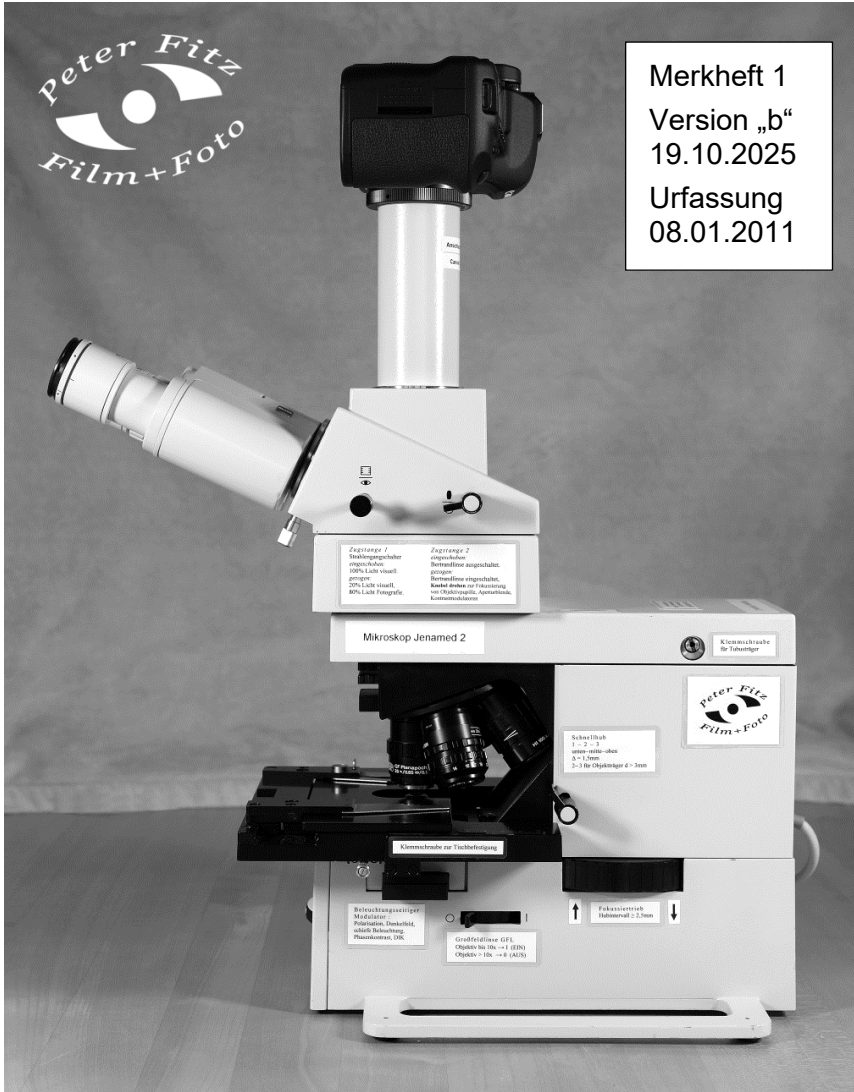


# Digitale Mikrofotografie, Merkheft 1 :

## Mikroskop JENAMED 2 in Kombination mit Digitalkamera Canon EOS D5 Mk II bzw. Canon EOS D5 Mk IV

Mikroskop-Gebrauch, Objektgrößenbestimmung, etc.



# 1. Inhaltsübersicht

1. Inhaltsübersicht.....	2
2. Prinzip eines zweistufigen Mikroskops mit Unendlich-Optik .....	4
3. Ausstattung des Mikroskops Jenamed 2 von VEB Carl Zeiss Jena.....	5
4. Mikroskopische reelle Zwischenbildebene.....	6
5. Einrichtung Durchlicht-Hellfeld.....	6
6. Einrichtung Phasenkontrast.....	6
7. Einrichtung Durchlicht-Dunkelfeld.....	6
8. Einrichtung Schiefe Beleuchtung.....	7
9. Einrichtung Rheinberg-Beleuchtung .....	7
10. Einrichtung Polarisationskontrast.....	7
11. Einrichtung Durchlicht-Fluoreszenzkontrast .....	8
12. Einrichtung für differentiellen Interferenzkontrast (DIK) .....	10
13. Schieber-Steckplätze für die Modulator-Positionen am Jenamed 2.....	12
14. Objektmeßplatte und Okularstrichplatte.....	12
15. Numerische Apertur (N.A.) und optisches Auflösungsvermögen .....	13
16. Förderlicher visueller Vergrößerungsmaßstab Mf.....	15
17. Der Fokussier-Feintrieb .....	16
18. Die Objektive für Durchlicht : Großfeld-Planachromate .....	16
19. Die Objektive für Phasenkontrast .....	20
20. Kondensator und Aperturblende zum JENAMED 2 .....	21
21. LED-Licht, Filter, Farbtemperaturen am JENAMED 2 .....	21
22. Bedienungshinweise.....	22
23. Pflege- und Reinigungshinweise zum Mikroskop.....	23
24. Canon EOS 5D Mark II .....	28
25. Canon EOS 5D Mark IV.....	29
26. Maßstabszahlen der Vergrößerung am Mikroskop .....	30
27. Ermittlung der Vergrößerung „M“ auf den Kamerasensor anhand des Digitalbilds der Objektmessplattenskala.....	31
28. Ermittlung der visuellen Gesamtvergrößerung Mo anhand von Objektmessplatte und Okularmessplatte.....	32
29. Fotografische Objektmessung mittels Messung im Digitalbild .....	33
30. Visuelle Objektmessung mit Okularmeßplatte und Faktor Mz .....	34
31. Okular-Sehfeldzahl und Objektfeld-Durchmesser.....	35
32. Tabellen mit Abbildungskenngrößen des Mikroskops.....	35
33. Mikroskop-Einstellung in Abhängigkeit von der Objektgröße.....	38

34. Tabellen Großfeld-Planachromate + Canon EOS 5D-Mk II .....	39
35. Tabellen Phasenkontrast-Objektive + Canon EOS 5D-Mk II .....	41
36. Tabellen Großfeld-Planachromate + Canon EOS 5D-Mk IV .....	43
37. Tabellen Phasenkontrast-Objektive + Canon EOS 5D-Mk IV .....	45
38. Erläuterungen zu den Tabellen zur Objektgrößenbestimmung .....	47
39. Förderliche Vergrößerung Mf für System Mikroskop-Digitalkamera-Bildschirm .....	48
40. Geschwindigkeitsbestimmung .....	58
41. Objektgrößen .....	61

Dieses private Merkheft verdankt seine Entstehung einer Schulung durch Herrn Hans Jürgen Steinkohl (11.4.1940 – 29.7.2014).

Technischer Oberamtsrat Steinkohl war ein begeisterter Mikroskopiker und lieferte als Autor bzw. Co-Autor etliche Beiträge für die (Ende 2014 eingestellte) Zeitschrift

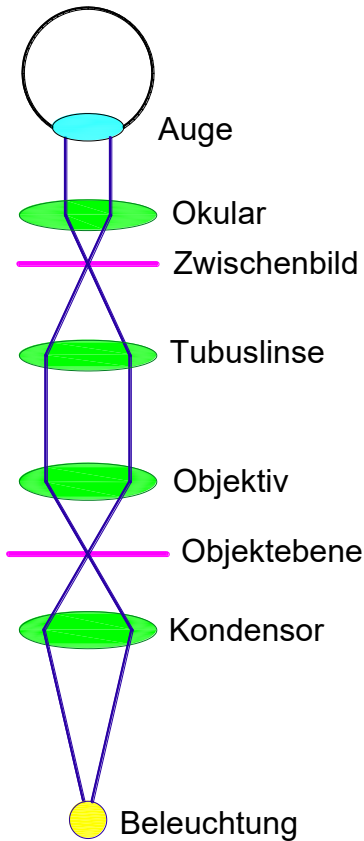
„Mikrokosmos“:

- 103. Jahrgang (2014) S.175,257,349
- 102. Jahrgang (2013) Heft 3 S.163
- 100. Jahrgang (2011) Heft 1 Seite 42
- 100. Jahrgang (2011) Heft 4 S.193
- 99. Jahrgang (2010) Heft 5 Seite 303
- 97. Jahrgang (2008) Heft 3 Seite 129
- 97. Jahrgang (2008) Heft 4 Seite 243
- 96. Jahrgang (2007) Heft 1 Seite 3
- 96. Jahrgang (2007) Heft 2 Seite 101
- 96. Jahrgang (2007) Heft 5 Seite 308
- 81. Jahrgang (1992) Seiten 148,213



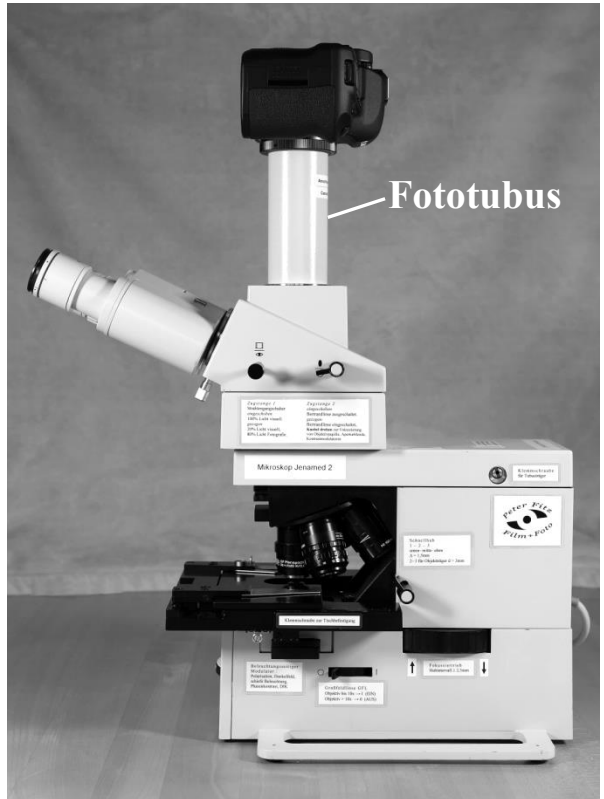
Jenamed Standard-Objektiv 3,2x / VW.1,25x / EOS 5DM4  
 Film 1920x1080 / Standbild ( Tabelle 10) :  $m = 2,9436 \mu\text{m}/\text{px}$  ;  
 Daphnia magna f. / Größe ohne Stachel =  $m \times 544,94 \text{ px} = 1604 \mu\text{m}$

## 2. Prinzip eines zweistufigen Mikroskops mit Unendlich-Optik



In der nebenstehenden Prinzipskizze ist die Köhlerbeleuchtung nicht dargestellt.

Die Linsensymbole der Skizze stehen für Linsen bzw. Linsensysteme.



Will man das mikroskopische reelle Zwischenbild mit einer Kamera aufnehmen, so muss das Zwischenbild mittels Strahlungsteiler und Fototubus-Linsensystem auf den Bildsensor 36x24mm der Canon EOS 5D - Kamera reell abgebildet werden. Der Abbildungsmaßstab „ $f_2$ “ des Fototubus (=Projektiv) wurde mit  $f_2 = 1,6$  so gewählt, daß das Objektbildfeld möglichst die gesamte Empfängerfläche (Bildsensorfläche) der Kamera bedeckt.

### 3. Ausstattung des Mikroskops Jenamed 2 von VEB Carl Zeiss Jena

Durchlichtmikroskop für die allgemeine methodenvariable Durchlichtmikroskopie mit Zubehör für die Beobachtungsverfahren: Durchlicht-Hellfeld / Phasenkontrast / Durchlicht-Dunkelfeld / schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisationskontrast / Fluoreszenzkontrast / Differentieller Interferenzkontrast  
Tischsystem: x,y-Kreuztisch für Linkshandbedienung mit Objekthalter üblicher Bauart, Absuchbereich der Präparate mindestens 76 x 30 mm. Einsatz aller herkömmlichen Objektträger einschließlich Zählkammern von 0,8 mm bis 5,5 mm Glasdicke. Fokussier-Schnellhub.

Beleuchtung: High-Power LED der Generation LE 2 ; Technologie SMD/HD (Auskunft Voss) Typ LE 2-XREWHT-L1-WG-R2, weiß, mit Fixköhlerbeleuchtung (es fehlen deshalb Leuchtfeldblende, Kondensor-Frontlinse, Kondensor-Trieb zur Höhenverstellung und Kondensor-Zentrierschrauben) ; Kondensor mit numerischer Apertur n.A. = 0,9. Großfeld Binokularansatz Steck-Ø 30mm und zwei Okulare GFPw 10x (25) Steck-Ø 30mm für einen scheinbaren Sehfelddurchmesser von ca. 25 cm bei Binokulareinblick. Fokussierbare Bertrandlinse im Mikroskoptubus, ein- und ausschaltbar: Die Austrittspupille des Objektivs sowie die nahe der Pupille liegenden Bilder einiger optischer Elemente können im Bildfeld sichtbar gemacht und kontrolliert bedient werden, z.B. Aperturblende und Kontrastmodulatoren (beleuchtungsseitige Ringblenden und bildseitige Phasensysteme für Phasenkontrast). Somit entfällt z.B. für Phasenkontrast die Benutzung eines zusätzlichen Fernrohres für die Ringblenden-Zentrierung. Fototubus: MF-Anpassung Apo 1,6x (Faktor  $f_2 = 1,6$ ) für Canon Digitalkamera ; 80% Licht für die digitale Mikrofotografie.  
Objektive mit „Unendlichoptik“: Parallele Lichtstrahlen zwischen Objektiv und Tubuslinse, endgültig korrigiertes Zwischenbild mit  $\varnothing \approx 25\text{mm}$  ; Abgleichlänge 45mm (Abstand Präparatenebene zu Anschraubfläche Objektivrevolver).  
 $\infty$ -Objektive entwerfen wie Okulare ein virtuelles Bild im Unendlichen. Die sog. Tubuslinse führt die vom  $\infty$ -Objektiv kommenden Lichtstrahlen in einer reellen Zwischenbildebene zusammen. Optische Tubuslänge = 250 mm beim Jenamed 2.

$$\text{Objektivvergrößerung} = f_1 = \frac{\text{optische Tubuslänge} \quad (250 \text{ mm})}{\text{Objektivbrennweite} \quad (\text{aus Tabelle})} ;$$

$$\text{Okularvergrößerung} = f_o = \frac{\text{Bezugssehweite} \quad (250 \text{ mm})}{\text{Okularbrennweite} \quad (25 \text{ mm})} ;$$

Gravur-Symbole auf Objektiven: „ - “ Planobjektiv (Bildfeldwölbung beseitigt) ; „A“ Achromat (ohne chromatische Vergrößerungsdifferenz) ; „ $\infty$ “ Unendlichobjektiv ; „0,17“ vorgeschriebene Deckglasdicke [mm] als Bestandteil des optischen Systems.  
Vergrößerungswechsel durch eingebauten Tubuslinsenrevolver 0,8 - 1,0 - 1,25.

## 4. Mikroskopische reelle Zwischenbildebene

Bei der visuellen Beobachtung liegt die mikroskopische Zwischenbildebene in der Okularbrennebene im Abstand von 13 mm (=Okularabgleichlänge) unterhalb des oberen Okulartubusrandes.  $M_z$  := Maßstab der Vergrößerung in die mikroskopische reelle Zwischenbildebene. Die Okulare „GFPw 10x“ vergrößern das reelle Zwischenbild mit dem Okular-Faktor  $f_o = 10$  (Nominalwert).

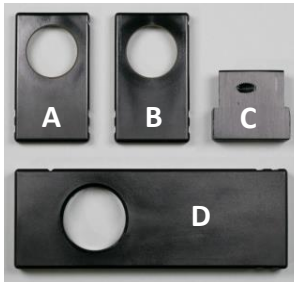
→ Visuelle Gesamtvergrößerung:  $M_o = f_o \times M_z$

Bei der Mikrofotografie wird mittels Strahlenteiler und Fototubuslinsensystem das mikroskopische reelle Zwischenbild mit dem Fototubus-Faktor  $f_2 = 1,6$  (Nominalwert) vergrößert auf den Fotosensor der Digitalkamera projiziert.

→ Gesamtvergrößerung auf die Kamerasensor-Ebene:  $M = f_2 \times M_z$ .

## 5. Einrichtung Durchlicht-Hellfeld

Die Schieber-Steckplätze Position A, B, C, D sind mit Staubschutzschiebern belegt.



Anwendung:  
Dünne Schnitte /  
dünne durchscheinende  
kontrastreiche Objekte  
(Amplitudenobjekte).

## 6. Einrichtung Phasenkontrast

für Planachromate, bestehend aus je einem Satz Phasenkontrast-Objektiven und einem Satz Ringblendenschiebern.

Objekte mit einem höheren Brechungsindex „ $n$ “ als das umgebende Medium erscheinen hell auf dunklerem Hintergrund.



Anwendung:  
Sehr dünne  
durchsichtige  
kontrastarme  
Objekte  
(Phasenobjekte).

## 7. Einrichtung Durchlicht-Dunkelfeld

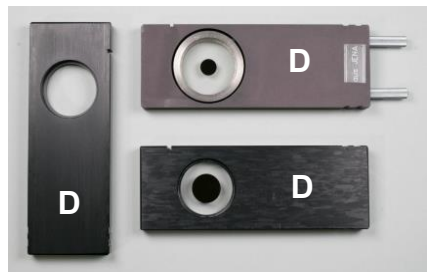
Das Objekt wird durch schiebergefaßte Ringblenden beleuchtet, deren Apertur größer ist als die des dazugehörigen Objektivs. Die Dunkelfeldbeleuchtung funktioniert mit Objektivaperturen N.A. bis maximal 0,65. Empfohlene Objektive: 12,5x / 25x

Objektiv 12,5x → Kreisblende Ø 8 mm

Objektiv 25x → Kreisblende Ø 18 mm

Aperturblende jeweils voll geöffnet !

Anwendung: Klare Darstellung sehr feiner, sonst kaum wahrnehmbarer Konturen dünner Objekte.



## 8. Einrichtung Schiefe Beleuchtung

Die Beleuchtung des Objekts / Präparats erfolgt durch eine schiebergefaßte Blende mit einem einstellbaren oder einem fixierten Aperturausschnitt für eine reliefähnliche Objektcontrastierung.

Anordnung des gewählten beleuchtungsseitigen Modulators im Schieber-Steckplatz Position **D**.

Glasscheiben  $\varnothing 25,7 \times 1,0$  mm für justierbare Schieber,  
Glasscheiben  $\varnothing 26,0 \times 1,0$  mm für nicht justierbare Schieber.

Blende auf  
Mattfilterscheibe

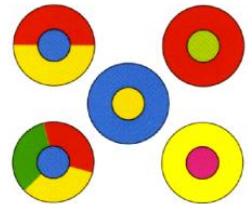


Anwendung: Sehr dünne durchsichtige kontrastarme Objekte (sog. Phasenobjekte). Die Beobachtung bei geöffneter Aperturblende zeigt ein helles gradientenfreies Bild mit einem abgemilderten Schattenwurf des Objekts.

## 9. Einrichtung Rheinberg-Beleuchtung

kombiniert Dunkelfeld- und Hellfeldverfahren,  
Filterscheiben in Schieber-Steckplatz Position **D**,  
funktioniert mit Objektivaperturen N.A. bis maximal 0,65.  
Empfohlene Objektive: 12,5x / 25x

Filterscheiben mit farbdichter Zentralblende und peripheren Farbringen. Die Sektorenfilter versehen die Objekte mit Farbsäumen.



Anwendung: Sehr dünne durchsichtige kontrastarme Objekte (sog. Phasenobjekte), optische Einfärbung von Planktonorganismen.

## 10. Einrichtung Polarisationskontrast

Drehbarer Analysator in Position **A**,  
drehbarer  $\lambda$ -Kompensator in Position **B**,  
Polarisator in Position **D**.

