

Wellenoptik. Auflösung des Lichtmikroskops.

Balázs Kiss

kissb3@gmail.com



**Institut für Biophysik und Strahlenbiologie,
Myofilament-Mechanobiophysik Forschungsgruppe,
Semmelweis Universität**

18. September 2024.

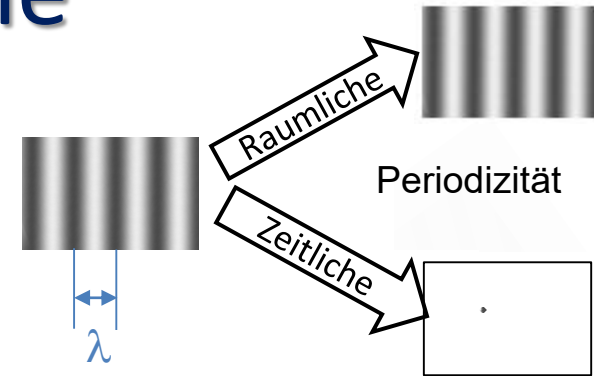
Licht als Welle

Welle: eine sich räumlich ausbreitende periodische Schwingung

Wellenlänge: der kleinste Abstand zweier Punkte gleicher Phase.

Wellenlänge (λ), Frequenz (f), Ausbreitungsgeschwindigkeit (c)

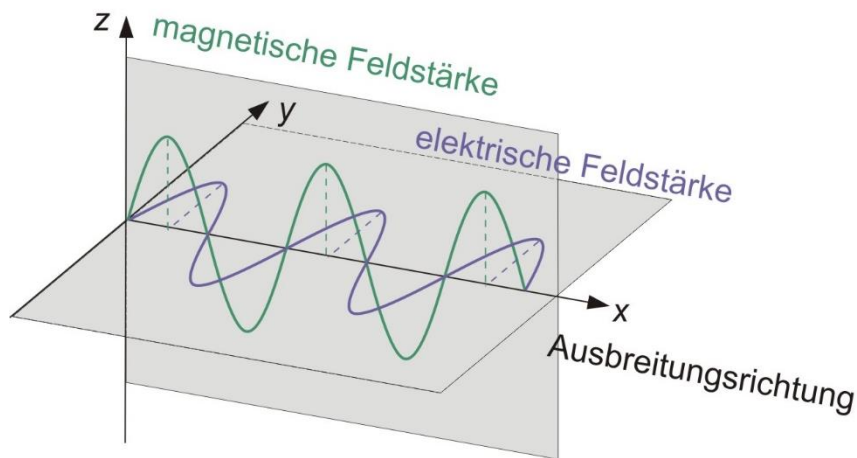
$$c = \lambda \cdot f$$



Licht = elektromagnetische Welle

Transversalwelle

Lichtgeschwindigkeit im Vakuum $c = 3 \cdot 10^8 \frac{\text{m}}{\text{s}}$



Wechselwirkung mit der Materie



$$F = e \cdot E$$

Wegen dieser Wechselwirkung ist die Lichtgeschwindigkeit in Medium immer geringer als in Vakuum.

Wellenlängenbereiche des Lichts



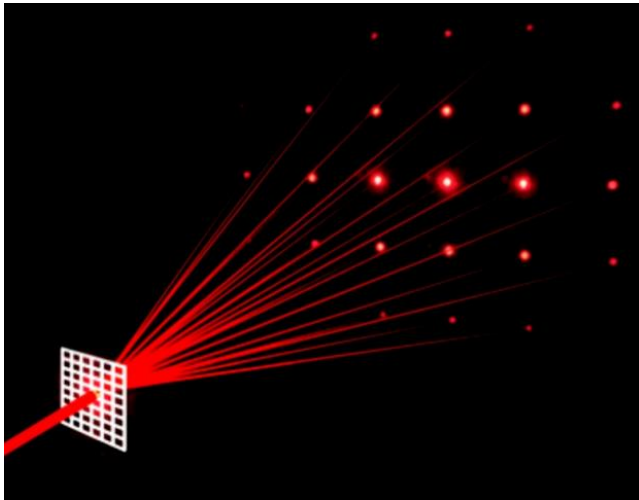
Isaac Newton designing the
cover for Pink Floyd's album
(1660)

Wellenlänge	Abkürzung	Bezeichnung
100–280 nm	UV-C*	(fernes UV)
280–315 nm	UV-B	(Dorno-Strahlung)
315–400 nm	UV-A	(nahes UV)
400–420 nm	VIS	Violett
420–490 nm		Blau
490–540 nm		Grün
540–600 nm		Gelb
600–760 nm		Rot
0,76–1,4 µm	IR-A	(nahes IR)
1,4–3 µm	IR-B	(mittleres IR)
3–1000 µm	IR-C	(fernes IR)

