

Jörg Haus

Optische Mikroskopie

Funktionsweise und Kontrastierverfahren

WILEY-VCH
Verlag GmbH & Co. KGaA

Inhaltsverzeichnis

Einleitung IX

Eine kurze Geschichte der Mikroskopie XIII

Referenzen XVIII

Teil I Das Lichtmikroskop als optisches Instrument 1

- 1 Optische Vergrößerungen: Von der Lupe zum Mikroskop** 3
 - 1.1 Die Lupe 3
 - 1.2 Höhere Vergrößerungen: Das zusammengesetzte Mikroskop 5
 - 1.2.1 Strahlengang im zusammengesetzten Mikroskop 6
 - 1.2.2 Numerische Apertur und laterales Auflösungsvermögen 8
 - 1.2.3 Axiales Auflösungsvermögen: Schärfentiefe 13
 - 1.2.4 Vergrößerung und numerische Apertur – was ist möglich? 14
 - 1.2.5 Die Beleuchtung des Mikroskops: Von kritisch zu Köhler 17
 - 1.2.6 Die Aperturblende und ihre Funktion 21
 - 1.2.7 Die Pupillen 23
 - 1.3 Wichtige mechanische Abmessungen des Mikroskops 25
 - 1.3.1 Optik nach DIN: Endliche Tubuslänge 25
 - 1.3.2 Unendlichoptik 27
 - Referenzen 30

- 2 Das aufrechte Durchlichtmikroskop: Aufbau und Funktionsweise** 31
 - 2.1 Das Mikroskopstativ 31
 - 2.2 Die Beleuchtung 33
 - 2.2.1 Halogenlampen 34
 - 2.2.2 Linienstrahler: Quecksilber-Hochdrucklampen 36
 - 2.2.3 Leuchtdioden 38
 - 2.3 Kondensoren 40
 - 2.3.1 Prinzipieller Aufbau 41
 - 2.3.2 Besondere Bauformen 42

2.4	Fokussierung und Mikroskopisch	43
2.4.1	Fokussierung	44
2.4.2	Mikroskopisch	45
2.4.3	Ergonomie	47
2.5	Objektive	48
2.5.1	Kennzeichnungen von Objektiven	48
2.5.2	Farbkorrektion: Achromate und Apochromate	51
2.5.3	Ebene Bilder: Planobjektive	54
2.5.4	Ergänzung: Bestimmung der numerischen Apertur	58
2.6	Okulare	60
2.6.1	Kennzeichnungen von Okularen, Vergrößerung und Sehfeldzahl	60
2.6.2	Bauformen von Okularen	62
2.6.3	Exkurs: Messen mit dem Mikroskop	64
2.7	Beobachtungstuben	66
2.7.1	Beobachtungstuben: Von monokular bis trinokular	66
2.7.2	Optische Mitbeobachtung: Diskussionsbrücken	70
2.8	Bilddokumentation	71
2.8.1	Bildsensoren für Kameras – ein kurzer Überblick	72
2.8.2	Kompaktkameras	75
2.8.3	Systemkameras	76
2.8.4	C-Mount-Kameras	78
2.8.5	Softwarepakete, Tipps zum Kauf	81
	Referenzen	81
3	Das aufrechte Auflichtmikroskop	83
3.1	Aufbau und Funktionsweise	83
3.2	Die Beleuchtung	84
3.3	Objektive für die Auflichtmikroskopie	86
3.4	Fokussierung und Mikroskopisch	87
	Referenzen	89
4	Das inverse Mikroskop: Aufbau und Funktionsweise	91
4.1	Das Mikroskopstativ	91
4.2	Beleuchtung und Optik	92
4.3	Mikroskopisch und Fokussierung	94
	Referenzen	96
5	Das Stereomikroskop: Aufbau und Funktionsweise	97
5.1	Stereomikroskop – optischer Aufbau	97
5.2	Stative und Beleuchtung	101
	Referenzen	105

Teil II Unsichtbares sichtbar machen 107

- 6 Kontrastierverfahren in der Mikroskopie 109**
- 6.1 Hellfeldmikroskopie 109
- 6.1.1 Durchlicht-Hellfeldmikroskopie 110
- 6.1.2 Auflicht-Hellfeldmikroskopie 114
- 6.2 Schiefe Beleuchtung 117
- 6.2.1 Funktionsprinzip und Komponenten 117
- 6.2.2 Weiterentwicklung: Der Hoffman-Modulationskontrast 118
- 6.2.3 Schiefe Beleuchtung im Durchlicht 120
- 6.2.4 Schiefe Beleuchtung im Auflicht 121
- 6.3 Dunkelfeldmikroskopie 122
- 6.3.1 Funktionsprinzip und Komponenten 122
- 6.3.2 Durchlicht-Dunkelfeldmikroskopie 122
- 6.3.3 Auflicht-Dunkelfeldmikroskopie 127
- 6.4 Phasenkontrastmikroskopie 128
- 6.4.1 Funktionsprinzip und Komponenten 128
- 6.4.2 Anwendungsbeispiel: Zählung von Asbestfasern 136
- 6.4.3 Anwendungsbeispiel: Untersuchung von Belebtschlamm 137
- 6.5 Polarisationsmikroskopie 139
- 6.5.1 Orthoskopie: Funktionsprinzip und Komponenten 140
- 6.5.2 Orthoskopie: Anwendungsbeispiele 146
- 6.5.3 Konoskopie: Funktionsprinzip und Komponenten 148
- 6.6 Differenzieller Interferenzkontrast 153
- 6.6.1 Funktionsprinzip und Komponenten 153
- 6.6.2 Differenzieller Interferenzkontrast im Durchlicht 159
- 6.6.3 Differenzieller Interferenzkontrast im Auflicht 161
- 6.7 Fluoreszenzmikroskopie 163
- 6.7.1 Funktionsprinzip und Komponenten 163
- 6.7.2 Auflicht-Fluoreszenzmikroskopie: Beispiele 169
- 6.8 Kontrastierverfahren in der Stereomikroskopie 174
- Referenzen 177

Teil III Weiterentwicklungen – Über die Weitfeldmikroskopie hinaus 181

- 7 Moderne mikroskopische Verfahren 183**
- 7.1 Modellierung der Punktbildverwaschungsfunktion 183
- 7.1.1 Dekonvolution: Bildverbesserung durch Software 183
- 7.1.2 Konfokalmikroskopie 184
- 7.1.3 Das 4Pi-Mikroskop 187
- 7.1.4 Das STED-Mikroskop 189
- 7.2 Höchstauflösung durch Eingriffe in die Beleuchtungsgeometrie 191
- 7.2.1 Strukturierte Beleuchtung 192

7.2.2	Lichtblattmikroskopie	194
7.2.3	Lokalisationsmikroskopie durch Photoaktivierung	195
7.3	Nahfeldverfahren	196
7.3.1	Nahfeldmikroskopie	197
7.3.2	Interne Totalreflexionsmikroskopie	198
7.4	Quantitative mikroskopische Verfahren	200
7.4.1	Fluorescence Recovery after Photobleaching (FRAP)	200
7.4.2	Zeitaufgelöste Messungen	201
7.5	Nichtlineare Effekte: Raman- und Zwei-Photonen-Mikroskopie	204
7.5.1	Raman-Mikroskopie	204
7.5.2	Zwei-Photonen-Mikroskopie	206
	Referenzen	207

Danksagung 211

Nachweis der mikroskopischen Aufnahmen 213

Stichwortverzeichnis 215