Alle Modulatoren sind in Schiebern gefaßt.  
A, B, D sind die Schieber-Steckplätze  
am Mikroskop Jenamed 2.

Grundeinstellung: Die Lichtdurchlaßebenen  
der beiden linearen Polfilter in Steckplatz-  
Positionen A und D stehen genau unter  
einem Winkel von  $90^\circ$  zueinander.

Beobachtung bei leichter Winkeländerung  
aus der Grundeinstellung.



### Anwendung des Polarisationskontrast-Verfahrens:

- Optisch anisotrope (doppelbrechende) Objekte: Kristalle oder Mineralien mit entsprechendem Kristallgitteraufbau (Eigendoppelbrechung).
- Optisch isotrope Materialien, auf die mechanische Kräfte einwirken (Spannungsdoppelbrechung).
- Organische Materialien, die aufgrund ihrer Anordnung und Orientierung doppelbrechende Eigenschaften haben (Formdoppelbrechung bei biologischen oder polymeren Objekten).

Beispiele:

Hauchdünne Kristallplättchen, Tierhaare, Vogelfedern, Fischschuppen, pflanzliche Zellwände.

## 11. Einrichtung Durchlicht-Fluoreszenzkontrast



Sperrfilterschieber in Position **C**  
für 460 - 490 nm.  
Erregerfilterschieber in Position **D**  
für 460 - 490 nm.

Wenn fluoreszierende Stoffe mit Licht bestimmter Wellenlängen angeregt werden, strahlen sie Licht anderer, längerer Wellenlängen ab (Stokes-Verschiebung).

Bei der Fluoreszenzmikroskopie wird das erzeugte, vergrößerte Bild des untersuchten Objekts nur durch abgestrahltes (emittiertes) Licht erzeugt. Farbfilter verhindern, daß Anregungslicht auf das Bild gelangt. Fluoreszenzmikroskopische Bilder sind dann informativ, wenn nicht das ganze Objekt gleichmäßig fluoresziert, sondern wenn nur einige Strukturen leuchten, die helle Signale vor dunklem Hintergrund erzeugen.

Die spektrale Verteilung des abgegebenen Fluoreszenzlichts ist unabhängig von der Wellenlänge des Anregungslichts. Stoffe, die fluoreszieren, werden als Fluorophore bezeichnet. Fluorophore, die verwendet werden um Präparate anzufärben, werden als Fluoreszenzfarbstoffe oder Fluorochrome bezeichnet. Wenn ein Präparat von selbst fluoresziert, wird dies als Autofluoreszenz, Eigenfluoreszenz oder Primärfluoreszenz bezeichnet. Viele Pflanzen haben in verschiedenen Teilen sehr starke Autofluoreszenz, z.B. Samenpflanzen in den hölzernen Teilen ihrer Sproßachsen. Das Chlorophyll in den Chloroplasten der grünen Pflanzenzellen ist stark rot fluoreszierend. Tierische Zellen fluoreszieren im Vergleich dazu nur schwach, jedoch noch stark genug, um Fluoreszenzmarkierungen unter Umständen zu verschleiern. Die Hauptquellen hier sind Flavine, die in den Mitochondrien vorkommen und Lipofuscin

in den Lysosomen. Das Coenzym NADPH zeigt ebenfalls Autofluoreszenz. Eine in einem Präparat mit Fluorochromen künstlich erzeugte Fluoreszenz ist eine Sekundärfluoreszenz. Der Prozess, der dazu führt, heißt Fluoreszenzmarkierung. Gute Fluorochrome vereinigen mehrere Eigenschaften: (1) Sie haben eine hohe Wahrscheinlichkeit ein Photon zu absorbieren, das heißt, sie haben einen hohen Absorptionskoeffizienten. (2) Die meisten der absorbierten Photonen führen tatsächlich zur Emission eines Fluoreszenzphotons (hohe Quanteneffizienz). Beides zusammen führt zu einer großen Helligkeit. (3) Fluorochrome sollten ein geringes Bleichen aufweisen, das heißt, daß sie sich oft anregen lassen, ohne zerstört zu werden. (4) Außerdem sollten Fluorochrome in einem möglichst schmalen Bereich des Lichtspektrums fluoreszieren, damit möglichst viele Fluorochrome mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarben gleichzeitig verwendet werden können, um unterschiedliche Strukturen anzufärben.



Foto:

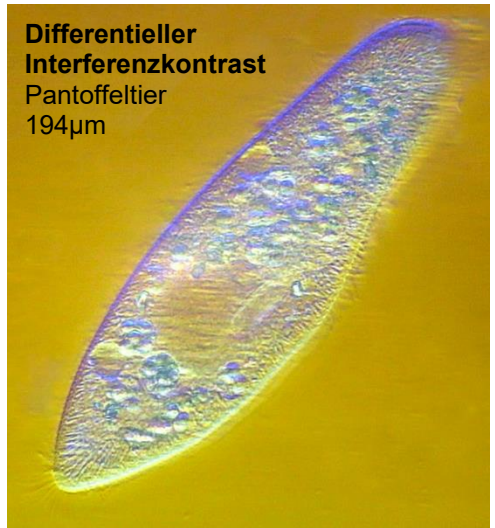
**Durchlicht-Fluoreszenzkontrast**

Schachtelhalmbläättrige Kasuarine  
(*Casuarina equisetifolia*), Nadel



Wimpertier  
127µm

**Durchlicht-Dunkelfeld**



**Differentieller Interferenzkontrast**

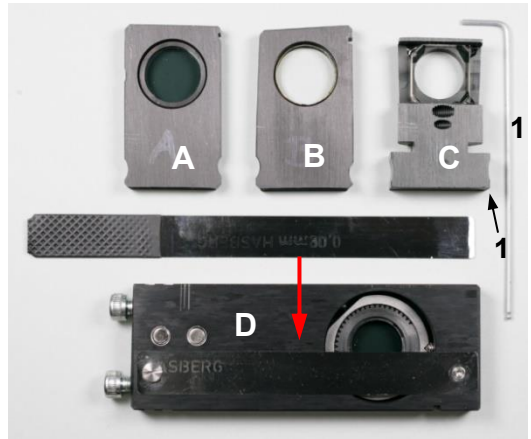
Pantoffeltier  
194µm

## 12. Einrichtung für differentiellen Interferenzkontrast (DIK)

in Verbindung mit den CZJ-Durchlicht-Objektiven GF-PA / GF-PApo der 250CF-Unendlich-Baureihe ( 3,2x / 12,5x / 25x / 50x / 100x )

Fixierter Analysator in Position **A**,  
 Fixierter  $\lambda$ -Kompensator in Position **B**,  
 DIK.-Wollaston-Prisma in Position **C**,  
 Polarisator (135°) mit modifiziertem Wollaston-Prisma und Spaltblende in Position **D**.

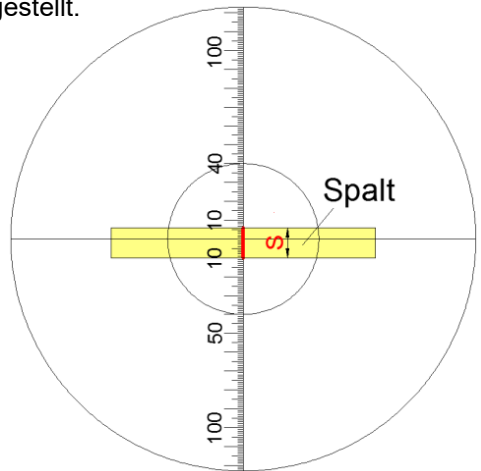
Alle Modulatoren sind in Schiebern gefaßt. A, B, C, D sind die Schieber-Steckplätze am Mikroskop Jenamed 2.



Der Analysator-Schieber **A** und der  $\lambda$ 1-Kompensator-Schieber **B** sind für DIK und Polarisationskontrast optisch wirkungsgleich. Daher können für den DIK alternativ die drehbaren Schieber der Polarisationskontrast-Einrichtung verwendet werden.

Alle Schieber sind auf der oberen Fläche mit 3 Strichen gekennzeichnet und tragen die Buchstaben A, B, C und D, die beim Einschieben immer nach oben zeigen. Der Spalt selbst wird durch zwei lasergeschnittene 0,9 mm Lehrenbänder erzeugt. Diese sind über dem Polarisator positioniert. Ein Lehrenband ist fest verschraubt. Mit dem zweiten Lehrenband, welches durch 2 Neodym-Magneten gehalten wird, wird die Spaltbreite zwischen 1 mm bis 1,8 mm eingestellt.

Abb.: Okularmeßplatte und der mittels Bertramlinse fokussierte Lichtspalt.  
 Die Skala ist durch Drehen des rechten Steckokulars GF-Pw 10x (25) aufrecht gestellt und liegt in der reellen mikroskopischen Zwischenbildebene.

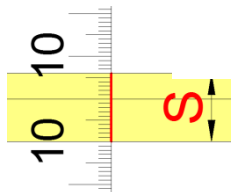


Bestimmung der Spaltbreite **a** :

$$a \text{ [mm]} = S / f_o = S \text{ [mm]} / 10$$

Beispiel:

**S** = 10mm + 6mm = 16mm  
 Okularvergrößerung **f<sub>o</sub>** = 10  
 Eingestellte Spaltbreite  
**a** = 16mm / 10 = 1,6mm



## Arbeitsschritte zur Einstellung des Differentiellen Interferenzkontrastes:

1. Großfeldlinse ausschwenken (wird für Objektive bis Apertur 0,25 später wieder eingeschwenkt) – 2. Aperturblende voll öffnen – 3. Staubschutzschieber entfernen – 4. Objektiv GF Planapochromat 25x einschwenken und im Hellfeld auf ein für DIK-fähiges Präparat fokussieren – 5. Analysator-Schieber **A** in die oberste Position der drei Modulatorausparungen beim Jenamed einschieben. – 6. Spaltblendschieber **D** mit Polarisator und beweglichem Lehrenband in den Modulatorschacht unter dem Kondensator bis zum Anschlag einschieben. – 7. Vorläufig 1,8 mm Spaltbreite einstellen. Die Spaltbreite kann später dem Objektiv entsprechend am schwarz geriffelten Griff des Lehrenbands waagrecht geöffnet oder zugezogen werden. Hierbei beobachtet man die Einstellung der Spaltbreite mit der im Fototubus integrierten, fokussierbaren Bertramlinse. Das fokussierte Abbild des Spalts liegt in der mikroskopischen Zwischenbildebene, die Skalenwerte der Okularmeßplatte beziehen sich auf die visuelle Bildebene, die beim Okulareinblick gesehen wird. Die Okularvergrößerung beträgt  $f_0 = 10$ . Die Spaltbreite **a** ergibt sich somit aus dem Quotienten der Ablesung **S** des Skalenwertes und der Okularvergrößerung  $f_0$  (siehe Seite 10). 8. Bertramlinse ausschalten (d.h.: Zugstange 2 einschieben) - 9. DIK.-Prisma **C** bis zum Anschlag einschieben. - 10. Durch minimales Zurück-/Vorschieben (ca.1-2mm) stellt sich der typische reliefartige **DIK-Graukontrast** ein. Beim weiteren Zurückziehen sind erste Farben zu erkennen. - **Farbigen DIK-Kontrast einstellen:** 11. DIK.-Prisma **C** aus dem Strahlengang herausziehen. - 12.  $\lambda$ 1-Kompensator-Schieber **B** in die zweite (=mittlere) objektivseitige Modulatorposition einschieben. Es stellt sich damit Rot/Violett ein. – 13. DIK.-Prisma **C** bis zum Anschlag wieder einschieben und in gleicher Weise wie beim Graukontrast durch sensibles Zurückziehen/Vorschieben den farbigen DIK-Kontrast einstellen.

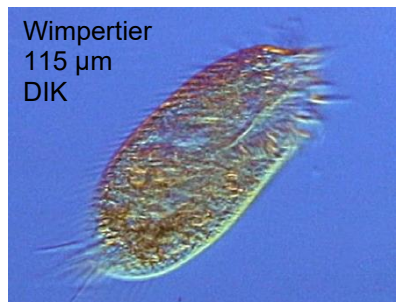
Beim **DIK-Graukontrast** und beim **Farbigen DIK-Kontrast** kann abschließend ein Zuziehen der Aperturblende bis höchstens zur Hälfte der Objektivaustrittspupille zur Kontrastierung genutzt werden. Die Großfeldlinse wird bei Verwendung der Objektive mit den Aperturen 0,06 (3,2x) und 0,25 (12,5x) eingeschaltet.

Objektiv	3,2 x	12,5 x	25 x	50 x	100 x
Spaltbreite	ca. 1,8 mm	ca. 1,6 mm	ca. 1,4 mm	ca. 1,2 mm	ca. 1,0 mm

Ohne künstliche Färbung wird ein deutlicher Reliefkontrast erzeugt.

### Anwendung:

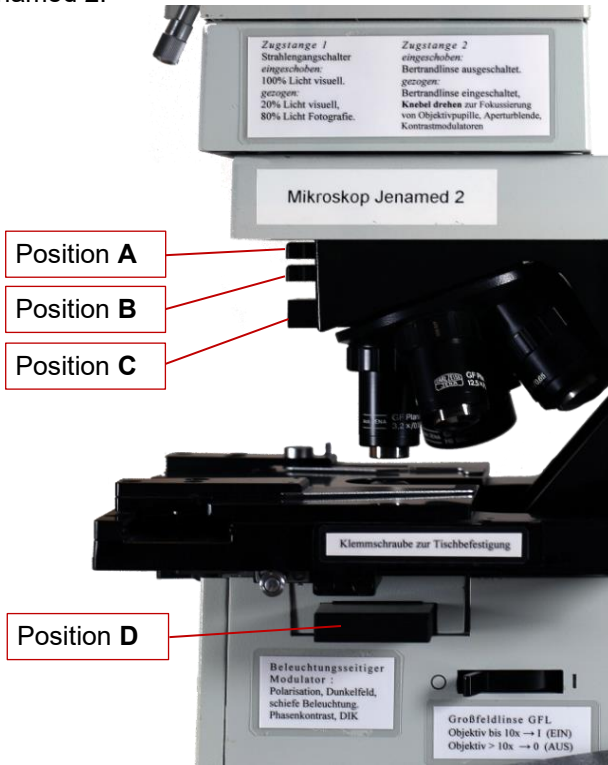
Durchsichtige, für Licht transparente Objekte / Präparate  
( Phasenobjekte / Phasenpräparate )



### 13. Schieber-Steckplätze für die Modulator-Positionen am Jenamed 2

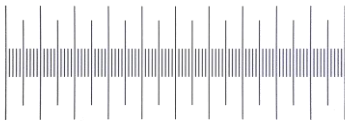
Alle Modulatoren sind in Schiebern gefaßt.

A, B, C, D sind die Positionsbezeichnungen für die Schieber-Steckplätze am Mikroskop Jenamed 2.



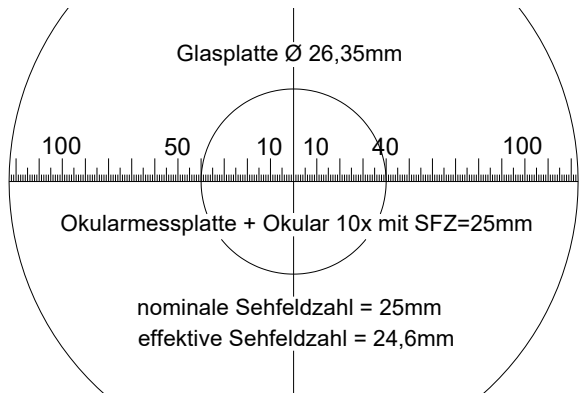
### 14. Objektmeßplatte und Okularstrichplatte

Objektmeßplatte 1 mm mit  
Teilstriichen 10  $\mu\text{m}$  :

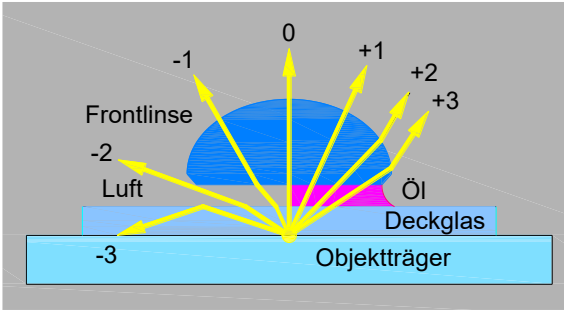


Die Objektmeßskala liegt in der  
Objektebene / Präparatebene

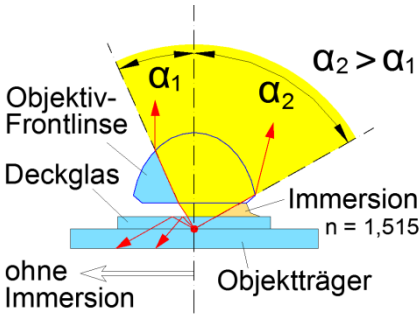
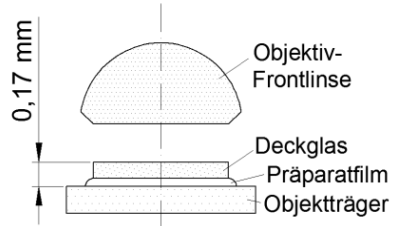
Okularmessplatte (im rechten Steck-Okular):  
Die Skala liegt in der reellen Zwischenbildebene.



# 15. Numerische Apertur (N.A.) und optisches Auflösungsvermögen



Objektivgravur 0,17 bedeutet:  
 Deckglas  $d = 0,17 \text{ mm}$  ist ein Bestandteil des optischen Systems:



N.A.	$2\alpha$	N.A.	$2\alpha$
[-]	[ grad ]	[-]	[ grad ]
0,06	6,9	0,65	75,9
0,20	23,0	0,95	113,4
0,25	28,7	1,25	154,7
0,40	46,1	1,30	162,2

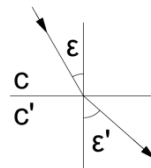
**N.A. =  $n \cdot \sin \alpha$**

**Lichtstärke (relative Öffnung) =  $1 / \text{N.A.} / 2$**

**Öffnungswinkel des Objektivs =  $2 \cdot \alpha = 2 \cdot \arcsin \text{N.A.}$**

„N.A.“ ist die Numerische Apertur, „ $\alpha$ “ der halbe Öffnungswinkel des Objektivs und „ $n$ “ der Brechungsindex des zwischen Objektiv und Deckglas verwendeten Immersionsmediums ( $n = 1$  für Luft;  $n = 1,515$  für Öl oder Glas).

Brechungsindex  $n = \sin \epsilon / \sin \epsilon'$



Je kleiner die Objekte, desto stärker wird das einfallende Licht von diesen aus der ursprünglichen Richtung abgelenkt (gebeugt). Um von kleinen Strukturen scharfe Bilder zu bekommen, muss das Objektiv möglichst viel von diesem gebeugten Licht "einsammeln". Dies geht besonders gut, wenn das Objektiv einen großen Raumwinkel überblickt. Der Begriff Apertur ("Öffnung") beschreibt diese Eigenschaft. Das Auflösungsvermögen des Mikroskops wird daran gemessen, bis zu welcher Grenze zwei kleine Objekte noch als getrennt gesehen werden: Es gibt einen bestimmten Abstand  $d_0$  im Präparat, bei dem dieser Grenzfall eintritt.

**Erhöhung der Auflösung: Erste Möglichkeit:** Zur Beleuchtung des Präparats wird ein Kondensator eingesetzt, dessen numerische Apertur der des Objektivs entspricht.  
**Zweite Möglichkeit:** Zwischen der Frontlinse eines speziell dafür berechneten Objektivs und dem Deckglas wird ein Tropfen Immersionsflüssigkeit eingebracht.