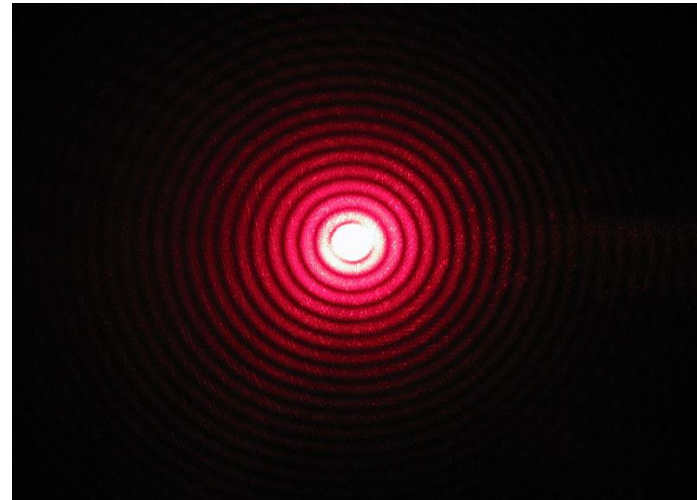
*Unterhalb 180 nm: Vakuum-UV, weil er von N_2 und O_2 Molekülen (Luft) absorbiert wird und deswegen kann sich nur im Vakuum fortpflanzen.

Beugung (Diffraction) des Lichtes

Beweis für den Wellencharakter des Lichtes



Beugung eines **Laserstrahls** an einem zweidimensionalen **optischen Gitter**



Beugung eines **Laserstrahls** an einem **Loch**

Beugung von **weißem Licht** an einem **optischen Gitter**



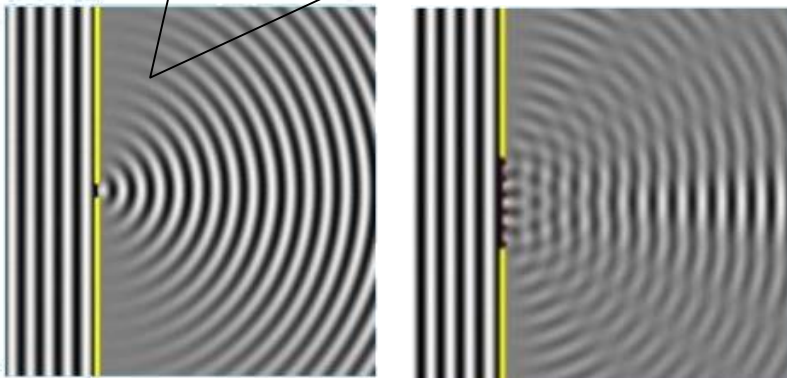
Beugung ist Wellenlängenabhängig!

↑ Hauptmaximum
Nebenmaximum 2-ter Ordnung Nebenmaximum 1-ter Ordnung Nebenmaximum 1-ter Ordnung Nebenmaximum 2-ter Ordnung

Diffraction - Grundprinzip

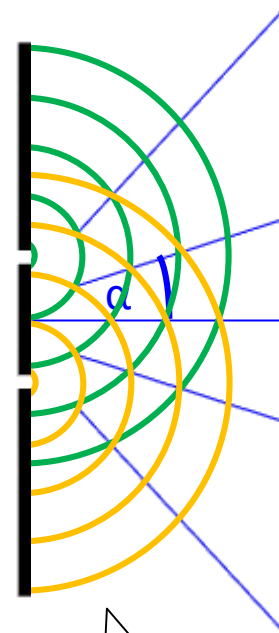
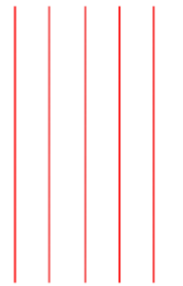
Huygensches Prinzip:

jeder Punkt einer Wellenfront dient als Ausgangspunkt einer neuen Welle



Thomas Young: Doppelspaltexperiment

Interferenzmuster entsteht durch Beugung der Wellenausbreitung am Doppelspalt. Bei monochromatischem Licht besteht dieses Muster auf dem Schirm aus **hellen Streifen (Maxima)** und **dunklen Streifen (Minima)**.

