfallswinkel
 β = Brechungswinkel

Totalreflexion : Für den größtmöglichen Einfallswinkel $\alpha = 90^\circ$ (streifender Lichteinfall) ist der Brechungswinkel β gleich dem Grenzwinkel β_{gr} .

② Versuchsaufbau

- Refraktometer nach ABBE
- Leuchte
- 2 Büretten mit Glycerol u. Aqua dest.
- div. Glasgeräte
- Fläschchen mit Glycerol-Wasser-Gemisch unbekannter Konz.

③ Aufgabenstellung

- 1) Die Brechzahl von Glycerol-Wasser-Gemischen ist in Abhängigkeit von der Konz. zu bestimmen.
- 2) Von einem vorgegebenen Glycerol-Wasser-Gemisch ist die Konz. zu ermitteln

④ Versuchsdurchführung

- Prismen rechts; Lichteintrittsöffnung der Skalenbeleuchtung aufklappen
- Prismen auseinanderklappen; Beleuchtungsprisma mit der rauhen Oberfläche waagrecht einrichten
- 1-2 Tropfen Neßflüssigkeit auf das Beleuchtungsprisma bringen, danach das Beleuchtungsprisma auf das Messprisma klappen u. den Riegel schließen

- rechteckige Lichteintrittsöffnung ausleuchten
- Hell/Dunkellinie im Fernrohr suchen
- auf die Mitte des Fadekreuzes bringen u. die Brechzahl ablesen

Brechzahlen für folgende Flüssigkeiten messen:

- Aquadest.
- reines Glycerol
- 5 Glycerol-Wasser-Gemische: 4:1, 4:2, 4:4, 4:8, 4:16 und u.
80% 66% 50% 33% 20%
- jede Brechzahl 5x messen!

⑤ Auswertung —

Messdaten

	4:1	4:2	4:4	4:8	4:16	?
1	1,430	1,413	1,392	1,368	1,353	1,434
2	1,430	1,413	1,393	1,368	1,353	1,434
3	1,430	1,412	1,392	1,368	1,353	1,434
4	1,430	1,412	1,392	1,369	1,352	1,434
5	1,430	1,412	1,392	1,369	1,352	1,434
Ø	1,430	1,4124	1,3922	1,3684	1,3526	1,434

Konzentration ? aus Diagramm: 82,5%

	Aqua dest.	Glycerol $C_3H_8O_3$
1	1,333	1,461
2	1,3335	1,4605
3	1,334	1,461
4	1,333	1,461
5	1,333	1,4605
Ø	1,3333	1,4608

24.01.05

[Handwritten signature]