Je größer N.A.<sub>obj</sub> und N.A.<sub>kond</sub> sind, desto kleiner wird d<sub>0</sub>. Ebenso wirkt sich eine kurze Wellenlänge für das Auflösungsvermögen vorteilhaft aus.

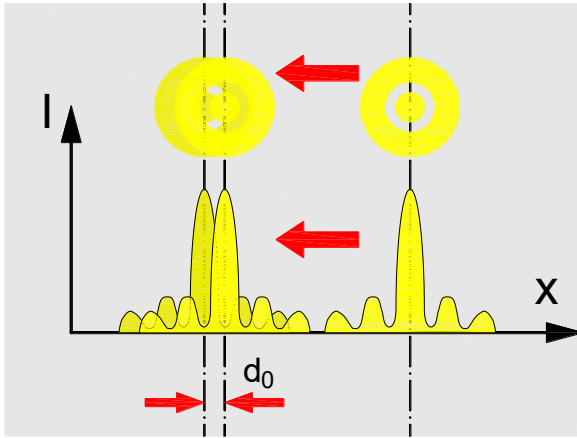
$$N.A._{Kond} \leq N.A._{Obj} \rightarrow$$

$$d_0 = (1,22 \times \lambda) / (N.A._{Obj} + N.A._{Kond})$$

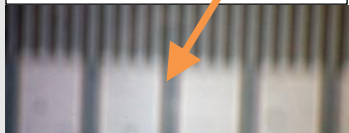
$$N.A._{Kond} > N.A._{Obj} \rightarrow$$

$$d_0 = (1,22 \times \lambda) / (2 \times N.A._{Obj})$$

$\lambda$  := Lichtwellenlänge, gewählt 550nm (gelbgrün) ; Kondensator mit N.A. = 0,9



Die Wechslerstellung „•“ ist für das Objektiv **HI 100x** erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird!



Die mit Lichtmikroskopen theoretisch erreichbare Auflösung beträgt ca. 0,2  $\mu$ m falls  $\lambda = 550$  nm und **N.A.<sub>Kond</sub> = N.A.<sub>Obj</sub> = 1,40**

Tabelle 1 : Optisches Auflösungsvermögen

Durchlicht-Hochleistungsobjektive $\lambda = 550$ nm	Objektiv N.A.	Auflösung <b>d<sub>0</sub></b> [ $\mu$ m]
GF PA <b>3,2x</b> / 0,06 oo / -A	0,06	5,59
GF PA <b>12,5x</b> / 0,25 oo / -A	0,25	1,34
GF PApo <b>25x</b> / 0,65 oo / 0,17 -A	0,65	0,52
PA FL <b>50x</b> / 0,95 oo / 0,17 -A	0,95	0,36
GF PA HI <b>100x</b> / 1,25 oo / 0,17 -A	1,25	0,31

Phasenkontrast- Objektive $\lambda = 550$ nm	Objektiv N.A.	Auflösung <b>d<sub>0</sub></b> [ $\mu$ m]
PA Ph <b>10x</b> / 0,20 oo / -A	0,20	1,68
PA Phv <b>20x</b> / 0,40 oo / 0,17 -A	0,40	0,84
GF PA Phv <b>40x</b> / 0,65 oo / 0,17 -A	0,65	0,52
PA Phv HI <b>100x</b> / 1,30 oo / 0,17 -A	1,30	0,31

Grenzwerte **d<sub>0</sub>** der Auflösung gelten nur für ideale Punktobjekte und für gerade Beleuchtung!

Deckglasdicke für 0,3 < N.A. < 0,7 : 170±30  $\mu$ m

Deckglasdicke für N.A. > 0,7 : 170±10  $\mu$ m

Bei Ölimmersion spielt die Deckglasdicke keine Rolle

Für Menschen sichtbar: Violett 380nm ≤  $\lambda$  ≤ 750nm Rot



## 16. Förderlicher visueller Vergrößerungsmaßstab $M_f$

Quelle: <https://de.wikipedia.org/wiki/Lichtmikroskop>

Entscheidend für die Fähigkeit eines Mikroskops, Strukturen kleiner Objekte unterscheidbar abzubilden, ist (neben dem Kontrast) nicht die Vergrößerung, sondern die Auflösung. Dieser Zusammenhang ist nicht allein durch strahlenoptische Überlegung zu verstehen, sondern ergibt sich aus der Wellennatur des Lichts. Ernst Abbe erkannte als erster den entscheidenden Einfluss der Numerischen Apertur  $N.A.$  auf die Auflösung und gab die förderliche Vergrößerung wie folgt an :

$$\text{förderliche Vergrößerung } M_f = ( 500 \dots 1000 ) \cdot N.A.\text{obj}$$

Die numerische Apertur ist wesentlich vom vordersten optischen Element eines Systems abhängig, bei Mikroskopen von der **Frontlinse** des Objektivs. Auf guten Mikroskopobjektiven ist der Wert daher eingraviert.

Mikroskopobjektive, die in Luft arbeiten (also ohne **Immersion**), haben deshalb immer eine numerische Apertur kleiner 1. Bei sehr guten Exemplaren kann der Wert bis zu 0,95 betragen. 0,95 ist der Sinus von  $72^\circ$ , der Öffnungswinkel eines solchen Objektivs liegt demnach bei  $144^\circ$ .

Bei einem Öffnungswinkel von  $111^\circ$  ergäbe sich für ein Trockenobjektiv eine numerische Apertur von 0,825 und für Ölimmersionsobjektive eine von 1,25.

Liegt die visuelle Gesamtvergrößerung  $M_o$  im Bereich der förderlichen Vergrößerung, dann können die kleinsten vom Objektiv aufgelösten Strukturen nach der Abbildung durch das Okular im Auge noch aufgelöst werden, erscheinen also etwa unter einem Winkel von  $2'$  (Bogenminuten).

Wird die Vergrößerung  $M_o$  höher gewählt als  $M_f = 1000 \times N.A.$  (z. B. durch ein Okular mit hoher Vergrößerung), dann wird das visuelle Bild des Objekts zwar noch größer dargestellt, aber es sind keine weiteren Objektdetails erkennbar.

Hohe Vergrößerungen ohne ausreichende Auflösung führen zu einer sogenannten „leeren Vergrößerung“ ohne Zugewinn an Bildinformation.

Objektive und Okulare müssen also aufeinander abgestimmt sein.

Nach den Gesetzen der Wellenoptik ist die Auflösung des Lichtmikroskops durch die Größe der Wellenlänge der Beleuchtung beschränkt, siehe Numerische Apertur.

Auflösungsvermögen = Fähigkeit zur Unterscheidung eng benachbarter Punkte oder Linien eines Objekts im Bild. In der Mikroskopie wird das Auflösungsvermögen definiert in Bezug auf Linienpaare pro Millimeter.



*Pinnularia gibba*

## 17. Der Fokussier-Feintrieb

Das Bedienelement des Fokussier-Feintriebes am Jenamed 2 ist als waagrechtes Stellrad ausgeführt. Gesamtes Hubintervall  $\geq 2500 \mu\text{m}$  (2,5 mm) ;  
Eine volle Umdrehung des Stellrads  $\leftrightarrow 500 \mu\text{m}$  Höhenverschiebung ;  
Stellrad mit 54 Stück Griffrändeln (Zacken) :

1 Zackenabstand entspricht  $500 / 54 = 9,26 \mu\text{m} \approx 10 \mu\text{m}$  ;

Der untere Anschlag ist werkseitig so justiert, daß bei Verwendung des konventionellen Objekthalters die Objektive auf Objektträgern von 0,8 mm Dicke sicher fokussiert werden können.

## 18. Die Objektive für Durchlicht : Großfeld-Planachromate

Objektive für Durchlicht-Hellfeld , Durchlicht-Dunkelfeld , Schiefe Beleuchtung  
Rheinberg-Beleuchtung , Polarisationskontrast , Durchlicht-Fluoreszenz  
Differentieller Interferenzkontrast

Hochleistungsobjektivsatz 250 CF VEB Carl Zeiss Jena, farbfehlerfreie Feldabbildung durch CVD-freies System (CF=chromatical aberration free), Großfeld-Planachromate für P- und Pw-Okulare bis Feldzahl (=Sehfeldzahl) 25 : Bildfeldwölbung behoben ; das mikroskopische reelle Zwischenbild ist für einen Durchmesser von 20 mm bis 32 mm korrigiert und geebnet, sodaß ein großes Objektfeld (vgl. Tabelle 4) scharf gesehen und fotografiert werden kann.

SFZ:= Sehfeldzahl [mm] =  $\varnothing$  Objektfeld x Mz

$\varnothing$  Objektfeld [mm] = SFZ / Mz;

CVD := Chromatische Vergrößerungsdifferenz.

Das Objektfeld liegt in der Präparatebene.

Großfeldabbildung mit einem scheinbaren nominalen Bildfelddurchmesser von bis zu 250mm bei visueller Beobachtung mit Bezugssehweite 250mm.  
Effektiver Bildfelddurchmesser := Sehfeld  $\varnothing = 2 \times 123 \text{mm} = 246 \text{mm}$  gemäß der sichtbaren Ablesegrenzen der Okularstrichplatte bei Okulareinblick.  
Die Okularstrichplatte liegt in der mikroskopischen reellen Zwischenbildebene, die mit der Okularbrennebene der 10x-Okulare identisch ist.  
Ein Hochleistungsobjektiv ist nutzbar mit einer nominalen Zwischenbildgröße von bis zu  $\varnothing 25 \text{mm}$ . Effektive Zwischenbildgröße =  $\varnothing 246 \text{mm} / f_0 = 246 \text{mm} / 10 = 24,6 \text{mm}$ .

Objektivvergrößerung = Optische Tubuslänge / Objektivbrennweite ;

Beim Jenamed 2 beträgt die optische Tubuslänge 250mm .

Objektive mit Gewindeanschluß M25x0,75 ; Abstand zwischen Präparatebene und Anschraubfläche am Objektivrevolver := Abgleichlänge = 45 mm .

Beleuchtungsseitige Modulatoren:

Glasscheiben  $\varnothing 25,7 \times 1,0 \text{ mm}$  für stellbare Schieber,

Glasscheiben  $\varnothing 26,0 \times 1,0 \text{ mm}$  für nicht stellbare Schieber.

GF Planachromat 3,2x / 0,06 oo / -A

(Grün, Gelb korrigiert)

Typ	Brennweite [ mm ]	Arbeitsabstand [ mm ]	Hersteller	Nummer
GF PA	78	4,7	aus Jena	8639

Achromate sind für den gelbgrünen Spektralbereich korrigiert, für den blauen und roten Bereich des Spektrums sind sie über- bzw. unterkorrigiert → Farbaufnahmen bei mittleren Anforderungen an Auflösung, Kontrast und Farbwiedergabe.

Bei Einstellung des Vergrößerungswechslers auf 0,8 ist das Sehfeld etwas eingeschränkt (Sehfelddurchmesser ca. 215 mm).

Großfeld Planachromat, Verwendung mit / ohne Deckglas.

Großfeldlinse (GFL) einschalten ( I ), Aperturblende öffnen !

Filterpaar „matt“ einstellen ; bei Schwarzweißaufnahmen Gelbgrünfilter verwenden !

Anwendungen: Durchlicht-Hellfeld / Schiefe Beleuchtung / Polarisationskontrast / Durchlicht-Fluoreszenzkontrast / Differentieller Interferenzkontrast.

GF Planachromat 12,5x / 0,25 oo / -A

(Grün, Gelb korrigiert)

Typ	Brennweite [ mm ]	Arbeitsabstand [ mm ]	Hersteller	Nummer
GF PA	20	8,0	Carl Zeiss	005 507

Achromate sind für den gelbgrünen Spektralbereich korrigiert, für den blauen und roten Bereich des Spektrums sind sie über- bzw. unterkorrigiert → Farbaufnahmen bei mittleren Anforderungen an Auflösung, Kontrast und Farbwiedergabe.

Großfeld Planachromat, Verwendung mit / ohne Deckglas (d = 170±30 µm ).

Großfeldlinse (GFL) einschalten ( I ), Aperturblende öffnen !

Filterpaar „matt“ einstellen ; bei Schwarzweißaufnahmen Gelbgrünfilter verwenden !

Anwendungen:

Durchlicht-Hellfeld / Durchlicht-Dunkelfeld / Schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisationskontrast / Durchlicht-Fluoreszenzkontrast / Differentieller Interferenzkontrast.

Durchlicht-Dunkelfeld mit zentrierten kreisrunden Blenden Ø 8 mm auf

Glasscheiben Ø 25,7 x 1,0 mm für stellbare Schieber,

Glasscheiben Ø 26,0 x 1,0 mm für nicht stellbare Schieber.

## GF Planapochromat 25x / 0,65 oo / 0,17 -A (Blau, Grün, Gelb, Rot korr.)

Typ	Brennweite [ mm ]	Arbeitsabstand [ mm ]	Hersteller	Nummer
GF P APO	10	0,30	Carl Zeiss	000 330

Apochromate sind für vier Farben (gelb,grün,blau,rot) korrigiert, d.h praktisch über den gesamten sichtbaren Spektralbereich → für Farbaufnahmen gut geeignet.

Großfeld Planapochromat, Verwendung nur mit Deckglas  $d = 170 \pm 30 \mu\text{m}$  !

Großfeldlinse (GFL) ausschalten ( O ) , Aperturblende regeln !

Filterpaar „matt“ ausschalten .

### Anwendungen:

Durchlicht-Hellfeld / Durchlicht-Dunkelfeld / Schiefe Beleuchtung / Rheinberg-  
Beleuchtung / Polarisationskontrast / Durchlicht-Fluoreszenzkontrast /  
Differentieller Interferenzkontrast.

Durchlicht-Dunkelfeld mit zentrierten kreisrunden Blenden  $\varnothing 18 \text{ mm}$  auf

Glasscheiben  $\varnothing 25,7 \times 1,0 \text{ mm}$  für stellbare Schieber,

Glasscheiben  $\varnothing 26,0 \times 1,0 \text{ mm}$  für nicht stellbare Schieber.

## Planachromat FL 50x / 0,95 oo / 0,17 - A (Fluoreszenz / DG.-Korrektur)

Typ	Brennweite [ mm ]	Arbeitsabstand [ mm ]	Hersteller	Nummer
GF PA FL	5,0	0,10	aus Jena	001 334

Achromate sind für den gelbgrünen Spektralbereich korrigiert, für den blauen und roten Bereich des Spektrums sind sie über- bzw. unterkorrigiert → Farbaufnahmen bei mittleren Anforderungen an Auflösung, Kontrast und Farbwiedergabe.

Objektiv mit DG-Korrektur / Fluoreszenz

Großfeld Planachromat, Verwendung nur mit Deckglas  $d = 170 \pm 10 \mu\text{m}$  !

Großfeldlinse (GFL) ausschalten ( O ) , Aperturblende regeln !

Filterpaar „matt“ ausschalten .

### Anwendungen:

Durchlicht-Hellfeld / Schiefe Beleuchtung / Polarisationskontrast / Durchlicht-  
Fluoreszenzkontrast / Differentieller Interferenzkontrast.

## GF Planachromat HI 100x / 1,25 oo / 0,17 - A (Grün, Gelb korrigiert)

Typ	Brennweite [ mm ]	Arbeitsabstand [ mm ]	Hersteller	Nummer
GF PA HI	2,5	0,08	aus Jena	001 395

Achromate sind für den gelbgrünen Spektralbereich korrigiert, für den blauen und roten Bereich des Spektrums sind sie über- bzw. unterkorrigiert → Farbaufnahmen bei mittleren Anforderungen an Auflösung, Kontrast und Farbwiedergabe.

HI := homogene Immersion

Objektiv mit Irisblende, Verwendung nur mit Immersions-Öl und mit Deckglas !

Die Deckglasdickentoleranz ist in Verbindung mit der Ölimmersion nicht relevant.

Immersionsöl PCB-frei,  $n_D = 1,515$  bei  $20^\circ\text{C}$  ; Bestell-Nr. 308721:020.24/2.

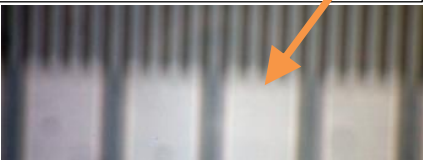
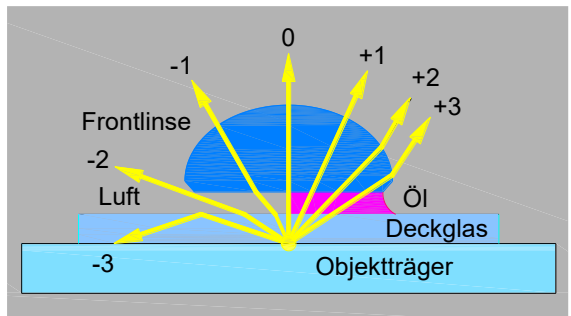
Der im Jenamed 2 eingebaute Kondensator ist ein Trocken-Kondensator mit  $N.A. = 0,9$  ; deshalb kann zwischen Kondensorlinse und Objektträger kein Immersionsöl verwendet werden.

Vergrößerungswechslerposition „•“ ; Großfeldlinse (GFL) ausschalten ( O ) ; Filterpaar „matt“ ausschalten ; Aperturblende regeln !

### Anwendungen:

Durchlicht-Hellfeld / Schiefe Beleuchtung / Polarisationskontrast / Durchlicht-Fluoreszenzkontrast / Differentieller Interferenzkontrast.

Die Wechslerstellung „•“ ist für das Objektiv **HI 100x** zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird:

Standardöle haben einen Brechungsindex von 1,5180 (bei 546,1 nm Wellenlänge) und liegen damit dicht am Brechungsindex von Deckgläsern (1,5255).

Ölimmersionsojektive sind so berechnet, daß sie mit solchen Ölen und einem Deckglas der richtigen Dicke die maximale Auflösung erreichen.

Reinigung der Objektiv-Frontlinse →

→ Pflege- und Reinigungshinweise zum Mikroskop

Keinen Druck auf die Objektiv-Frontlinse ausüben !

Zum Reinigen der Linsen niemals Alkohol verwenden !

## 19. Die Objektive für Phasenkontrast

Hochleistungsobjektivsatz CZJ 12 / 250 / CF M25x0,75 :

Objektiv-Typ	Objektiv-Spezifikation	Brennweite [mm]	Arbeitsabstand [mm]	Carl Zeiss Jena Nummer
PA PH	10x / 0,20 / ∞ / -A	25	14,1	004617
PA PHV	20x / 0,40 / ∞ / 0,17 / -A	12,5	2,7	004502
GFPA PHV	40x / 0,65 / ∞ / 0,17 / -A	6,3	0,53	008838
PA PHV	HI 100x / 1,30 / ∞ / 0,17 / -A	2,5	0,14	003556

Phasenobjekte sind durchsichtige Objekte mit gegenüber der Umgebung meist höherem Brechungsindex. Die Lichtgeschwindigkeit im Objekt fällt bei höherer optischer Dichte geringer aus, die Wellenlänge des Lichts ändert sich.

Durchsichtige Objekte mit gegenüber dem Umfeld höheren Brechungsindex erscheinen hell auf dunklerem Hintergrund.

Die Einrichtung für Phasenkontrast besteht aus einem Satz Phasenkontrastobjektiven und einem Satz dazu passender Ringblendenschieber. Bei der Fluoreszenzmikroskopie muß darauf geachtet werden, daß das verwendete Öl keine Eigen-Fluoreszenz hat. Ein „F“ in der Typenbezeichnung zeigt an, daß es für die Fluoreszenzmikroskopie geeignet ist.