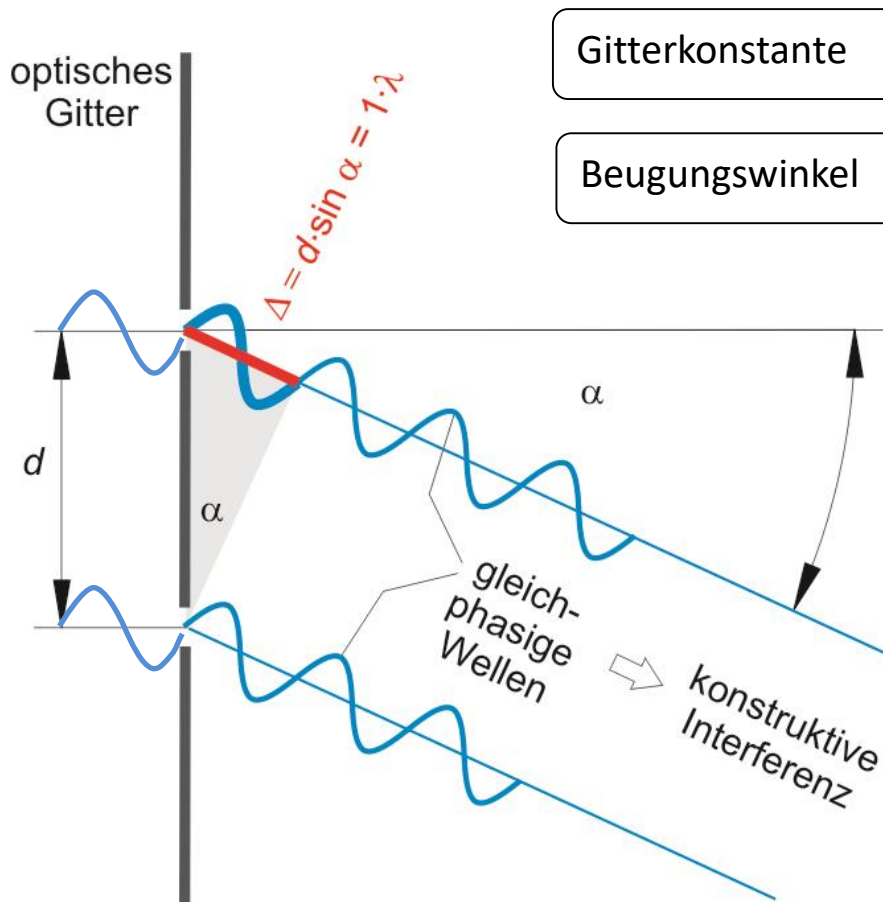


Interferenz:

Überlagerung von
zwei Wellen mit
festen Phasen-
beziehungen.



Diffraktionsgleichung



Gitterkonstante

Beugungswinkel

$$d \cdot \sin \alpha = k \cdot \lambda$$

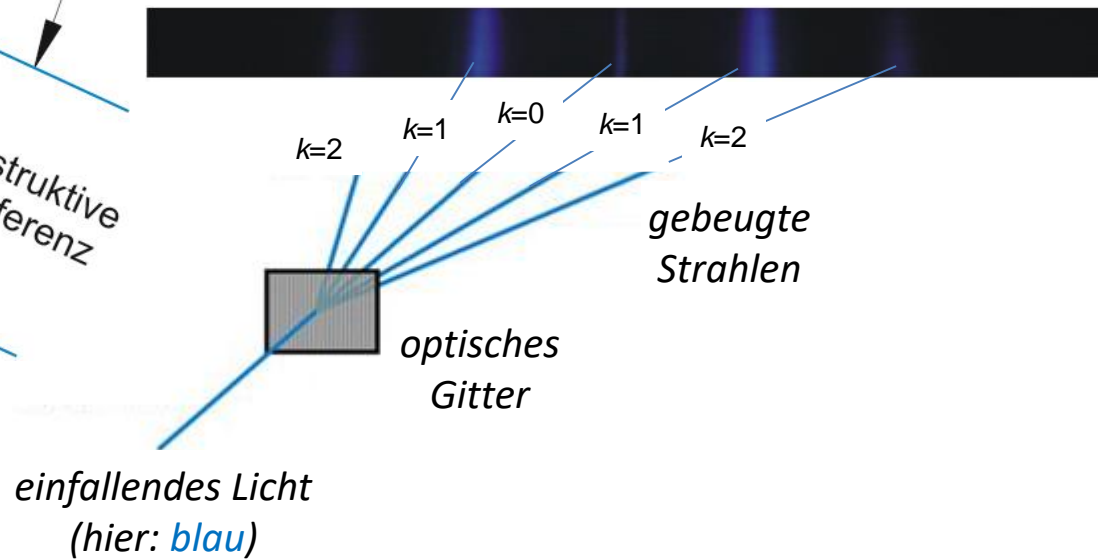
wobei $k = 0, 1, 2, 3, \dots$

d : Struktur

Materie

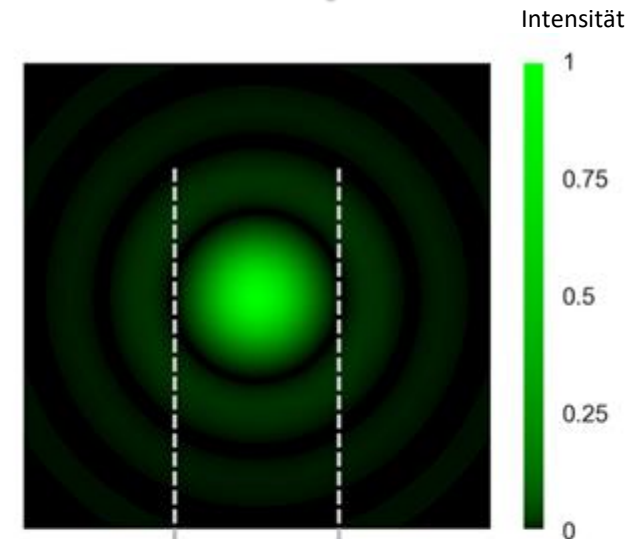
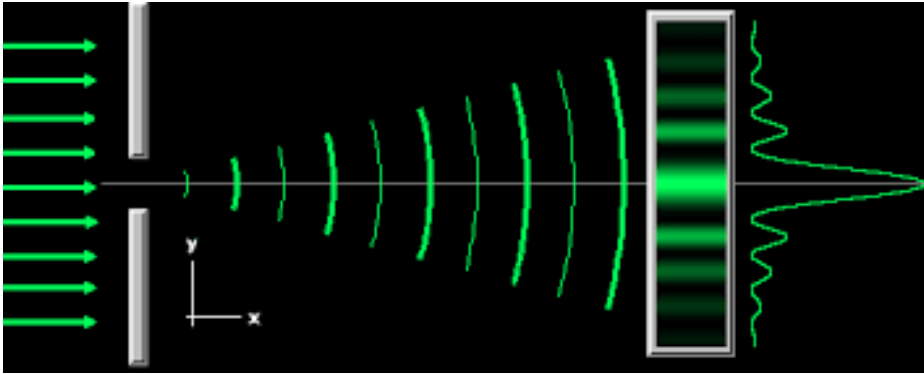
λ : Wellenlänge

↕
Licht



Beugung im Lichtmikroskop

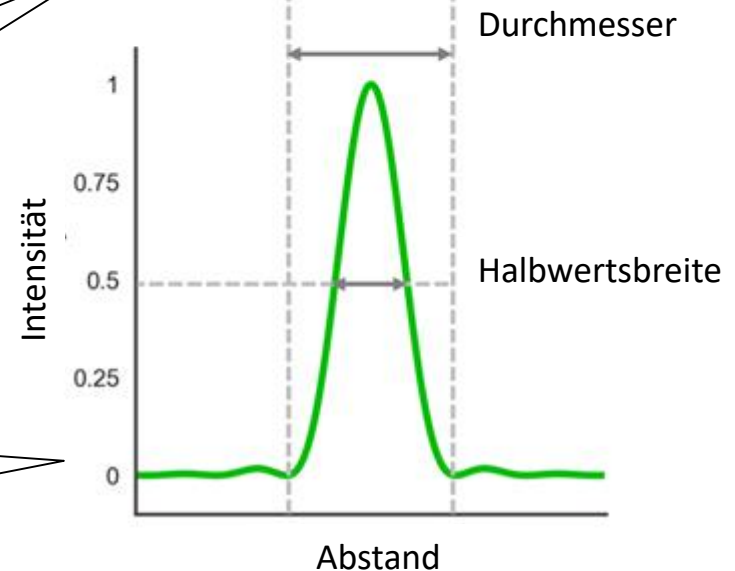
Entstehung der Beugungsscheiben:



Airy-Scheibe:

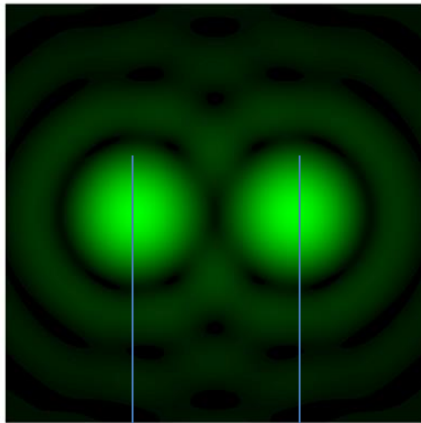
zentrales Maximum, umgeben von Ringen abnehmender Intensität.

Das zentrale Maximum enthält ~84% der Intensität, die Umgebung enthält ~16% der Intensität.