### Vorgehensweise :

Grünfilter am Filterrevolver einstellen, Aperturblende voll öffnen, Präparat einrichten, Bertrandlinse auf das Bild der Phasenringe des Objektivs fokussieren, Ringblendenschieber (am beleuchtungsseitigen Modulator) bis zum Anschlag in das Einschubfach Position D einschieben, Bilder der Phasenringe und der Ringblende mittels der Justierschrauben am Ringblendenschieber zur Überdeckung bringen, Bertrandlinse ausschalten durch Hineinschieben der Zugstange „2“, Objekt mit Fokussiertrieb scharfstellen.

Bei Verwendung von PHV-Objektiven kann die Aperturblende soweit geschlossen werden, daß nur der kleine Ring sichtbar bleibt (strenger Phasenkontrast). Beide Ringe sichtbar ⇒ „normaler Phasenkontrast“. Objektive mit der Gravur „PH“ enthalten nur einen Phasenring.

Anwendungen: Sehr dünne, durchsichtige, kontrastarme Objekte (Phasenobjekte). Phasenkontrast mit gerader oder schiefer Beleuchtung.

## 20. Kondensator und Aperturblende zum JENAMED 2

Verwendeter Kondensator : Trocken-Kondensator mit  $N.A._{Kond} = 0,9$  ;

Die Aperturblende umfasst 7 Blendenstufen :

Aperturblende minimaler  $\varnothing = 2,5 \text{ mm}$  (  $4,9 \text{ mm}^2$  )

Aperturblende Mittelstellung  $\varnothing = 15 \text{ mm}$  (  $176,7 \text{ mm}^2$  )

Aperturblende maximaler  $\varnothing = 28,5 \text{ mm}$  (  $637,9 \text{ mm}^2$  )

## 21. LED-Licht, Filter, Farbtemperaturen am JENAMED 2

High-Power LED der Generation LE 2 ; Technologie SMD/HD (Voss)

Typ LE 2-XREWHT-L1-WG-R2, weiß

Nennwert  $FT=5700 \text{ k}$  ; 4 Volt ; Abstrahlwinkel  $100^\circ$

Helligkeit bei 350 mA : 110 Lumen

Helligkeit bei 1000 mA : 220 Lumen

Helligkeitsregler bei "**80**", gemessen an der LED:  $FT \text{ ca. } 5900 \text{ k}$  und CC35M

**Tabelle 2** : Filter, Filterfaktoren und beleuchtungsseitige Farbtemperaturen:

Großfeldlinse (GFL)	Filter-Revolver #	Filter Art	Filter Faktor fv [-]	Helligkeitsregler bei " <b>80</b> "		Farbkorr. CC M
				Farbtemperatur		
				FT [k]	$\Delta FT$ [k]	
GFL aus	1	ohne Filter	1	7630	0	25
GFL aus	2	D 2849 / grau	2	7750	120	30
GFL aus	3	Filterpaar matt	2	8060	430	25
GFL aus	4	R 278 / rot	2	6280	-1350	10
GFL aus	4	V 2319 / grün	8	22000	14370	70
GFL aus	4	blau	2	39000	31370	65
GFL ein	1	ohne Filter	2	9340	1710	25
GFL ein	2	D 2849 / grau	4	9520	1890	30
GFL ein	3	Filterpaar matt	4	8770	1140	25
GFL ein	4	R 278 / rot	4	7400	-230	10
GFL ein	4	V 2319 / grün	16	23600	15970	70
GFL ein	4	blau	4	40000	32370	65
Pol-Filter :		Polarisator	4			
Pol-Filter :		Analysator	4			
$\lambda$ - Platte :		Lamda-Platte	1			

## 22. Bedienungshinweise

**Mikroskop Jenamed 2, Ausgangsstellung:** (1) Lichtschalter LED: Aus.

(2) Spannungsregler zur LED-Helligkeitsregelung: 0.

**Mikroskop Jenamed 2 einschalten:** (1) Lichtschalter LED: Ein. (2) Spannungsregler zur LED-Helligkeitsregelung langsam von Stellung 0 bis maximal Stellung 80 hochregeln. (3) Zugstange des Strahlengangsalters: gezogen.

**Mikroskop Jenamed 2 ausschalten:** (1) Spannungsregler zur LED-Helligkeitsregelung langsam auf Stellung 0 zurückdrehen. (2) Lichtschalter LED 1x drücken: Aus.

**Vorstehende Maßnahmen sollen die vorzeitige Zerstörung der LED verhindern! -**

**Voraussetzungen für ein gutes Auflösungsvermögen:**

Sind Objektiv und Präparat sauber? Haben die Deckgläser die richtige Dicke? -

**Entspanntes Sehen ist wichtig:** Erst völlig entspannt in die Ferne sehen und dann erst in die Okulare – ohne die Einstellung der Augen zu verändern. Dann erst den Augenabstand der beiden Okulare an der Knickbrücke einstellen, bis statt zwei nur noch einen Kreis sichtbar ist. Merke: Stets bewusst mit beiden Augen schauen. Kopf vor den Okularen langsam vor- und zurückbewegen, um eine optimale Stellung herauszufinden, bei welcher der ganze Sehfeldkreis bequem eingesehen werden kann. -

**Folgende Vorkehrungen sollen dem Schutz des Objektivs dienen:**

Die gesamte Frontoptik der Objektive mit höheren Maßstabszahlen ist in einer federnd gelagerten Hülse untergebracht. Bei Berührung weicht sie um eine kleine Strecke nach oben zurück. Der zur Verfügung stehende Weg ist aber nur kurz. Den Mikroskopisch deshalb beim Fokussieren nicht zu weit nach oben fahren, da sonst das Präparat gegen die Objektivspitze drückt! Ist die Frontlinse erst einmal am Ende ihrer "Rückzugsmöglichkeit" angekommen, kann es teuren Glasbruch geben.

**Vor jedem Objektivwechsel** mittels Objektivrevolver den Objektiv-Schnellhub auf Position „3“ schalten!



Raupenhüpferlinge, *Attheyella species*, Standbild 1920x1080 aus Video-Clip

## 23. Pflege- und Reinigungshinweise zum Mikroskop

( Quelle: Dr. Michael Zöffel / Carl Zeiss Microlmaging: „Das saubere Mikroskop“ ). Eine saubere Optik im Mikroskop ist die Voraussetzung für erfolgreiches Mikroskopieren und einwandfreie Bilder. Die Auswahl des besten Reinigungsverfahrens richtet sich nach der Art der optischen Oberfläche und der Art der zu entfernenden Verunreinigungen. Je näher sich eine Verschmutzung am Objekt oder an einem Kamerasensor befindet, umso größer ist ihre Auswirkung auf das visuelle oder aufgenommene Bild. Die kritischen Bereiche sind folgende:

1. Vorderfläche der Frontlinse des Objektivs
2. Oberfläche des Kamerasensors sowie seines Schutzglases
3. Beide Oberflächen des Deckglases
4. Oberfläche des Objektträgers
5. Oberflächen der Kameraadapter-Optik
6. Oberflächen der Kondensor-Frontlinse
7. Außen- und Innenfläche der Augenlinse des Okulars sowie die Oberflächen von Strichplatten
8. Außenfläche des Schutzglases in der Lichtaustrittsöffnung der Feldblende
9. Sonstige Glasoberflächen im Strahlengang, z.B. die Kolben von Halogen- oder Hochdrucklampen, Fluoreszenzfilter und Strahlenteiler, Kollektroptiken, Kontrastfilter und Wärmeschutzgläser.

Manche optischen Oberflächen sind gegenüber Verschmutzung empfindlicher als andere. Sehr kritisch ist die Frontlinse des Objektivs: Je kleiner der freie Arbeitsabstand eines beliebigen Trockenobjektivs und je kleiner die Oberfläche der konkaven Frontlinse, desto größer ist die Gefahr der Verschmutzung der Frontlinse durch Einbettungsmedien, Immersionsflüssigkeiten oder Staubteilchen. Die Frontlinse von Immersionsobjektiven sollte sowohl nach Beendigung einer Untersuchung, als auch vor Aufbringen einer neuen Immersionsflüssigkeit von Rückständen gesäubert werden. Die Vermischung sowohl von verschiedenen Immersionsmedien als auch von unterschiedlichen Chargen ein und desselben Mediums kann zu unscharfen Bildern führen. Wenn ein verdächtiges optisches Bauteil bewegt wird und der Schmutz dieser Bewegung folgt, so ist damit die verschmutzte optische Oberfläche identifiziert. Die einzige Ausnahme von dieser Regel betrifft die Kamera: Schmutz innerhalb der Kamera dreht sich im Bild **nicht** mit, wenn die Kamera gedreht wird!

Eine **makroskopische Prüfung** auf größere Staubteilchen und Kratzer auf optischen Oberflächen kann mit einer Lupe (Vergrößerung 3–6-fach) oder einem umgekehrt gehaltenen Okular vorgenommen werden. Verunreinigungen auf der Frontlinse von Objektiven sind leicht feststellbar, wenn man von der Rückseite her gegen eine gleichmäßig helle Fläche in das Objektiv hineinsieht: Die inneren Linsenglieder erzeugen ein vergrößertes Bild auch der geringsten Unsauberkeit auf der Vorderfläche der Frontlinse. Ein unscharfes Bild muss nicht immer auf Verschmutzung zurückzuführen sein: Bei Objektiven mit hoher numerischer Apertur kann ein Deckglas mit falscher Dicke zu unscharfen Bildern führen (sphärische Aberration). Viele hochkorrigierte Immersionsobjektive verlangen ausgesuchte Deckgläser von 0,17 mm Dicke, wenn maximale Abbildungsleistung gefordert ist.

Unterschiedliche optische Oberflächen: Man unterscheidet zwischen konkaven oder konvexen optischen Oberflächen einerseits (z.B. Frontlinsen von Trockenobjektiven

und Trockenkondensoren, die Augenlinsen mancher Okulare) und planparallelen oder planen Oberflächen andererseits (z.B. Frontlinsen der meisten Immissionsobjektive und Kondensoren, Filter, Schutzgläser vor Kamerasensoren oder in der Lichtaustrittsöffnung). Konkave Oberflächen, werden mittels den nachfolgend beschriebenen Wattewischern oder den neuartigen Polyesterwischern gereinigt. Plane oder planparallel von außen leicht zugängliche Flächen können genauso oder einfacher mit weichen Zellstofftüchern gereinigt werden. Die im Innern der Geräte liegenden Optikflächen, Bestandteile von Fluoreszenzfiltersätzen, Kameras und Kamera-Adapter sollten niemals vom Anwender, sondern nur vom erfahrenen Kundendienst des Original-Herstellers gereinigt werden. **Vom Anwender dürfen gereinigt werden:** Oberflächen der Objektiv-Frontlinse, Kondensor-Frontlinse, Okular-Augenlinse, Vollglas-Farb- und Konversionsfilter sowie die äußere Oberfläche des Lichtaustrittsöffnungs-Schutzglases der Feldblende. **Reinigungsmittel und Reinigungsverfahren:** Das Ziel besteht in der vollständigen Entfernung von Staub und Schmutz, ohne Rückstände der Reinigungsmittel zu hinterlassen und ohne die Oberflächen zu beschädigen.

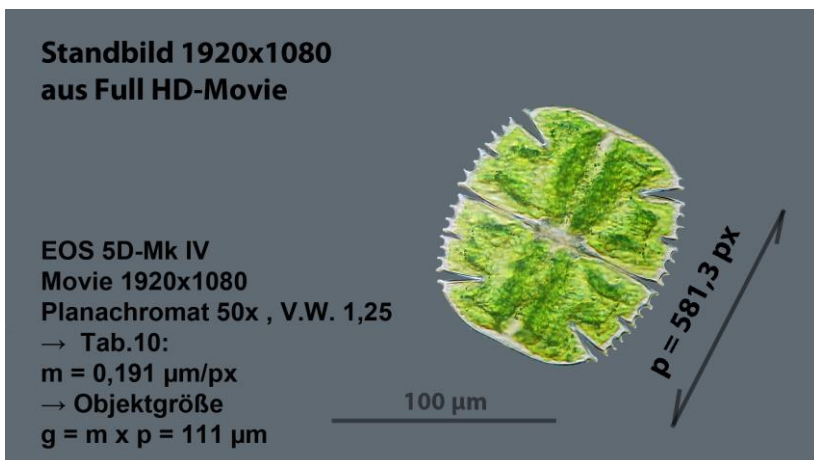
**Herstellung der Wattestäbchen:** ■ Hände waschen ■ Bambusstäbchen in die (wässrige oder organische) Reinigungslösung tauchen. So haften die Wattefasern besser am Stäbchen. ■ Das Stäbchen mit der Watte in Kontakt bringen. Watte nicht drücken und zunächst nur wenig Watte aufdrehen, sonst lässt sie sich schlechter aufwickeln. ■ Das Stäbchen drehen, sodaß an seinem Ende ein gleichmäßig wachsender Wattebausch von etwa elliptischer Form entsteht. ■ Die Watte nach jeder Wischbewegung entfernen und durch einen frisch hergestellten Wattebausch ersetzen. ■ Das Stäbchen kann über eine lange Zeit verwendet werden. Getrennte Stäbchen für wässrige und organische Lösungen verwenden! ■ Die Watte sollte zum Schutz vor Verschmutzung in einem Polyethylenbeutel aufbewahrt werden. Sie darf nicht mit den Fingern berührt werden, da Hautschweiß und Fett den Reinigungserfolg erheblich beeinträchtigen. Die Polyesterwischer ITW Texwipe CleanTips® Swabs können solange verwendet werden, bis ihre Reinigungskraft beginnt nachzulassen.

**Reinigungsvorgang:** ■ **Lose Staubteilchen** mit einer Gummipuste abblasen. ■ **Wasserlösliche** Verschmutzungen mit destilliertem Wasser entfernen. Ist dies erfolglos, die Reinigung mit Spülmittellösung wiederholen. Eventuelle Rückstände durch abschließendes Wischen mit einem trockenen Wattestäbchen entfernen; vorher aber die Oberflächen durch Anhauchen mit einem feinen Feuchtigkeitfilm versehen. Darauf achten, daß dabei keine Speicheltröpfchen auf die Oberfläche gesprüht werden. ■ **Ölige** Verschmutzungen zunächst mit Spülmittellösung entfernen. Führt dies nicht zu einem befriedigenden Ergebnis, Reinigung mit einem Lösungsmittel (Optik-Putzmischung, n-Hexan) wiederholen. ■ **Fettige** Verschmutzungen müssen immer mit einem Lösungsmittel entfernt werden. ■ Nach dem Reinigen die Oberfläche kontrollieren. Objektive, Okulare und Kameras auf eine staubfreie Unterlage (z.B. neue Alu-Folie) stellen. Alle anderen zu reinigenden Optiken sollten so gut zugänglich wie möglich sein. Das Wattestäbchen oder die Polyesterwischer in die Reinigungslösung tauchen und abschütteln, um überschüssiges Lösungsmittel zu entfernen. Ein **Zuviel an Lösungsmittel** im Wattebausch fließt über die Linsenränder und greift den Optikkitt an. Dadurch kann es zu Entkittungen zwischen den Linsen eines Kittgliedes kommen. Um bei Verwendung leichtflüchtiger organischer

Flüssigkeiten deren Verweilzeit im Wattebausch zu verlängern, wird das Lösungsmittel von manchen Anwendern gekühlt ( $-10^{\circ}$  bis  $-20^{\circ}\text{C}$ ). Gekühlte Lösungsmittel haben einen Nachteil: Durch ihre niedrige Temperatur kann es zum Beschlagen der Linsenoberfläche kommen (Luftfeuchtigkeit), wobei ein Rückstand verbleibt. Die Verweilzeit des Lösungsmittels kann besser durch Zusetzen z.B. von Isopropanol verlängert werden. **Spiralförmig von der Mitte zum Rand** hin sollte die Reinigung erfolgen. Nie mit einer Zickzack-Bewegung wischen – damit wird der Schmutz nur verteilt. Bei größeren optischen Oberflächen (z.B. Tubuslinse) ist zunächst **vom Rand zur Mitte** eine spiralförmige Wischbewegung und erst danach eine solche von der Mitte zum Rand hin auszuführen. In der Regel werden mehrere Spiral-Wischbewegungen erforderlich sein. Empfehlung: Reines, leichtflüchtiges n-Hexan oder die Optikputzmischung von Carl Zeiss. Reinigung äußerer Mikroskopeile: Nebelfeuchtes Mikrofasertuch. Losen Staub und andere Verschmutzungen kann man mit einem ausschließlich für diesen Zweck verwendeten weichen Marderhaar-Pinsel entfernen.

**Die perfekte Präparation** ist neben der Sauberkeit der Mikroskopoptik entscheidend für optimale Ergebnisse, z.B.: ■ Dicke eines histologischen Schnittes, ■ Intensität der Anfärbung, ■ Brechzahl und Dispersion der Einbettungsmedien und Immersionsflüssigkeiten, ■ Abstand einer lebenden Zelle vom Deckglas beim Mikroskopieren mit hoher Auflösung, ■ Einhaltung der richtigen Deckglasdicke (z.B.  $0,17 \pm 0,01$  mm) vermeidet das Auftreten von sphärischer Aberration. **Verschmutzung vermeiden**: Die Öffnungen des Binokulartubus sind stets entweder mit Okularen oder mit Staubschutzstopfen zu verschließen. Sind keine vom Hersteller vorgesehenen Schutzstopfen vorhanden, ist entsprechend geformte Alu-Folie ein guter Behelf. Der Befall durch **Fungus** (Glaspilz) wird am besten durch eine per Klimaanlage erzeugte trockene Raumluft oder durch eine über dem Mikroskop angeordnete Infrarot-Heizlampe (Mindestabstand zum Gerät: 150 cm) vermieden. Es gibt jedoch keinen absoluten Schutz gegen Fungus. Fungusbefall ist kaum zu beheben.

**Im Umgang mit Chemikalien, Lösungsmitteln und anderen möglichen Gefahrenquellen: Sicherheitsvorschriften zu beachten !**



## Was beim Reinigen der Mikroskopoptik zu beachten ist :

1. Zu Beginn der Reinigung immer die Gummipuste anwenden, außer wenn Flüssigkeiten (z.B. Immersionsöl) zu entfernen sind.
2. Linsen niemals trocken wischen – das verursacht Kratzer!
3. Keine scheuernden Materialien verwenden, z.B. trockene Lederwischer, trockene Leinenlappen oder Polystyrolstäbchen, wie sie von manchen Herstellern empfohlen werden.
4. Kein Lösungsmittel vor dem Versuch mit destilliertem Wasser anwenden (notfalls durch Anhauchen der Oberfläche erzeugen), außer wenn Fett zu entfernen ist.
5. Zur Reinigung älterer Mikroskopoptik (z.B. die STANDARD-Reihe von Carl Zeiss Oberkochen oder die MIKROVAL- und JENA-Mikroskope 250 CF-Reihen von Carl Zeiss Jena) kein Ethanol, Diethylether oder Aceton verwenden !
6. Niemals Wegwerf-Wattetupfer (z.B. Q-Tip®) anstelle der beschriebenen Wattestäbchen bzw. ITW Texwipe CleanTips® Swabs verwenden, da erstere nicht frei von Verunreinigungen sind !
7. Niemals anstelle der hölzernen (Bambus-) Stäbchen Metallstäbchen verwenden, da sonst Frontlinsen leichter beschädigt werden können.
8. Niemals Optik-Sprühdosen mit flüssiger Druckluft verwenden ! Die Druckluft aus diesen Sprühdosen hinterlässt auf optischen Oberflächen leicht einen kaum entfernbaren Rückstand.
9. Niemals Säuren oder Ammoniak zum Reinigen der Objektivfrontlinsen verwenden, da Frontlinsen empfindlich gegenüber Säuren- und Laugendämpfen sind !
10. Niemals innere Optikflächen, Kameras, Adapteroptiken usw. selbst reinigen !

## Lieferquellen und Rezepturen :

**KERMA Augenwatte N 1. DAB 6:** 100 % reine Baumwollwatte (DIN 61 640-A, Ph. Eur., DAB). Sie ist absolut rein, hochabsorbierend und weich. Die Fasern lassen sich von optischen Flächen durch Abpusten entfernen. [www.kerma.de](http://www.kerma.de)

**Gummipuste**, besonders leistungsstark: Giotto's, Typ AA 1900. [www.giottos.com](http://www.giottos.com)

**Abziehstäbchen für Optikreinigung: ITW Texwipe CleanTips® Swabs**  
Alpha-, Clean Foam- oder Absorbond-Serie. In verschiedenen Größen und Absorptionsgraden erhältlich, z.B. über die Fa. Basan als TEXWIPE TX743B.  
[www.texwipe.com](http://www.texwipe.com) [www.basan.com](http://www.basan.com)

### **Rezeptur von Carl Zeiss für Optik-Putzmischung:**

Rezept: 85 % n-Hexan, 15 % Isopropanol.

Das n-Hexan sollte analysenrein sein. Einige Fraktionen von Waschbenzin (Petrolether) sind nicht geeignet, da sie einen unlöslichen Film auf der optischen Oberfläche zurücklassen.

Bauteil	Reinigings-Stufen ( bei Bedarf schrittweise steigern )			
	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser		
Deckglas	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	reines Aceton
Objektträger	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	
Objektmeßplatte	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	
Okularmeßplatte	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	
Frontlinse Trocken-Objektiv	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	
Frontlinse Immersions-Obj.	Gummipuste	Spezial-Mikrofasertuch	Kleenex + dest. Reinwasser + Spülmittel	
Kondensor-Frontlinse	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Kleenex + dest. Reinwasser + Spülmittel	reines n-Hexan
Kondensor-Rücklinse	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Kleenex + dest. Reinwasser + Spülmittel	reimes n-Hexan
Schutzglas der Feldblende	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	reimes n-Hexan
Strahlenteiler-Prisma	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	VSGO Full-Frame Sensor Cleaning Rod Kit	
Großfeldlinse	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Kleenex + dest. Reinwasser + Spülmittel	reimes n-Hexan
Filter Ø32mm	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	
Fototubulinse	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	reimes n-Hexan
Augenlinse Okular	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	reimes n-Hexan
Innenlinse Okular	Gummipuste	Watte + dest. Reinwasser	Watte + dest. Reinwasser + Spülmittel	reimes n-Hexan
Kamerasensor	Gummipuste	VSGO Full-Frame Sensor Cleaning Rod Kit		
<p>Weiche Kosmetik-Zellstofftücher ( z.B. Kleenex ) ; destilliertes Reinwasser "Ampuwa" ( Apotheke ) ; chemisch reine Augenwatte ( Apotheke ) ; Spülmittel "Blink" ( ohne Farb- und Konservierungsstoffe, ohne Parfüm ) ; VSGO Full-Frame Sensor Cleaning Rod Kit ( Gummipuste, Wischervorderkante beidseits feucht, 1x vor, 1x retour wischen, fertig ) ; Bambus oder Holzstäbchen, feucht, zur Aufnahme der Augenwatte ; Polyesterwischer ITW Texwipe CleanTips® Swabs ( alternativ zur Watte ) ; n-Hexan analysenrein oder alternativ Zeiss-Putzmischung</p>				
<p>Spiralförmig von der Mitte zum Rand wischen. Bei größeren Glas-Ø ( z.B. Tubulinse) erst vom Rand zur Mitte, dann von der Mitte zum Rand. Meist mehrere Spiral-Wischbewegungen erforderlich. Watte nach jeder Wischbewegung ersetzen. Neue Alu-Folie als staubfreie Abstell-Unterlage. Watte in Polyethylenbeutel aufbewahren.</p>				
<p>Linienpapier ist ungeeignet zum Reinigen optischer Oberflächen. Hände waschen. Latexhandschuhe ungeeignet. Aceton greift viele Kunststoffe, Gummi, Linsenkitte und spezielle Vergütungen an. Ethanol erzeugt Rückstände auf Gläsern und greift ggf. Linsenkitte an.</p>				

## 24. Canon EOS 5D Mark II

- PC-Software zur Kamerasteuerung: EOS Utility 2

### 24.1 Foto-Aufnahme

• Moduswahlschalter: „Av“ (Verschlußzeitautomatik) am Kameragehäuse einstellen. Im Modus „Av“ kann über das Fernaufnahme-Menüfenster der EOS-PC-Software ein Belichtungs-korrekturwert und ISO-Wert eingestellt werden. Die Kontrolle der so optimierten Belichtungs-einstellung erfolgt über das Remote-Live-View-Fenster am PC-Bildschirm.



• oder alternativ „M“ (manuelle Belichtung) am Kameragehäuse einstellen.



Im Modus „M“ muß die Belichtungszeit und die ISO-Empfindlichkeit über das Fernaufnahme-Menüfenster der Software EOS Utility 2 eingestellt werden. Die Kontrolle der optimalen manuellen Belichtungseinstellung erfolgt über das **Remote-Live-View-Fenster** am PC-Bildschirm.

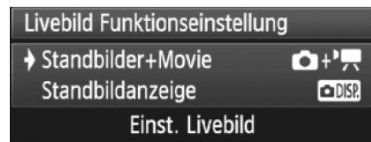
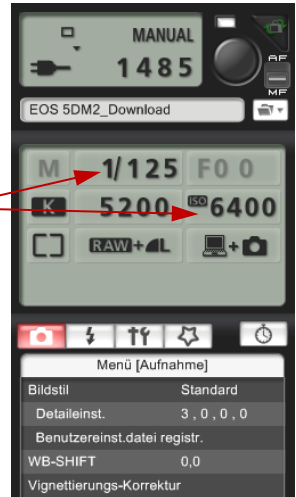
- Bildqualität RAW und / oder Large JPEG !  
Bildgröße 5616 x 3744 Pixel ; Seitenverhältnis **3 : 2**
- Bildstil: Standard.
- Vignettierungs-Korrektur: nicht benutzbar !
- Weissabgleich: ☀ Tageslicht (ca.5200K) oder **K** Farbtemperatur (Tab. 8).
- Betriebsart:  Einzelbild.
- Belichtungs-Meßmethode:  Mittenbetonte Integralmessung.
- Sensorempfindlichkeit: **ISO 100** oder bei Erfordernis größer (max. ISO 6400).

### 24.2 Movie-Aufnahme

- Videosystem: **PAL**.
- Einstellungen Livebild/Movie:

Movie-Aufnahmegröße 1920x1080 / 25 fps

→ Bildgröße 1920 x 1080 Pixel (Full HD-Format) ; Seitenverhältnis **16 : 9**



## 25. Canon EOS 5D Mark IV

- PC-Software zur Kamerasteuerung: EOS Utility 3

### 25.1 Foto-Aufnahme

• Moduswahlschalter: „Av“ (Verschlußzeitautomatik) am Kameragehäuse einstellen. Im Modus „Av“ kann über das Fernaufnahme-Menüfenster der EOS-PC-Software der ISO-Wert und ein Belichtungskorrekturwert eingestellt werden. Die Kontrolle der Belichtungseinstellung erfolgt über das Remote-Live-View-Fenster am PC-Bildschirm.



• oder alternativ Modus „M“ (manuelle Belichtung) am Kameragehäuse einstellen. Im Modus „M“ muß die Belichtungszeit und der ISO-Wert über das Fernaufnahme-Menüfenster eingestellt werden. Die Kontrolle der manuellen Belichtungseinstellung erfolgt über das **Remote-Live-View-Fenster** am PC-Bildschirm.




- Bildqualität **RAW** und / oder **Large JPEG** !  
Bildgröße 6720 x 4480 Pixel ; Seitenverhältnis **3 : 2**

- Vignettierungs-Korrektur: nicht benutzbar !

- Bildstil: Standard.

- Automatische Belichtungsoptimierung **OFF**.

- Weissabgleich: ☀ Tageslicht (ca.5200K) oder **K** Farbtemperatur

- Spiegelverriegelung deaktivieren ( OFF ) : 

- Betriebsart:  **Einzelbild**.

- Belichtungs-Meßmethode:  Mittenbetonte Integralmessung.

- Sensorempfindlichkeit: **ISO 100** oder bei Erfordernis größer (max. ISO 32000).

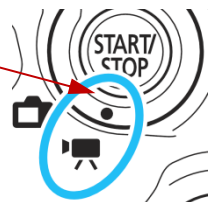
- Dual Pixel RAW: **Aktivieren**. / • Bild automatisch drehen: **Aus**

### 25.2 Movie-Aufnahme

Movie-Aufnahme aktivieren: Schalter für Movie-Aufnahme

- Videosystem: PAL

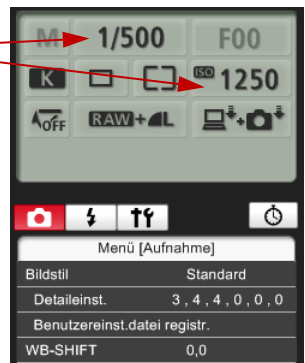
- Movie-Aufnahmequalität:



**Full HD 1920x1080 / 50P** ; Dateiformat: **.MOV** (gut für PC-Nachbearbeitung) oder **Full HD 1920x1080 / 50P** ; Dateiformat: **.MP4** (kompatibel mit vielen Systemen)

- Livebildaufnahme: Aktivieren

→ Bildgröße 1920 x 1080 Pixel (Full HD-Format) ; Seitenverhältnis **16 : 9**



## 26. Maßstabszahlen der Vergrößerung am Mikroskop

Das vorhandene Mikroskop verfügt über zwei Okulare zur visuellen Beobachtung und einen Fototubus zum Anschluß einer Digitalkamera mit Vollformatsensor.

Bei der visuellen Beobachtung durch die beiden Okulare wird das mikroskopische reelle Zwischenbild mit der Maßstabszahl „fo“ der Okulare vergrößert dargeboten.

Will man das mikroskopische reelle Zwischenbild mit einer Kamera aufnehmen, so muß das Zwischenbild mittels Strahlungssteiler und Fototubus-Linsensystem auf den Bildsensor 36x24mm der Kamera reell abgebildet werden. Der Abbildungsmaßstab „f2“ des Fototubus (=Projektiv) wurde mit  $f_2 = 1,6$  so gewählt, daß das Objektbildfeld möglichst die gesamte Empfängerfläche (Bildsensorfläche) der Kamera bedeckt.

Da Mikroskop-Objektive kleine Abweichungen von ihrer „Sollvergrößerung“ (Nominalwert) zeigen, wurden für jede Kombination von Objektiv und Vergrößerungswechsler mittels Objektmikrometer einzelne Korrekturfaktoren „f4“ ermittelt.

$f_0$  = Vergrößerungsfaktor der Okulare bei visueller Beobachtung

$f_1$  = Vergrößerungsfaktor des Objektivs ( z.B.: 3,2 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100-HI )

$f_2$  = Vergrößerungsfaktor des Fototubus ( JENAMED 2:  $f_2 = 1,6$  )

$f_3$  = Faktor des Vergrößerungswechslers ( JENAMED 2: 0,8 ; 1,0 ; 1,25 )

$f_4$  = Korrekturfaktor in Bezug auf die Abbildung von der Objektebene in die Ebene des Kamerasensors.

Vergrößerung „Mz“ in die reelle mikroskopische Zwischenbildebene:

$$\mathbf{Mz} = \text{Maßstabszahl des Objektivs} \times \text{Faktor des Vergrößerungswechslers} \\ \times \text{Korrekturfaktor} = ( \mathbf{f_1} \times \mathbf{f_3} \times \mathbf{f_4} ) ;$$

Gesamtvergrößerung „M“ auf die Ebene des Kamerasensors:

$$\mathbf{M} = \text{Zwischenbildmaßstabszahl} \times \text{Fototubusfaktor} = \mathbf{Mz} \times \mathbf{f_2} ;$$

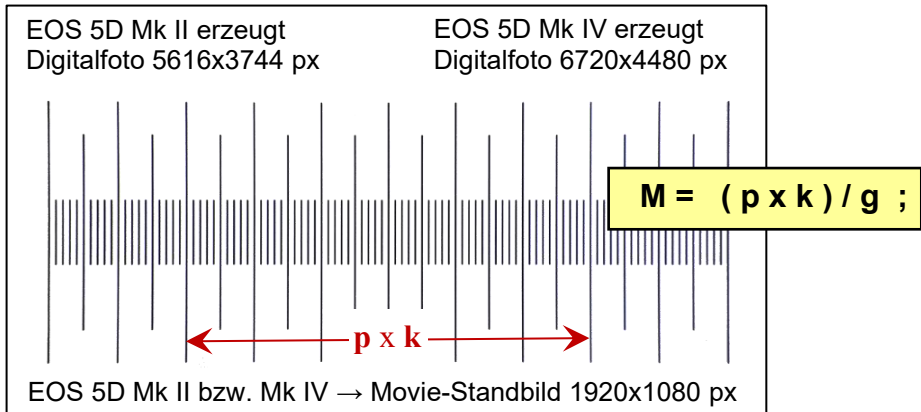
Gesamtvergrößerung „Mo“ bei visueller Objektbetrachtung durch die beiden Okulare „GFPw 10x“ mit Okularfaktor  $f_0 = 10$  (Nominalwert):

$$\mathbf{Mo} = \text{Zwischenbildmaßstabszahl} \times \text{Okularfaktor} = \mathbf{Mz} \times \mathbf{f_0} = \mathbf{Mz} \times \mathbf{10}$$

Die kleine Abweichung (1,28 %) des realen Okularfaktors (10,128) vom Nominalwert (10) wird in der vorstehenden Gleichung nicht berücksichtigt.

## 27. Ermittlung der Vergrößerung „M“ auf den Kamerasensor anhand des Digitalbilds der Objektmessplattenskala

Digitalbild der Objektmeßplatte mit 1000 µm Skalenlänge und Teilung 10 µm



M = Gesamtvergrößerung auf die Ebene des Kamerasensors

p = mit Photoshop oder GIMP oder gleichwertiger Bildbearbeitungssoftware im Digitalbild gemessene Objektgröße in der Maßeinheit Pixel [px]

g = Objektgröße ; ( p x k ) = Größe (Länge) [ µm ] der Abbildung in Sensor-Ebene

k = Seitenlänge eines quadratischen Sensor-Pixels [ µm/px ]

**EOS D5 Mk II** , Sensorgröße 36 x 24 mm , Foto-Modus , RAW / L-JPEG

Sensorauflösung 5616 x 3744 Pixel →  $k = 36000 \text{ µm} / 5616 \text{ px} = 6,41026 \text{ µm/px}$ .

**EOS D5 Mk IV** , Sensorgröße 36 x 24 mm , Foto-Modus , RAW / L-JPEG

Sensorauflösung 6720 x 4480 Pixel →  $k = 36000 \text{ µm} / 6720 \text{ px} = 5,35714 \text{ µm/px}$ .

**EOS D5 Mk II bzw. Mk IV** , Movie-Modus, Full HD, Seitenverhältnis 16 : 9

Standbildgröße 1920 x 1080 Pixel , Sensorbreite 36 mm voll ausgenutzt

effektive Sensorhöhe  $H_{\text{eff}} = (1080 \text{ px} / 1920 \text{ px}) \times 36 \text{ mm} = 20,25 \text{ mm}$

→  $k = 36000 \text{ µm} / 1920 \text{ px} = 18,750 \text{ µm/px}$ .

$n_{\text{pb}}$  := Kamerapixel-Binning-Faktor:  $n_{\text{pb}} = 1$  für Canon EOS 5D-Mk II und -Mk IV

Beispiel: EOS 5D Mk IV, Foto-Modus mit Large JPEG, Objektiv GF Planapochromat 25x mit  $f_1=25$  Nominalvergrößerung, Vergrößerungswechsler mit  $f_3=1,0$

Objektmikrometerskala in Objektebene, mittels Bildbearbeitungssoftware am Computerbildschirm gemessen:  $p = 4483,4 \text{ [px]}$  bezüglich gewählter Skalen-Teillänge  $g = 600 \text{ [µm]}$  der Objektmeßplatte (vgl. vorstehende Abb.)

→ Abbildungsgröße ( p x k ) =  $4483,4 \text{ [px]} \times 5,35714 \text{ [µm/px]} = 24018 \text{ [µm]}$

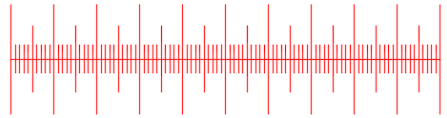
→  $M = ( p \times k ) / g = 24018 \text{ [µm]} / 600 \text{ [µm]} = 40,030 ;$

Die Berechnung mit dem Nominalwert der Objektivvergrößerung etc. ergäbe für dieses Beispiel:  $M_{\text{nom}} = f_1 \times f_2 \times f_3 = 25 \times 1,6 \times 1,0 = 40,0$

$M / M_{\text{nom}} = 40,030 / 40,0 = 1,0008$  → In diesem Fall wäre keine Korrektur der Vergrößerungsmaßstabszahl erforderlich, weil der Unterschied von 0,8 ‰ in den Bereich der Ablesungs- Ungenauigkeit fällt.

## 28. Ermittlung der visuellen Gesamtvergrößerung $M_o$ anhand von Objektmessplatte und Okularmessplatte

Die **Objektmessplatte** liegt in der Objektebene / Präparatebene  
 Objektmessplatte 1 mm  
 mit Teilstrichen 10  $\mu\text{m}$  (Abb, rechts)

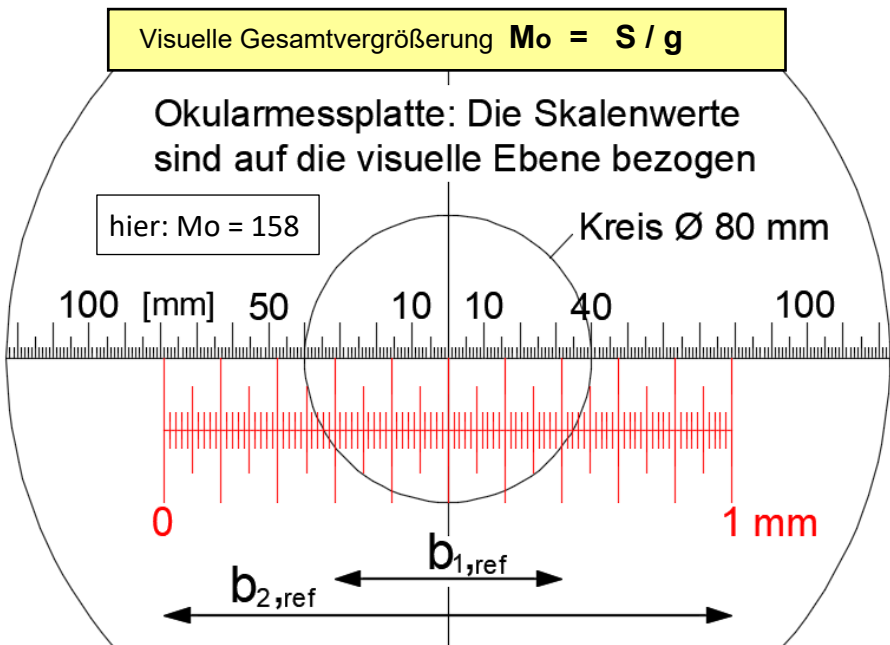


Die **Okularmessplatte**  $\varnothing_a = 26,35\text{mm}$  befindet sich im rechten Steck-Okular.  
 Der optische Durchmesser  $\varnothing = 2 \times 12,3 = 24,6\text{ mm}$  und die Skala der Okularmessplatte liegen in der reellen mikroskopischen Zwischenbildebene, die Skalenwerte  $S$  der Okularmessplatte beziehen sich jedoch auf die visuelle Bildebene. Deshalb gilt:  
 Außenkreis = visueller  $\varnothing = f_o \times 24,6\text{ mm} = 10 \times 24,6\text{ mm} = 246\text{ mm}$ .  
 Innenkreis  $\varnothing (2 \times 40\text{ mm}) = 80\text{ mm}$  im mittleren Drittel des Sehfeldkreises.