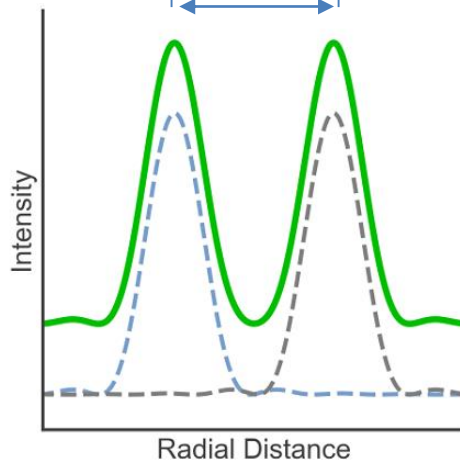


Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops

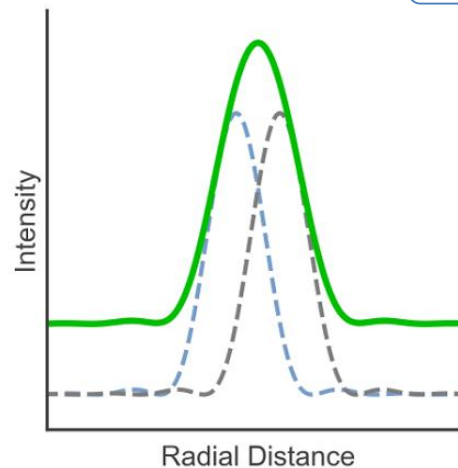
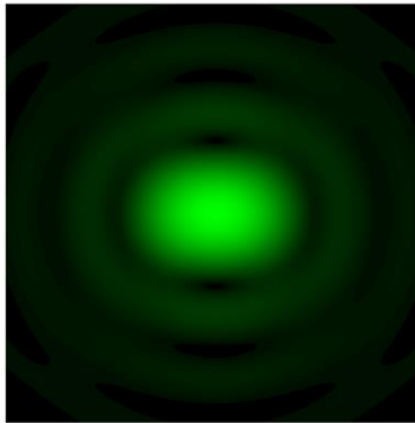
auflösbar



d

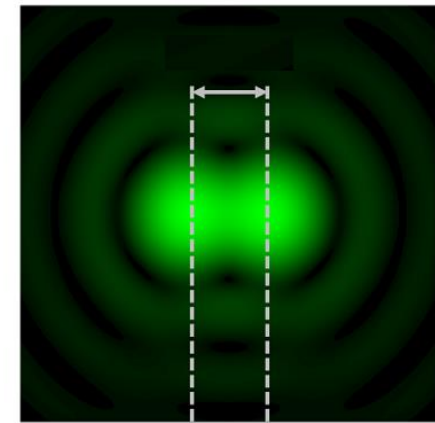


nicht mehr auflösbar

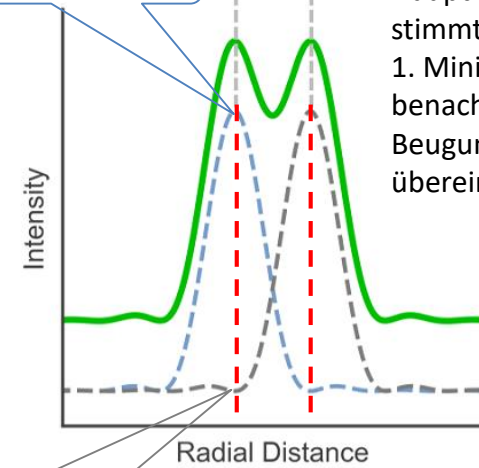


Rayleigh-Grenzfall

$$\delta = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{n \cdot \sin(\alpha)}$$



Hauptmaximum



Hauptmaximum
stimmt mit dem
1. Minimum der
benachbarten
Beugungsscheibe
überein

erstes Minimum

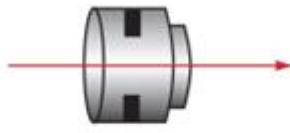
Das Abbe-Prinzip

Problem:

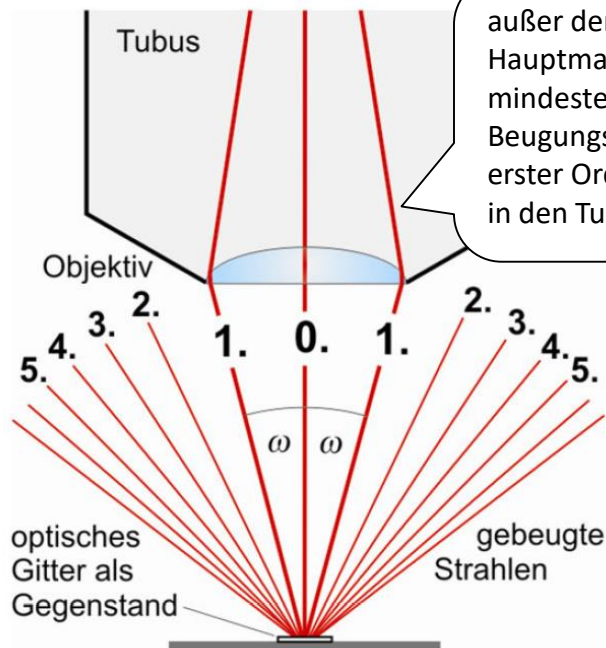
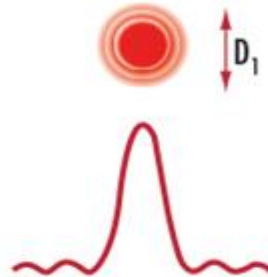
Gegenstand