$f_o$  = nominaler Vergrößerungsfaktor der Okulare bei visueller Beobachtung

$S$  = Skalenwert der gewählten Koinzidenzstrecke  $b_{\text{ref}}$  auf der Okularmessplatte

$g$  = Skalenwert der gewählten Koinzidenzstrecke  $b_{\text{ref}}$  auf der Objektmessplatte



Die Okularmessplattenskala ist auf den Okular-Vergrößerungsfaktor  $f_o$  abgestimmt.

Beispiel : Koinzidenzstrecke  $b_{1,\text{ref}}$  :

Skalenwert zu  $b_{1,\text{ref}}$  auf der Okularmessplatte:  $S_1 = 2 \times 31,5\text{mm} = 63\text{mm}$

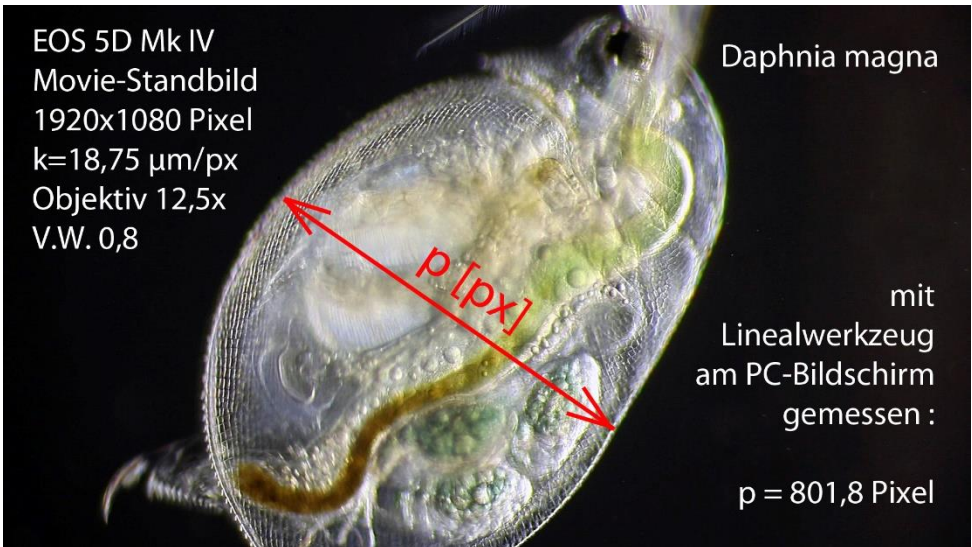
Skalenwert zu  $b_{1,\text{ref}}$  auf der Objektmessplatte:  $g_1 = 0,4\text{mm}$

→  $M_o = S_1 / g_1 = 63\text{mm} / 0,4\text{mm} = 158$

Koinzidenzstrecke  $b_{2,\text{ref}}$  :  $S_2 = 2 \times 79\text{mm} = 158\text{mm}$  ;  $g_2 = 1,0\text{mm}$

→  $M_o = S_2 / g_2 = 158\text{mm} / 1,0\text{mm} = 158$

## 29. Fotografische Objektmessung mittels Messung im Digitalbild



$$\text{Objektgröße } g [\mu\text{m}] = (p \times k) / (f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4)$$

$$\text{Objektgröße } g [\mu\text{m}] = (p \times k) / M$$

$$\text{Objektgröße } g [\mu\text{m}] = p \times m$$

$$\text{Hilfswert } m [\mu\text{m}/\text{px}] = \{ k / (f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4) \} = k / M$$

$p =$  mit Bildbearbeitungssoftware im Digitalbild gemessene Objektgröße in Pixel [px]

$k =$  Seitenlänge eines quadratischen Sensor-Pixels [  $\mu\text{m}/\text{px}$  ]

$f_1 =$  Vergrößerungsfaktor des Objektivs ( z.B.: 3,2 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100-HI )

$f_2 =$  Vergrößerungsfaktor des Fototubus ( JENAMED 2:  $f_2 = 1,6$  )

$f_3 =$  Faktor des Vergrößerungswechslers ( JENAMED 2: 0,8 ; 1,0 ; 1,25 )

$f_4 =$  Korrekturfaktor zur Abbildung Objektebene  $\rightarrow$  Ebene des Kamerasensors.

Die Hilfswerte  $m$  [  $\mu\text{m}/\text{px}$  ] zur Objektgrößenbestimmung können den Tabellen Tab. 5 bis Tab.12 entnommen werden.

Die Gesamtvergrößerungszahlen  $M$  [ - ] auf die Ebene des Kamerasensors können den Tabellen 4a und 4b oder den Tabellen 5 bis 12 entnommen werden.

Beispiel : Die Objektgröße „Körperbreite der Daphnie“ (Abb.S.33) errechnet sich wie folgt :  $g = p \times m = 801,8 \text{ Pixel} \times 1,18412 \mu\text{m}/\text{Pixel} = 949 \mu\text{m}$

alternativ : Objektgröße  $g [\mu\text{m}] = (p \times k) / M$

$g = (p \times k) / M = (801,8 \text{ Pixel} \times 18,75 \mu\text{m}/\text{Pixel}) / 15,83 = 949 \mu\text{m}$ .

### 30. Visuelle Objektmessung mit Okularmeßplatte und Faktor $M_z$

$$\text{Objektgröße } g \text{ [mm]} = S / f_o / M_z$$

**S** = Streckenlänge [mm] zur Objektgröße auf der Skala der Okularmessplatte

**f<sub>o</sub>** = nominaler Vergrößerungsfaktor der Okulare bei visueller Beobachtung

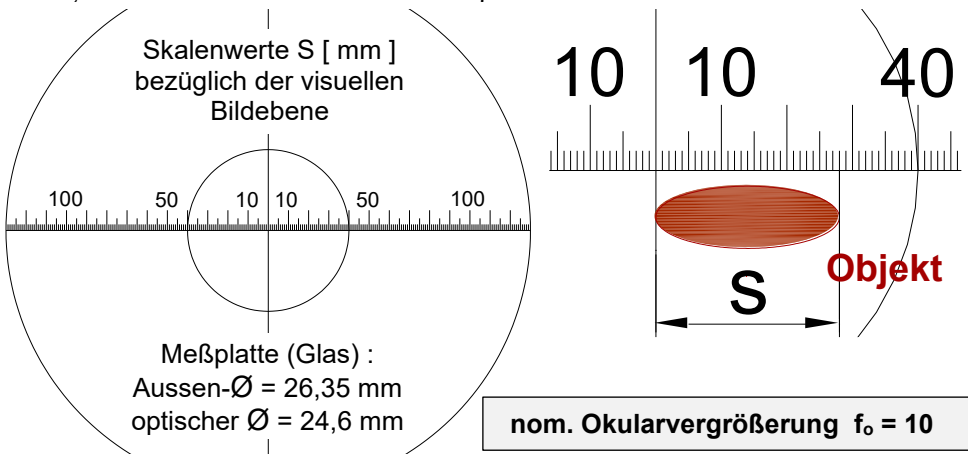
**f<sub>3</sub>** = Faktor des Vergrößerungswechslers ( JENAMED 2: 0,8 ; 1,0 ; 1,25 )

**M<sub>z</sub>** = Vergrößerungsfaktor in die reelle mikroskopische Zwischenbildebene

Die Werte **M<sub>z</sub>** beziehen sich auf die reelle Zwischenbildebene in der Okularbrennebene und sind deshalb unabhängig von Kamera-Typ und Aufnahmemodus.

GF:= Großfeld

Die Skala der Okularmessplatte liegt in der reellen mikroskopischen Zwischenbildebene, die Skalenwerte S beziehen sich jedoch auf die visuelle Bildebene !



Die Okularmeßplattenskala ist auf den Okular-Vergrößerungsfaktor  $f_o$  abgestimmt.

Beispiel : GF Planapochromat 25x / 0,65 oo / 0,17 -A mit  $f_3 = 1,0$

→  $M_z = 25,019$  aus Tabelle 4a ; Ablesung **S** = 28mm (vgl. Abb.)

→ Objektgröße  $g$  [mm] =  $S / f_o / M_z = 28\text{mm} / 10 / 25,019 = 0,112\text{mm} = 112 \mu\text{m}$

## 31. Okular-Sehfeldzahl und Objektfeld-Durchmesser

Die Sehfeldzahl eines Okulars beschreibt dem Durchmesser des überschaubaren Gesichtsfeldes in der Lichtmikroskopie.

Die Sehfeldzahl **SFZ** gibt für Okulare den Durchmesser des visuellen Objektfeldes multipliziert mit der Vergrößerung der im Strahlengang vorgeschalteten Optik.

$$\text{SFZ} := \text{Sehfeldzahl [mm]} = \varnothing \text{ Objektfeld} \times \text{Mz}$$

In der histologischen Diagnostik ist die Sehfeldzahl von Bedeutung.

Pw-Okulare Carl Zeiss Jena: GF-Pw 10x mit Sehfeldzahl SFZ=25 in Großfeldtuben (anstatt kleineren Standardtuben) kombiniert mit Großfeld-Planobjektiven.

Feldblende mit Zwischenbildfeld-Nenndurchmesser 25mm und Okularstrichplatte liegen in der mikroskopischen reellen Zwischenbildebene, die mit der Okularbrennebene der 10x-Okulare identisch ist.

Das mikroskopische reelle Zwischenbild ist durch die Verwendung von Großfeld-Planobjektiven für einen Durchmesser von 20 bis 32mm korrigiert und geebnet (Bildfeldwölbung behoben), sodaß ein großes Objektfeld scharf gesehen bzw. fotografiert werden kann.

Großfeldabbildung mit einem scheinbaren nominalen Gesichtsfeld-Durchmesser von bis zu 250mm bei visueller Beobachtung mit Bezugssehweite 250mm.

Effektiver Gesichtsfeld-Durchmesser := Sehfeld  $\varnothing = 2 \times 123\text{mm} = 246\text{mm}$  gemäß der sichtbaren Ablesegrenzen der Okularstrichplatte bei Okulareinblick →

$$\rightarrow \text{effektive SFZ} = \text{SFZ eff} = 24,6 \text{ mm}$$

$\varnothing_g$  := Durchmesser des Objektfeldes (in Präparatebene)

$$\rightarrow \varnothing \text{ Objektfeld [mm]} = \varnothing_g = \text{SFZ eff} / \text{Mz}$$

$$\rightarrow \text{Objektfeldfläche } \mathbf{A}_g \text{ [mm}^2\text{]} = \varnothing_g \times \varnothing_g \times \pi / 4$$

Die Objektfeldfläche **A<sub>g</sub>** kann zur Bestimmung einer flächenbezogenen Objektdichte (Anzahl von gleichen Objekten in der Objektfeldfläche) verwendet werden.

Beispiele :

Okulare mit **SFZ<sub>eff</sub>** = 24,6 mm in Kombination mit GF Planapochromat 25x und Vergrößerungswechsler **f<sub>3</sub>** = 1,0 → Mz = 25,019 aus Tab.4a

→  $\varnothing$  Objektfeld = SFZ / Mz = 24,6mm / 25,019 = 0,983mm = 983µm

→ Objektfeldfläche **A<sub>g</sub>** =  $\varnothing_g \times \varnothing_g \times \pi / 4 = 0,7593\text{mm}^2$  , rund 0,76 mm<sup>2</sup>

Okulare mit **SFZ<sub>eff</sub>** = 24,6 mm in Kombination mit GF Planachromat Phv 40x und Vergrößerungswechsler **f<sub>3</sub>** = 1,25 → Mz = 49,834 aus Tab.4b

→  $\varnothing$  Objektfeld = SFZ / Mz = 24,6mm / 49,834 = 0,4936mm = 494µm

→ Objektfeldfläche **A<sub>g</sub>** =  $\varnothing_g \times \varnothing_g \times \pi / 4 = 0,1914\text{mm}^2$  , rund 0,19 mm<sup>2</sup>

## 32. Tabellen mit Abbildungskenngrößen des Mikroskops

→ Tabellen 4a und 4b → →

**Tabelle 4a: Abbildungskenngrößen des Mikroskops mit Großfeld-Planachromaten**

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times M_Z$		Aufnahmen Foto / Movie über den Fototubus						Visuelle Abbildung über die Okulare						
Okular Brennweite {mm}	Okular SFZ {mm}	Objektiv num. Apert. N.A. <sub>obj</sub> [-]	Objektiv-Brennweite [mm]	Objektivvergrößerung f1 [-]	Fototubus-Faktor f2 [-]	Vergrößerungswechsler V.W. f3 [-]	Mikrosk. Zwischenbildebene Vergrößer. Mz [-]	Vergrößer. auf Kamera-Sensor M [-]	Objektfield (Rechteck)		Grenz-wert Auflösung d <sub>o</sub> [µm]	Visuelle Gesamt-Vergrößer. (Okular) Mo [-]	Objekt-field-ϕ effektiv [µm]	Objekt-field-fläche A <sub>g</sub> [mm <sup>2</sup> ]
									Foto / Movie Länge L [µm]	Foto / Movie Breite B1 [µm]				
25	25	24,6												
GF Planachromat <b>3,2x / 0,06 oo / -A</b>		0,06	78	3,2	1,6	<b>0,8</b>	2,530	4,048	8894	5929	5003	26	9724	74,26
			78	3,2	1,6	<b>1,0</b>	3,187	5,099	7060	4707	3971	32	7719	46,80
			78	3,2	1,6	<b>1,25</b>	3,981	6,370	5652	3768	3179	40	6179	29,99
GF Planachromat <b>12,5x / 0,25 oo / -A</b>		0,25	20	12,5	1,6	<b>0,8</b>	9,897	15,835	2274	1516	1279	100	2486	4,85
			20	12,5	1,6	<b>1,0</b>	12,475	19,961	1804	1202	1014	126	1972	3,05
			20	12,5	1,6	<b>1,25</b>	15,560	24,896	1446	964	813	158	1581	1,96
GF Planachromat <b>25x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>		0,65	10	25	1,6	<b>0,8</b>	19,871	31,793	1132	755	637	201	1238	1,20
			10	25	1,6	<b>1,0</b>	25,019	40,030	899	600	506	253	983	0,76
			10	25	1,6	<b>1,25</b>	31,278	50,045	719	480	405	317	786	0,49
Planachromat FL <b>50x / 0,95 oo / 0,17 - A</b>		0,95	5	50	1,6	<b>0,8</b>	38,948	62,317	578	385	325	394	632	0,31
			5	50	1,6	<b>1,0</b>	49,476	79,162	455	303	256	501	497	0,19
			5	50	1,6	<b>1,25</b>	61,659	98,654	365	243	205	624	399	0,13
GF Planachromat HI <b>100x / 1,25 oo / 0,17 - A</b>		1,25	2,5	100	1,6	•	123,859	198,174	182	121	102	1254	199	0,03

Objektiv HI 100x → Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv !

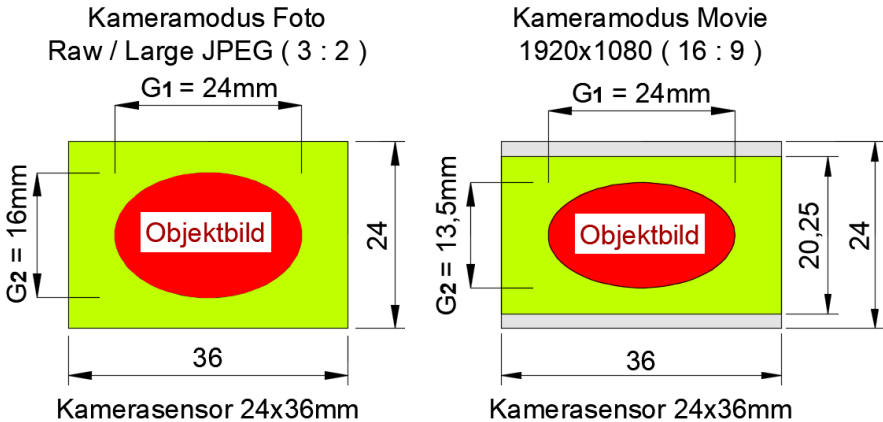
Lichtw.-länge (gelbgrün) λ = 550 nm	Num. Apert. Kondensor N.A. <sub>kond</sub> = 0,9	Nutzungsgrad Bildfläche <b>100%</b>	Okular-Vergrößerung fo,r = 10	L, B1, B2 := Abmessungen des rechteckigen Objektfeldes in der Objektebene fo,r = 10,128
--	---	--	----------------------------------	--

**Tabelle 4b: Abbildungskenngrößen des Mikroskops mit Großfeld-Planobjektiven für Phasenkontrast**

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times M_z$		Aufnahmen Foto / Movie über den Fototubus						Visuelle Abbildung über die Okulare						
Okular Brennweite {mm}	Okular SFZ nominal {mm}	Objektiv num. Apert. $N_{A,obj}$ [-]	Objektiv-Brennweite [mm]	Objektivvergrößerung $f_1$ [-]	Fototubusfaktor $f_2$ [-]	Vergrößerungswechsler V.W. $f_3$ [-]	Mikrosk. Zwischenbildebene vergröß. $M_z$ [-]	Vergröß. auf Kamera-Sensor $M$ [-]	Objektfeld (Rechteck)		Grenzwert Auflösung $d_o$ [ $\mu$ m]	Visuelle Gesamt-Vergröß. (Okular) $M_o$ [-]	Objekt-feld- $\varnothing$ effektiv [ $\mu$ m]	Objekt-feld-fläche $A_g$ [ $mm^2$ ]
									Foto / Movie Länge $L$ [ $\mu$ m]	Breite $B_1$ [ $\mu$ m]				
25	25	24,6												
Planachromat Phv 10x / 0,20 oo / -A		0,2	25	10	1,6	<b>0,8</b>	7,882	12,611	2855	1903	1606	80	3121	7,65
			25	10	1,6	<b>1,0</b>	9,929	15,886	2266	1511	1275	101	2478	4,82
			25	10	1,6	<b>1,25</b>	12,404	19,846	1814	1209	1020	126	1983	3,09
Planachromat Phv 20x / 0,40 oo / 0,17 -A		0,4	12,5	20	1,6	<b>0,8</b>	15,859	25,375	1419	946	798	161	1551	1,89
			12,5	20	1,6	<b>1,0</b>	19,927	31,883	1129	753	635	202	1235	1,20
			12,5	20	1,6	<b>1,25</b>	24,868	39,789	905	603	509	252	989	0,77
GF Planachromat Phv 40x / 0,65 oo / 0,17 -A		0,65	6,3	39,7	1,6	<b>0,8</b>	31,677	50,683	710	474	400	321	777	0,47
			6,3	39,7	1,6	<b>1,0</b>	39,914	63,862	564	376	317	404	616	0,30
			6,3	39,7	1,6	<b>1,25</b>	49,834	79,735	451	301	254	505	494	0,19
Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv Phv HI 100x zwingend erforderlich.														
1,3	2,5	100	1,6	•	123,327	197,324	182	122	103	1249	199	0,03		
Lichtw.-länge (gelbgrün) $\lambda = 550$ nm		Num. Apert. Kondensor $N_{A,kond} = 0,9$		Nutzungsgrad Bildfläche <b>100%</b>		Okular-Vergrößerung $f_o, n = 10$		fo, r = 10, 128		L, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> := Abmessungen des rechteckigen Objektfeldes in der Objektebene				

### 33. Mikroskop-Einstellung in Abhängigkeit von der Objektgröße

Intention: Festlegung von oberen Grenzwerten für die Objekt-Abmessungen **g1** und **g2** bzw. für einen Objektdurchmesser **g2** mit dem Ziel, nur circa 2/3 der wirksamen Bildsensor-Abmessungen (gelbgrün) zu nutzen.