Linse



Bild



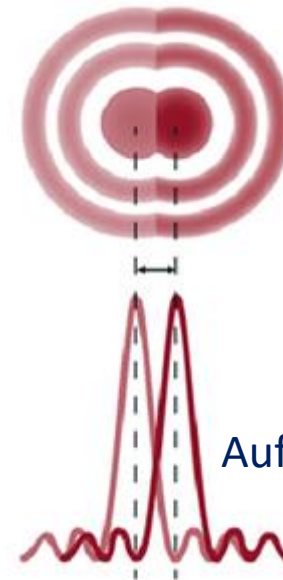
außer dem Hauptmaximum mindestens die Beugungsstrahlen erster Ordnung sollen in den Tubus gelangen

Auflösungsgrenze:

$$\delta = 0,61 \cdot \frac{\lambda}{n \cdot \sin(\omega)}$$

Über $V \approx 500$:
nur „leere Vergrößerung“

Auflösungsvermögen: $= \frac{1}{\delta} \left(\frac{1}{nm} \right)$

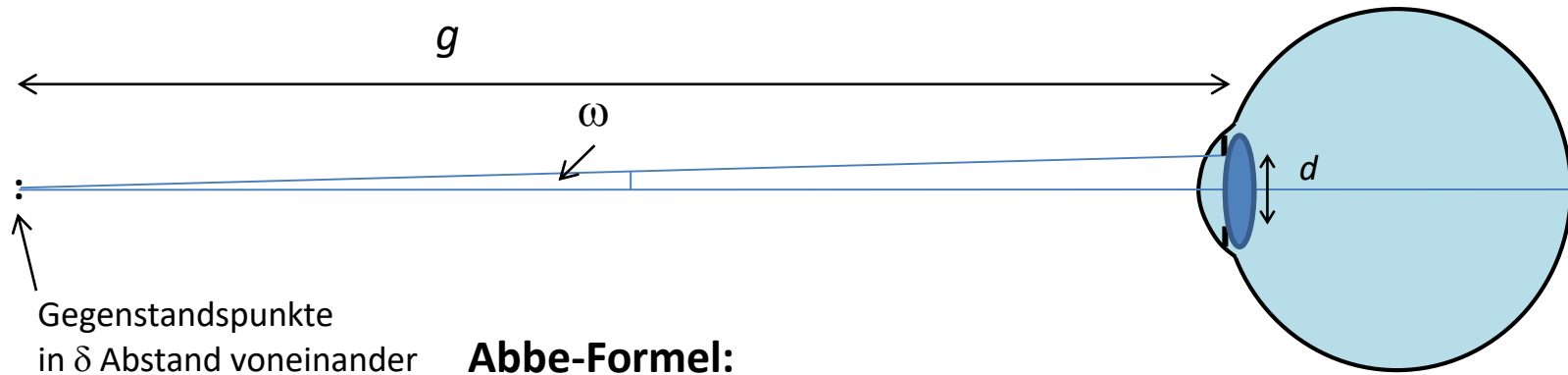


Abbe-Grenze:
 $\delta \sim 200 \text{ nm}$

Für eine bessere Auflösung:

- λ : Wellenlänge erniedrigen
 - blauer Lichtfilter,
 - UV-Licht,
- n : Brechungsindex des Mediums unter Objektiv erhöhen (Immersionsöl)
- ω : halben Öffnungswinkel erhöhen

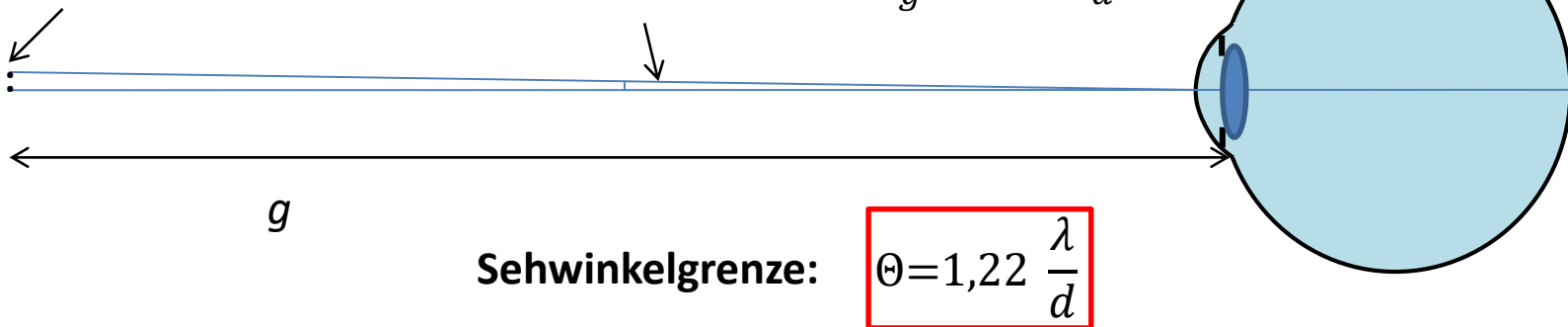
Auflösungsgrenze des Auges



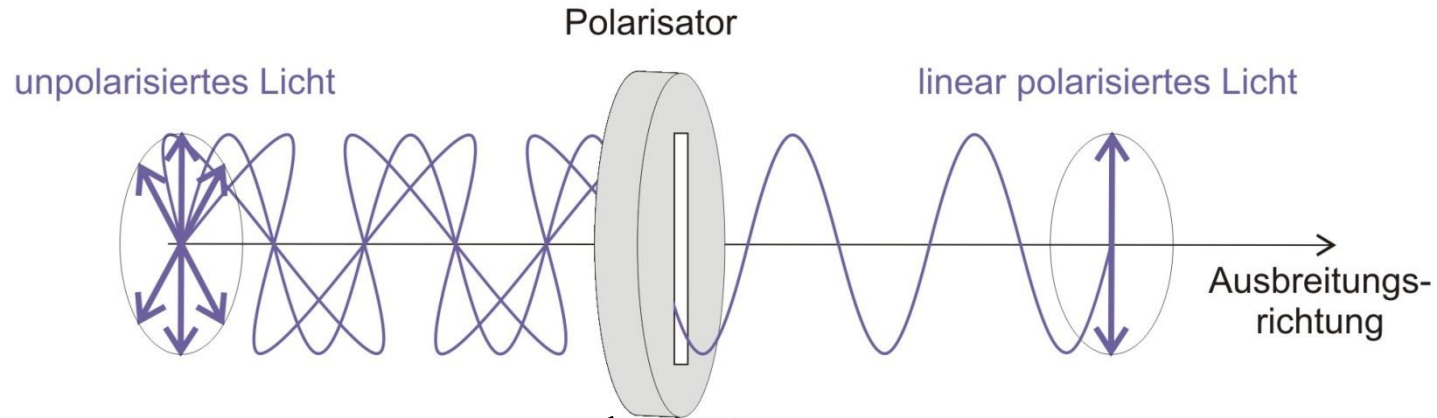
$$\delta = 0,61 \frac{\lambda}{\sin \omega} \approx 0,61 \frac{\lambda}{\frac{d/2}{g}} = 1,22 \frac{\lambda g}{d}$$

Gegenstandspunkte
in δ Abstand voneinander

Schwinkelgrenze: $\Theta = \frac{\delta}{g} = 1,22 \frac{\lambda}{d}$



Lineare Polarisation des Lichtes

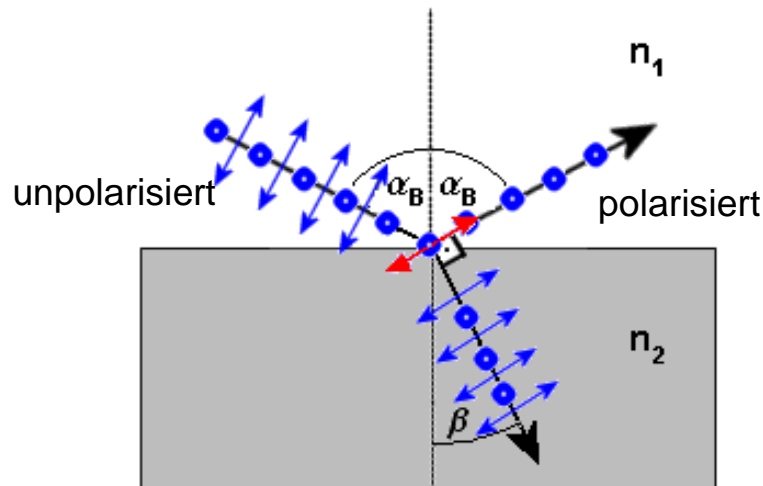


Spiegel
(Reflexion)