<b><math>G_1 = M \times g_1</math></b>	<b><math>G_2 = M \times g_2</math></b>	→	<b><math>g_1 = G_1 / M</math></b>	<b><math>g_2 = G_2 / M</math></b>
--	--	---	-----------------------------------	-----------------------------------

**g1** := Objektlänge in der Objektebene (Präparatebene)

**g2** := Objektbreite bzw. Objekt-Ø in der Objektebene

**M** := Gesamtvergrößerung von der Objektebene in die Sensor-Ebene

**G1** , **G2** := maximale Objektbildabmessungen in der Sensor-Ebene

Die Maßstabszahlen **M** [ - ] auf die Ebene des Kamerasensors können den Tabellen 4a und 4b oder den Tabellen 5 bis 12 entnommen werden.

Die Gesamtvergrößerung **M** auf den Kamerasensor wird ausschließlich bestimmt durch: - Fototubus (konstante Größe) - Objektivwahl - Einstellung des Vergrößerungswechslers **V.W.** ( 0,8 – 1,0 – 1,25 – o ).

# 34. Tabellen Großfeld-Planachromate + Canon EOS 5D-Mk II

<b>Tabelle 5 : Standard-Durchlicht: Fotos ( 3 : 2 , RAW und Large JPEG ) mit JENAMED 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark II , Abbilddaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm] : EOS 5D Mark II „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“ (manuell)</b>														
Objektiv-Gewinde	f1 := Objektivvergrößerung; f2 := Fototubus-Faktor; V.W. := Faktor des Vergrößerungswechslers; Korr. := Korrekturfaktor; GFL := Großfeldlinse (vergrößerungsneutral); M := Maßstab der Gesamtvergrößerung auf den Bildsensor der Kamera; Mz:= Maßstab der Vergrößerung in die mikroskopische Zwischenbildebene; <b>Objektgröße g [µm] = p x m</b> ; <b>p</b> [px] := gemessene Objektlänge in der Maßeinheit Pixel	Obj.- Brennweite [ mm ]	Arb.- Abst. [mm]	N.A.	f1 [-]	f2 [-]	V.W. f3 [-]	Korr. f4 [-]	Foto: Faktor m [µm/px]	Sensor Vergröß. M [-]	Zwischenbildebene mit Okularstrichplatte	maximale Objektgröße bei 2/3 Objektfeld-Nutzung		Kondensor N.A. = 0,9 λ=550 nm ideale Punktobjekte! →
												Länge g1 [µm]	Breite g2 [µm]	
Objektiv-Gewinde M25x0,75, Abgüchlänge 45mm; GF:= Großfeld; CF := chromatical aberration free; Sehfeld ø 246 mm mit Okular														
<b>Durchlicht- Hochleistungsobjektive 250/CF M25x0,75</b>														
GF Planachromat <b>3,2x / 0,06 oo / -A</b> (Grün, Gelb korrigiert)	78	4,7	0,06	3,2	1,6	<b>0,8</b>	0,9882	1,5827	4,048	2,530	5929	3953		<b>Mikroskop JENAMED 2 Canon EOS 5D Mk II : Modus „Av“ oder „M“</b>
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	<b>1,0</b>	0,9959	1,2561	5,099	3,187	4707	3138	5,59	<b>GFL ein / Filterpaar matt / Aperturblende offen / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisat; bei V.W. = 0,8 verringerter Sehfeld-ø=215 mm</b>
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	<b>1,25</b>	0,9953	1,0048	6,370	3,981	3768	2512		
	20	8	0,25	12,5	1,6	<b>0,8</b>	0,9897	0,4044	15,835	9,897	1516	1010		<b>GFL ein / Filterpaar matt / Aperturblende offen / Hellfeld / Dunkelfeld mit Scheibchen ø 8mm / schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK</b>
	20	8	0,25	12,5	1,6	<b>1,0</b>	0,9980	0,3208	19,961	12,475	1202	802	1,34	
	20	8	0,25	12,5	1,6	<b>1,25</b>	0,9958	0,2571	24,896	15,560	964	643		
	10	0,3	0,65	25	1,6	<b>0,8</b>	0,9935	0,2015	31,793	19,871	755	503		mit Deckglas 170±30 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / Dunkelfeld mit Scheibchen ø 18mm / schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK
	10	0,3	0,65	25	1,6	<b>1,0</b>	1,0008	0,1601	40,030	25,019	600	400	0,52	
	10	0,3	0,65	25	1,6	<b>1,25</b>	1,0009	0,1280	50,045	31,278	480	320		
	5	0,1	0,95	50	1,6	<b>0,8</b>	0,9737	0,1025	62,317	38,948	385	257		mit Deckglas 170±10 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK
	5	0,1	0,95	50	1,6	<b>1,0</b>	0,9895	0,0813	79,162	49,476	303	202	0,36	
	5	0,1	0,95	50	1,6	<b>1,25</b>	0,9865	0,0652	98,654	61,659	243	162		
	2,5	0,08	1,25	100	1,6	•	0,0322	198,174	123,859	121	81	0,31		Öl / mit Deckglas 170 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK
Die Wechslerstellung „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Die Deckglasöckertoleranz ist hier nicht relevant.														
Einstellung Filterrevolver:	1 = ohne Filter			2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast			3 = Filterpaar matt für GF-PA 3,2x und 12,5x			4 = Roffilter				

Tabelle 6 : **Standard-Durchlicht: Filmaufnahmen 1920x1080 ( 16 : 9 ) mit Jenamed 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark II , Abbilddungsdaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm] : EOS 5D Mark II „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“ (manuell)**



PAL- Movie Aufnahmeformat: 1920x1080 / 25 fps Dateiformat: .mov	f1 := Objektvergrößerung ; f2 := Fototubus-Faktor ; V.W. := Faktor des Vergrößerungswechslers ; Korr. := Korrekturfaktor ; GFL := Großfeldlinse (vergrößerungsneutral) ; M := Maßstab der Gesamtvergrößerung auf den Bildsensor der Kamera ; Mz:= Maßstab der Vergrößerung in die mikroskopische reelle Zwischenbildebene ; Objektgröße g [µm] = p x m ; p [px] := gemessene Objektlänge in der Maßeinheit Pixel										Kondensor N.A. = 0,9 λ=550 nm ideale Punkt-Objekte !	
	Obj.- Brennweite [mm]	Arb.- Abst. [mm]	N.A.	f1 [-]	f2 [-]	V.W. f3 [-]	Korr. f4 [-]	Movie-Faktor m [µm/px]	Movie-Pixelanzahl p [10µm]	Sensor, Vergröß. M [-]		Zw.-Bild, Vergröß. Mz [-]
Durchlicht-Hochleistungsobjektive 250/CF M25x0,75	78	4,7	0,06	3,2	1,6	0,8	0,9882	4,6322	2,1588	4,048	2,530	3335
GF Planachromat 32x / 0,06 oo / -A (Grün, Gelb korrigiert)	78	4,7	0,06	3,2	1,6	1,0	0,9959	3,6772	2,7195	5,099	3,187	2648
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	1,25	0,9953	2,9436	3,3972	6,370	3,981	2119
GF Planachromat 125x / 0,25 oo / -A (Grün, Gelb korrigiert)	20	8	0,25	12,5	1,6	0,8	0,9897	1,1841	8,4451	15,835	9,897	853
	20	8	0,25	12,5	1,6	1,0	0,9980	0,9394	10,6457	19,961	12,475	676
	20	8	0,25	12,5	1,6	1,25	0,9958	0,7531	13,2780	24,896	15,560	542
GF Planapochromat 25x / 0,65 oo / 0,17 -A (Blau, Grün, Gelb, Rot korrigiert)	10	0,3	0,65	25	1,6	0,8	0,9935	0,5898	16,9563	31,793	19,871	755
	10	0,3	0,65	25	1,6	1,0	1,0008	0,4684	21,3494	40,030	25,019	600
	10	0,3	0,65	25	1,6	1,25	1,0009	0,3747	26,6909	50,045	31,278	480
Planachromat FL 50x / 0,95 oo / 0,17 -A (f1 := DG. Korrektur/Fluoreszenz)	5	0,1	0,95	50	1,6	0,8	0,9737	0,3009	33,2360	62,317	38,948	385
	5	0,1	0,95	50	1,6	1,0	0,9895	0,2369	42,2196	79,162	49,476	303
	5	0,1	0,95	50	1,6	1,25	0,9865	0,1901	52,6154	98,654	61,659	243
GF Planachromat HI 100x / 1,25 oo / 0,17 -A (Grün, Gelb korrigiert) mit Immersionsöl	2,5	0,08	1,25	100	1,6	•	0,0946	105,6928	198,174	123,859	121	68
Die Wechslerstellung, „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Die Deckglasdicke toleranz ist hier nicht relevant.												
Einstellung Filterrevolver:	1 = ohne Filter		2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast		3 = Filterpaar matt für GF-PA 3,2x und 12,5x		4 = Rotfilter					



**Tabelle 8 : Phasenkontrast: Filmaufnahmen 1920x1080 (16:9) mit Jenamed 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark II, Abbildungsdaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm]: EOS 5D Mark II „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“**



PAL- Movie Aufnahmeformat: 1920x1080 / 25 fps Dateiformat: .mov	f1 = Objektivvergrößerung; f2 := Fototubus-Faktor; V.W. := Faktor des Vergrößerungswechslers; Korr. := Korrekturfaktor; GFL := Großfeldlinse (vergrößerungsneutral); M := Maßstab der Gesamtvergrößerung auf den Bildsensor der Kamera; Mz:= Maßstab der Vergrößerung in die mikroskopische reelle Zwischenbildebene Objektgröße g [µm] = p x m ; p [px] := gemessene Objektlänge in der Maßeinheit Pixel										Zwischen- bildebene mit Okular- strich- platte	maximale Objektgröße bei 2/3 Objektfeld- Nutzung	Kondensor N.A. = 0,9 λ = 550 nm ideale Punkt- objekte !	Achromate für Grün + Gelb korrigiert; Grün-filter V 2319 einstellen ; mit Bertrandlinse Phasenringe abgleichen und Apertur regeln		
	Obj.- Brenn- weite [ mm ]	Arb.- Abst. [ mm ]	N.A.	f1 [-]	f2 [-]	V.W. f3 [-]	Korr. f4 [-]	GFL	Movie: Faktor m [µm/px]	Movie: Pixel- anzahl p /10µm [px]					Sensor, Vergröß. M [-]	Zw.-Bild, Vergröß. Mz [-]
Phasenkontrast- Objektive Hochleistungsobjektivsatz CZ112 / 250 / CF M25x0,75	25	14,1	0,20	10	1,6	<b>0,8</b>	0,9852		1,4868	6,726	12,611	7,882	1903	1071		mit / ohne Deckglas
	25	14,1	0,20	10	1,6	<b>1,0</b>	0,9929	<b>ein</b>	1,1803	8,472	15,886	9,929	1511	850	1,68	
	25	14,1	0,20	10	1,6	<b>1,25</b>	0,9923		0,9448	10,585	19,846	12,404	1209	680		Zentraler Lichtfleck
Planachromat Phv 20x / 0,40 oo / 0,17 -A	12,5	2,7	0,40	20	1,6	<b>0,8</b>	0,9912		0,7389	13,533	25,375	15,859	946	532		mit Deckglas 170±30 µm
	12,5	2,7	0,40	20	1,6	<b>1,0</b>	0,9963	<b>aus</b>	0,5881	17,004	31,883	19,927	753	423	0,84	
	12,5	2,7	0,40	20	1,6	<b>1,25</b>	0,9947		0,4712	21,221	39,789	24,868	603	339		Zentraler Lichtfleck
GF Planachromat Phv 40x / 0,65 oo / 0,17 -A	6,3	0,53	0,65	40	1,6	<b>0,8</b>	0,9899		0,3699	27,031	50,683	31,677	474	266		Ecken verschattet
	6,3	0,53	0,65	40	1,6	<b>1,0</b>	0,9979	<b>aus</b>	0,2936	34,060	63,862	39,914	376	211	0,52	mit Deckglas 170±30 µm
	6,3	0,53	0,65	40	1,6	<b>1,25</b>	0,9967		0,2352	42,525	79,735	49,834	301	169		
Planachromat Phv HI 100x / 1,30 oo / 0,17 -A mit Immersionsöl Deckglasdickentoleranz deshalb hier nicht relevant.	Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Die Deckglasdickentoleranz ist hier nicht relevant.															
	2,5	0,14	1,3	100	1,6	•		<b>aus</b>	0,0950	105,239	197,324	123,327	122	68	0,31	mit Deckglas 170 µm
Einstellung Filterrevolver:	1 = ohne Filter		2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast				3 = Filterpaar matt für GF-PA 3.2x und 12.5x				4 = Rotfilter					

# 36. Tabellen Großfeld-Planachromate + Canon EOS 5D-Mk IV

Tabelle 9 : Standard-Durchlicht: Fotos ( 3 : 2 ) , RAW und Large JPEG ) mit Jenamed 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark IV , Abbildungsdaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm] : EOS 5D Mark IV „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“														
Objektiv-Gewinde M25x0,75 , Abgleichlänge 45mm ; Großfeld ; CF := chromatical aberration free , Sehfeld Ø 246 mm mit Okular	Obj.- Brennweite [mm]	Arb.- Abst. [mm]	N.A.	f1 [-]	f2 [-]	f3 [-]	V.W. [-]	Korr. f4 [-]	Foto-Faktor m [µm/px]	Sensor, Vergröß. M [-]	Zwischen-bildebene mit Okularstrichplatte	maximale Objektgröße bei 2/3 Objektfeld-Nutzung	Kondensor N.A. = 0,9 λ=550 nm ideale Punktobjekte !	
														Breite g2 [µm]
Durchlicht-Hochleistungsobjektive 250/CF M25x0,75	78	4,7	0,06	3,2	1,6	<b>0,8</b>	0,9882	1,3243	4,048	4,048	2,530	3953	<b>Mikroskop JENAMED 2</b> <b>Canon EOS 5D Mk IV :</b> <b>Modus „Av“ oder „M“</b>	
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	<b>1,0</b>	0,9959	1,0515	5,099	5,099	3,187	3138		
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	<b>1,25</b>	0,9953	0,8423	6,370	6,370	3,981	2512		
GF Planachromat 12,5x / 0,25 oo / -A (Grün, Gelb korrigiert)	20	8	0,25	12,5	1,6	<b>0,8</b>	0,9897	0,3386	15,835	15,835	9,897	1010	<b>GFL ein</b> / Filterpaar matt / Aperturblende offen / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK bei V.W. = 0,8 verringerter Sehfeld-Ø=215 mm	
	20	8	0,25	12,5	1,6	<b>1,0</b>	0,9980	0,2686	19,961	19,961	12,475	1202		
	20	8	0,25	12,5	1,6	<b>1,25</b>	0,9958	0,2155	24,896	24,896	15,560	964		
GF Planapochromat 25x / 0,65 oo / 0,17 -A (Blau, Grün, Gelb, Rot korrigiert)	10	0,3	0,65	25	1,6	<b>0,8</b>	0,9935	0,1686	31,793	31,793	19,871	755	<b>GFL ein</b> / Filterpaar matt / Aperturblende offen / Hellfeld / Dunkelfeld mit Scheibchen Ø 8mm / schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK mit Deckglas 170±30 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / Dunkelfeld mit Scheibchen Ø 18mm / schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK	
	10	0,3	0,65	25	1,6	<b>1,0</b>	1,0008	0,1339	40,030	40,030	25,019	600		
	10	0,3	0,65	25	1,6	<b>1,25</b>	1,0009	0,1071	50,045	50,045	31,278	480		
Planachromat FL 50x / 0,95 oo / 0,17 -A (FL := DG. Korrektur/ Fluoreszenz)	5	0,1	0,95	50	1,6	<b>0,8</b>	0,9737	0,0862	62,317	62,317	38,948	385	mit Deckglas 170±10 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK	
	5	0,1	0,95	50	1,6	<b>1,0</b>	0,9895	0,0674	79,162	79,162	49,476	303		
	5	0,1	0,95	50	1,6	<b>1,25</b>	0,9865	0,0541	98,654	98,654	61,659	243		
GF Planachromat HI 100x / 1,25 oo / 0,17 -A (Grün, Gelb korrigiert) mit Immersionsöl	2,5	0,08	1,25	100	1,6	•	0,0271	198,174	198,174	123,859	121	81	Öl / mit Deckglas 170 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisat / Fluoreszenz / DIK	
	Die Wechslerstellung „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Deckglasdicke toleranz hier nicht relevant.													
Einstellung Filterrevolver:	1 = ohne Filter	2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast	3 = Filterpaar matt für GF-PA 3,2x und 12,5x	4 = Rotfilter										

**Tabelle 10 : Standard-Durchlicht: Filmaufnahmen 1920x1080 (16 : 9) mit Jenamed 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark IV, Abbilgungsdaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm] : EOS 5D Mark IV „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“ (manuell)**



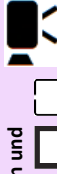
PAL- Movie, Full HD Aufnahmeformate: 1920x1080 / 50p / MOV oder 1920x1080 / 50p / MP4	Obj.- Brennweite [mm]	Arb.- Abst. [mm]	N.A.	f1 [-]	f2 [-]	V.W. f3 [-]	Korr. f4 [-]	Movie: Faktor m [µm/px]	Movie: Pixelanzahl p/10µm [px]	Sensor, Vergröß. M [-]	Zwischen- bildenebene mit Okular- strich- platte	maximale Objektgröße bei 2/3 Objektfeld- Nutzung	Achromate sind für Grün und Gelb korrigiert ; für Schwarzweißaufnahmen Gelbgrünfilter verwenden ! Apochromate sind für Blau, Grün, Gelb, Rot korrigiert → für Farbaufnahmen ideal !
Durchlicht- Hochleistungsobjektive 250/CF M25x0,75	78	4,7	0,06	3,2	1,6	0,8	0,9882	4,6322	2,159	4,048	2,530	3335	<p><b>Mikroskop JENAMED 2</b> <b>Canon EOS 5D Mk IV</b> <b>EFD 50.00P IPB</b></p>
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	1,0	0,9959	3,6772	2,719	5,099	3,187	2648	
	78	4,7	0,06	3,2	1,6	1,25	0,9953	2,9436	3,397	6,370	3,981	2119	
GF Planachromat 3,2x / 0,06 oo / -A (Grün, Gelb korrigiert)	20	8	0,25	12,5	1,6	0,8	0,9897	1,1841	8,445	15,835	9,897	1516	<p><b>GFL ein</b> / Filterpaar matt / Aperturblende offen / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisation / Fluoreszenz / DIK bei V.W. = 0,8 verringerter Sehfeld-<math>\phi</math>=215 mm</p>
	20	8	0,25	12,5	1,6	1,0	0,9980	0,9394	10,646	19,961	12,475	1202	
	20	8	0,25	12,5	1,6	1,25	0,9958	0,7531	13,278	24,896	15,560	964	
GF Planapochromat 25x / 0,65 oo / 0,17 -A (Blau, Grün, Gelb, Rot korrigiert)	10	0,3	0,65	25	1,6	0,8	0,9935	0,5898	16,956	31,793	19,871	755	<p><b>GFL ein</b> / Filterpaar matt / Aperturblende offen / Hellfeld / Dunkelfeld mit Scheibchen <math>\phi</math> 8mm, / schiefe Beleuchtung / Rheinberg- Beleuchtung / Polarisation / Fluoreszenz / DIK</p>
	10	0,3	0,65	25	1,6	1,0	1,0008	0,4684	21,349	40,080	25,019	600	
	10	0,3	0,65	25	1,6	1,25	1,0009	0,3747	26,691	50,045	31,278	480	
Planachromat FL 50x / 0,95 oo / 0,17 -A (FL := DG, Korrektur/ Fluoreszenz)	5	0,1	0,95	50	1,6	0,8	0,9737	0,3009	33,236	62,317	38,948	385	<p>mit Deckglas 170<math>\pm</math>30 µm / <b>GFL aus</b> / Apertur- blende regeln / Hellfeld / Dunkelfeld mit Scheibchen <math>\phi</math> 18mm / schiefe Beleuchtung / Rheinberg-Beleuchtung / Polarisation / Fluoreszenz / DIK</p>
	5	0,1	0,95	50	1,6	1,0	0,9895	0,2369	42,220	79,162	49,476	303	
	5	0,1	0,95	50	1,6	1,25	0,9865	0,1901	52,615	98,654	61,659	243	
GF Planachromat HI 100x / 1,25 oo / 0,17 -A (Grün, Gelb korrigiert) mit Immersionsöl	2,5	0,08	1,25	100	1,6	•	0,0946	105,693	198,174	123,859	121	68	<p>Öl / mit Deckglas 170 µm / <b>GFL aus</b> / Aperturblende regeln / Hellfeld / schiefe Beleuchtung / Polarisation / Fluoreszenz / DIK</p>
	Die Wechslerstellung „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Deckglasdickentoleranz hier nicht relevant.												