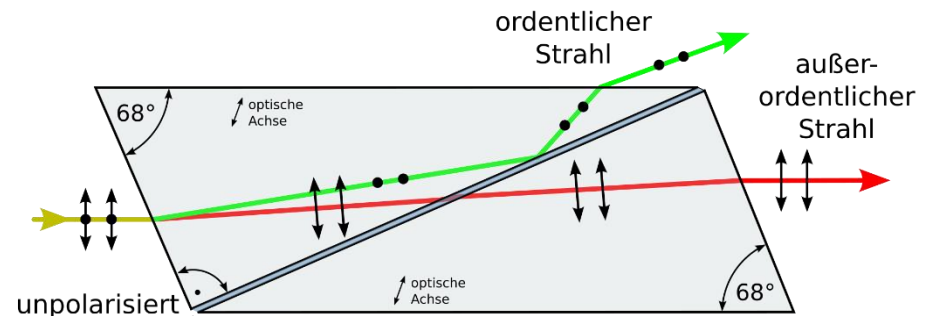
Polarisationsfilter
(Absorption)



α_B = Brewster-Winkel ($\alpha_B = \arctan(n_2/n_1)$)



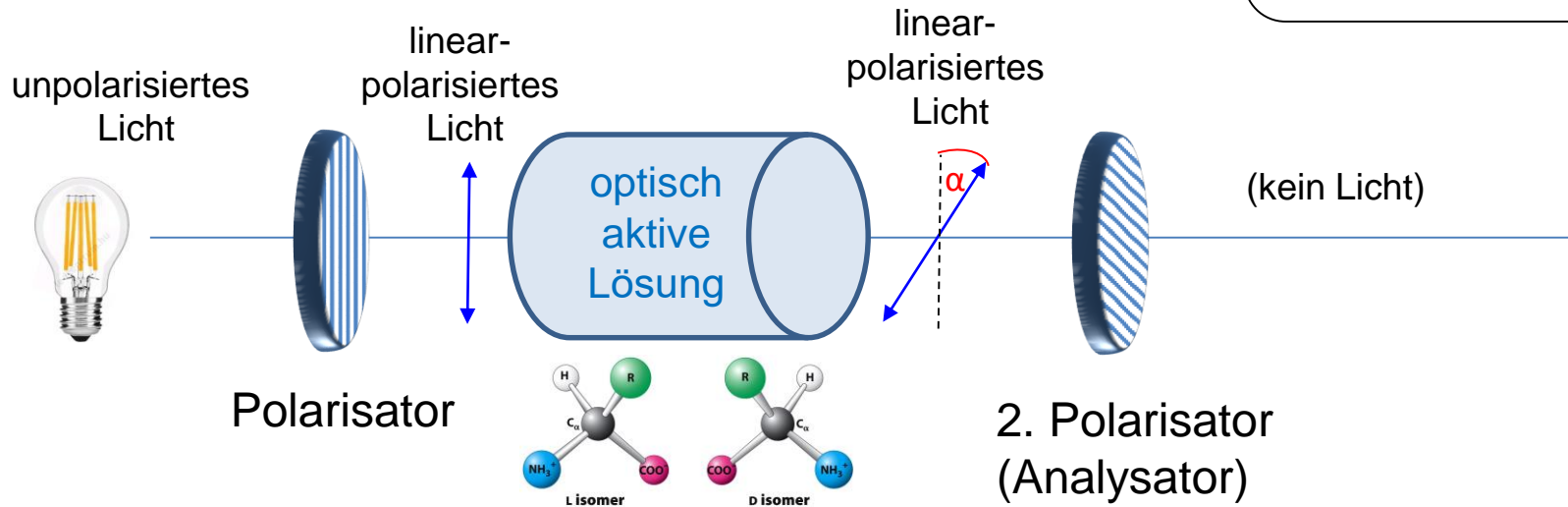
- doppelbrechende Kristalle
- Nicolsches Prisma
- Polymere



Optische Aktivität

Drehung der Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes

Anwendung: **Polarimetrie** - Konzentrationsbestimmung



Biot-Gesetz:

Drehwinkel (°)

Konzentration (g/cm³)

Länge der Küvette (dm)

$$\alpha = [\alpha]_D^{20} \cdot c \cdot l$$

Drehwert, spezifische Drehvermögen (spez. Drehung)
(°·cm³/(g·dm)) bezogen auf 20°C und auf die „D-Linie“ (589 nm) von Na



Hausaufgaben

Aufgabensammlung

2.31-32, 2.38-39

Feedback