Einstellung Filterrevolver: 1 = ohne Filter 2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast 3 = Filterpaar matt für 3,2x und 12,5x 4 = Rotfilter

# 37. Tabellen Phasenkontrast-Objektive + Canon EOS 5D-Mk IV

Tabelle 11 : Phasenkontrast: Fotos ( 3.2 ), RAW und Large JPEG mit Jenamed 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark IV , Abbilddaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm] : EOS 5D Mark IV „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“																		
Objektiv-Gewinde M25x0,75 Abglichlänge 45mm GF:= Großfeld; CF := chromattical aberration free ; Sehfeld Ø 246 mm bei Okular-Einblick	Obj- Brenn- weite [mm]	Arb.- Abst. [mm]	N.A.	f1	f2	f3	f4	Korr. [-]	GFL	Foto: Faktor m [µm/px]	Sensor, Vergröß. M [-]	Zw.-Bild, Vergröß. Mz [-]	Länge g1 [µm]	Breite g2 [µm]	maximale Objektgröße bei 2/3 Objektfeld- Nutzung	Kondensor N.A. = 0,9 λ = 550 nm ideale Punkt- objekte !	Achromate für Grün+Gelb korrigiert ; Grünfilter V 2319 einstellen ; mit Bertrandlinse Phasenringe abgleichen und Apertur regeln	
				[-]	[-]	[-]	[-]											[-]
Phasenkontrast-Objektive Hochleistungsobjektivsatz CZJ 12 / 250 / CF M25x0,75	25	14,1	0,20	10	1,6	0,8	0,9852			0,4255	12,611	7,882	1903	1269				
	25	14,1	0,20	10	1,6	1,0	0,9929	ein		0,3378	15,886	9,929	1511	1007				
	25	14,1	0,20	10	1,6	1,25	0,9923			0,2705	19,846	12,404	1209	806				
Planachromat Phv 10x / 0,20 oo / -A	12,5	2,7	0,40	20	1,6	0,8	0,9912			0,2120	25,375	15,959	946	631				mit / ohne Deckglas
	12,5	2,7	0,40	20	1,6	1,0	0,9963	aus		0,1682	31,883	19,927	753	502				Zentraler Lichtfleck
	12,5	2,7	0,40	20	1,6	1,25	0,9947			0,1348	39,789	24,868	603	402				Zentraler Lichtfleck
GF Planachromat Phv 40x / 0,65 oo / 0,17 -A	6,3	0,53	0,65	40	1,6	0,8	0,9899			0,1058	50,683	31,677	474	316				Ecken verschattet
	6,3	0,53	0,65	40	1,6	1,0	0,9979	aus		0,0839	63,862	39,914	376	251				mit Deckglas 170±30 µm
	6,3	0,53	0,65	40	1,6	1,25	0,9967			0,0673	79,735	49,834	301	201				mit Deckglas 170µm
Planachromat Phv HI 100x / 1,30 oo / 0,17 -A mit Immersionsöl Deckglasdickentoleranz deshalb hier nicht relevant.	Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „*“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Die Deckglasdickentoleranz ist hier nicht relevant.																	
	2,5	0,14	1,3	100	1,6	•		aus	0,0272	197,324	123,327	122	81				0,31	
Einstellung Filterrevolver:	1 = ohne Filter			2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast			3 = Filterpaar matt für GF-PA 3,2x und 12,5x			4 = Rotfilter								

**Tabelle 12 : Phasenkontrast: Filmaufnahmen 1920x1080 ( 16 : 9 ) mit Jenamed 2 und Kamera Canon EOS 5D Mark IV , Abbilddaten und Faktoren "m" zur Berechnung der wahren Objektgrößen g [µm] : EOS 5D Mark IV „Av“ (Verschlusszeitautomatik) oder „M“**



PAL- Movie, Full HD Aufnahmeformate: 1920x1080 / 50P / MOV oder 1920x1080 / 50P / MP4	f1 := Objektvergrößerung ; f2 := Fototubusfaktor ; V.W. := Faktor des Vergrößerungswechslers ; f2 := Korrekturfaktor ; GFL := Großfeldlinse (vergrößerungsneutral) ; M := Maßstab der Gesamtvergrößerung auf den Bildsensor der Kamera ; Mz:= Maßstab der Vergrößerung in die mikroskopische reelle Zwischenbildebene Objektgröße g [µm] = p x m ; p [px] := gemessene Objektlänge in der Maßeinheit Pixel										Zwischenbildebene mit Okularstrichplatte		maximale Objektgröße bei 2/3-Objektfeld-Nutzung		Achromate für Grün +Gelb korrigiert ; Grünfilter V 2319 einstellen ; mit Bertrandleinse Phasenringe abgleichen und Apertur regeln	
	Obj.- Brennweite [mm]	Arb.- Abst. [mm]	N.A.	f1 [-]	f2 [-]	V.W. f3 [-]	Korr. f4 [-]	GFL	Movie-Faktor m [µm/px]	Movie-Pixelanzahl p /10µm [px]	Sensor, Vergröß. M [-]	Zw.-Bild, Vergröß. Mz [-]	Länge g1 [µm]	Breite g2 [µm]	Mikroskop JENAMED 2 Canon EOS 5D Mk IV	
Phasenkontrast- Objektive Hochleistungsobjektivsatz CZJ 12 / 250 / CF M25x0,75	25	14,1	0,20	10	1,6	<b>0,8</b>	0,9852		1,4868	6,726	12,611	1903	1071	mit / ohne Deckglas		
	25	14,1	0,20	10	1,6	<b>1,0</b>	0,9929	<b>ein</b>	1,1803	8,472	15,886	1511	850			
	25	14,1	0,20	10	1,6	<b>1,25</b>	0,9923		0,9448	10,585	19,846	1209	680		Zentraler Lichtfleck	
Planachromat Phv 10x / 0,20 oo / -A	12,5	2,7	0,40	20	1,6	<b>0,8</b>	0,9912		0,7389	13,533	25,375	946	532	mit Deckglas 170x30 µm		
	12,5	2,7	0,40	20	1,6	<b>1,0</b>	0,9963	<b>aus</b>	0,5881	17,004	31,883	753	423			
	12,5	2,7	0,40	20	1,6	<b>1,25</b>	0,9947		0,4712	21,221	39,789	603	339		Zentraler Lichtfleck	
GF Planachromat Phv 40x / 0,65 oo / 0,17 -A	6,3	0,53	0,65	40	1,6	<b>0,8</b>	0,9899		0,3699	27,031	50,683	474	266	Ecken verschattet		
	6,3	0,53	0,65	40	1,6	<b>1,0</b>	0,9979	<b>aus</b>	0,2936	34,060	63,862	376	211			
	6,3	0,53	0,65	40	1,6	<b>1,25</b>	0,9967		0,2352	42,525	79,735	301	169		mit Deckglas 170x30 µm	
Planachromat Phv HI 100x / 1,30 oo / 0,17 -A mit Immersionsöl Deckglasdicktoleranz deshalb hier nicht relevant.	Die Einstellungsdes Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv HI 100x zwingend erforderlich, da sonst die Abbildung sehr unscharf wird. Die Deckglasdicktoleranz ist hier nicht relevant.															
	2,5	0,14	1,3	100	1,6	<b>•</b>		<b>aus</b>	0,0950	105,239	197,324	123,327	122	68	mit Deckglas 170 µm	
Einstellung Filterrevolver:	1 = ohne Filter			2 = Grünfilter V232 für Phasenkontrast				3 = Filterpaar matt für 3,2x und 12,5x				4 = Rotfilter				

### 38. Erläuterungen zu den Tabellen zur Objektgrößenbestimmung

$$\text{Objektgröße } g \text{ } [\mu\text{m}] = ( p \times k ) / ( f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4 )$$

$$\text{Objektgröße } g \text{ } [\mu\text{m}] = ( p \times k ) / M$$

$$\text{Objektgröße } g \text{ } [\mu\text{m}] = p \times m$$

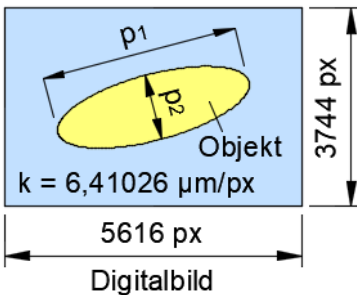
$$\text{Hilfswert } m \text{ } [\mu\text{m}/\text{px}] = \{ k / ( f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4 ) \} = k / M$$

- p = mit Bildbearbeitungssoftware im Digitalbild gemessene Objektgröße in Pixel [px]
- k = Seitenlänge eines quadratischen Sensor-Pixels [  $\mu\text{m}/\text{px}$  ]
- f1 = Vergrößerungsfaktor des Objektivs ( z.B.: 3,2 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100-HI )
- f2 = Vergrößerungsfaktor des Fototubus ( JENAMED 2: f2 = 1,6 )
- f3 = Faktor des Vergrößerungswechslers ( JENAMED 2: 0,8 ; 1,0 ; 1,25 )
- f4 = Korrekturfaktor zur Abbildung Objektebene → Ebene des Kamerasensors
- M = Gesamtvergrößerung von der Objektebene in die Sensor-Ebene

#### Canon EOS 5D Mk II

Kameramodus Foto

Raw / Large JPEG ( 3 : 2 )



$$\text{Objektgröße } g_1 \text{ } [\mu\text{m}] = m \times p_1$$

$$\text{Objektgröße } g_2 \text{ } [\mu\text{m}] = m \times p_2$$

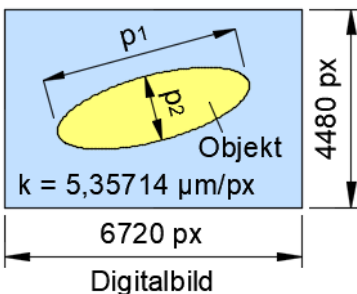
Die Hilfswerte  $m$  [  $\mu\text{m}/\text{px}$  ] zur Objektgrößenbestimmung können den Tabellen Nr.5 bis Nr.12 entnommen werden.

Da Mikroskopobjektive kleine Abweichungen von ihrer "Sollvergrößerung" (Nominalwert) zeigen, wurden für jede Kombination von Objektiv und Vergrößerungswechsler mittels Objektmikrometer einzelne Korrekturfaktoren  $f_4$  ermittelt

#### Canon EOS 5D Mk IV

Kameramodus Foto

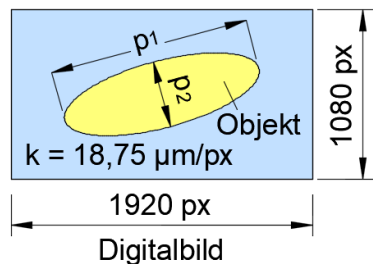
Raw / Large JPEG ( 3 : 2 )



#### Canon EOS 5D Mk II / IV

Kameramodus Movie

1920x1080 ( 16 : 9 )



## 39. Förderliche Vergrößerung Mf für System Mikroskop-Digitalkamera-Bildschirm

Bezug: Leica Microsystems, Derose J., Doppler M.: Understanding clearly the magnification of microscopy

Vergrößerung  $M_D$  Objektebene  $\rightarrow$  Bildschirmenebene:  $M_D = M \times f_p$

Pixelfaktor  $f_p = 1000 \times k_D / (n_{pb} \times k)$

$M$  = Vergrößerung vom Objekt (Präparat) zum Sensor der Digitalkamera

$k_D$  = Pixelgröße [mm] des Displays (PC-Bildschirm)

$k$  = Pixelgröße [ $\mu$ m] des Kamerasensors

$n_{pb}$  := Kamerapixel-Binning-Faktor:  $n_{pb} = 1$  für Canon EOS 5D-Mk II und -Mk IV

Binning = Zusammenfassen von benachbarten Kamerasensor-Pixeln in Gruppen:

1x1 (kein Binning)  $\rightarrow n_{pb} = 1$ , 2x2  $\rightarrow n_{pb} = 2$ , 3x3  $\rightarrow n_{pb} = 3$ , 4x4  $\rightarrow n_{pb} = 4$

Bei zu geringer Pixelanzahl des Displays wird nur ein Teil der Bildinformation des Kamerasensors auf dem Display (Bildschirm) wiedergegeben.- Hohe Vergrößerungen ohne ausreichende Auflösung führen zu sogenannten „leeren Vergrößerungen“ ohne Zugewinn an Bildinformation.

Auflösungsvermögen = Fähigkeit zur Unterscheidung eng benachbarter Punkte oder Linien eines Objekts im Bild. In der Mikroskopie wird das Auflösungsvermögen definiert in Bezug auf Linienpaare pro Millimeter. Bei dem Abbildungssystem Mikroskop-Digitalkamera-Bildschirm werden drei Arten der Auflösungsgrenzen betrachtet:

Optische Auflösungsgrenze, Kamerasensor- und Bildschirm-Auflösungsgrenze.

Umrechnung in Linienpaare pro 1 mm [LP/mm] : ( Faktor 1.000.000, weil  $\lambda$  [nm] )

Opt. Auflösungsgrenze:  $R_o = 1\text{mm} / (d_o \times 10^{-6}) = 1.000.000 / d_o$  [LP/mm]

$NA_{obj} > NA_{kond}$  :  $R_o = 10^6 \times (NA_{obj} + NA_{kond}) / (1,22 \times \lambda)$  [LP/mm]

$NA_{obj} \leq NA_{kond}$  :  $R_o = 10^6 \times (NA_{obj} + NA_{obj}) / (1,22 \times \lambda)$  [LP/mm]

Auflösungsgrenze Kamerasensor:  $R_S = 500 \times M / (n_{pb} \times k[\mu\text{m}])$  [LP/mm]

Auflösungsgrenze Display:  $R_D = M_D / (2 \times k_D [\text{mm}])$  [Linienpaare/mm]

Auflösungsgrenze System:  $R_{sys} = \text{MIN} \{ R_o ; R_S ; R_D \}$  [Linienpaare/mm]

Bereich der förderlichen Vergrößerung:

$$R_{sys} / 6 < Mf < R_{sys} / 3$$

Bereich des förderlichen Sehabstands **af** [mm] vom Display (Bildschirm):

$$0,75 \times M_D / R_{sys} < \mathbf{af} < 1,5 \times M_D / R_{sys}$$

Visuelle Vergrößerung im Augen-Abstand **a** [mm] vom Display (Bildschirm):

$$\mathbf{M(a)} = M_D \times 250[\text{mm}] / \mathbf{a}$$



Movie-Standbild:  
Daphnia magna  
Miktisches Weibchen mit sexuellen  
Eiern, die gerade von einem  
Männchen befruchtet werden



Movie-Standbild:  
Daphnia magna  
Parthenogenetisches Weibchen mit  
Embryos im Brutraum kurz vor deren  
Entlassung ins Freiwasser

## Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Großfeld-Planachromate

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times Mz$		Tabelle 13a : <b>EOS 5D-Mk IV Foto und 27' Display 1920x1080</b>										a [m] =		0,90		Vergröß. Objekt zu Auge <b>M(a)</b>		Förderliche Vergrößerung <b>Mf [-]</b>	
		Vergröß. auf Kamera-Sensor	Vergröß. Gesamt-Vergröß. (Okular)	Vergröß. Objekt zu Display	Opt. Auflös.-grenze $\lambda=550nm$	Auflös.-grenze Sensor	Auflös.-grenze Display	Auflös.-grenze System	Förderlicher Sehabstand	von	bis								
Okular Brennweite (mm)	Okular SFZ nominal (mm)	Okular SFZ effektiv (mm)	Vergrößerungsw. v.W. f3 [-]	M [-]	Mo [-]	MD [-]	Ro [LP/mm]	Rs [LP/mm]	Rd [LP/mm]	Rsys [LP/mm]	af [m]	von	bis	von	bis				
GF Planachromat																			
<b>3,2x / 0,06 oo / -A</b>																			
GF Planachromat																			
<b>12,5x / 0,25 oo / -A</b>																			
GF Planapochromat																			
<b>25x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>																			
Planachromat FL																			
<b>50x / 0,95 oo / 0,17 -A</b>																			
GF Planachromat HI																			
<b>100x / 1,25 oo / 0,17 -A</b>																			

Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Objektive für Phasenkontrast																
Sehfeldzahl = $\emptyset_g \times Mz$		Tabelle 13b : <b>EOS 5D-Mk IV Foto und 27' Display 1920x1080</b>							a [m] = 0,90							
Okular Brennweite {mm}	Okular SFZ nominal {mm}	Okular SFZ effektiv {mm}	Vergrößerungsw. V.W.	Vergrößerung auf Kamera-Sensor M	Visuelle Gesamt-Vergrößerung (Okular) Mo	Vergrößerung Objekt zu Display MD	Opt. Auflös.-grenze $\lambda=550nm$ Ro	Auflös.-grenze Sensor Rs	Auflös.-grenze Display RD	Auflös.-grenze System Rsys	Förderlicher Sehabstand ar [m]	Vergrößerung Objekt zu Auge M(a)	Förderliche Vergrößerung Mf [-]			
														f3 [-]	[-]	[-]
Planachromat Ph <b>10x / 0,20 oo / -A</b>			<b>0,8</b>	12,61	80	732	596	1177	1177	596	0,92	1,84	203	99	199	
			<b>1,0</b>	15,89	101	922	596	1483	1483	1483	596	1,16	2,32	256	99	199
			<b>1,25</b>	19,85	126	1152	596	1852	1852	1852	596	1,45	2,90	320	99	199
Planachromat Phv <b>20x / 0,40 oo / 0,17 -A</b>			<b>0,8</b>	25,37	161	1473	1192	2368	2368	1192	0,93	1,85	409	199	397	
			<b>1,0</b>	31,88	202	1851	1192	2976	2976	2976	1192	1,16	2,33	514	199	397
			<b>1,25</b>	39,79	252	2309	1192	3714	3714	3714	1192	1,45	2,91	641	199	397
GF Planachromat Phv <b>40x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>			<b>0,8</b>	50,68	321	2942	1937	4730	4730	1937	1,14	2,28	817	323	646	
			<b>1,0</b>	63,86	404	3707	1937	5960	5960	1937	1,43	2,87	1030	323	646	
			<b>1,25</b>	79,73	505	4628	1937	7442	7442	1937	1,79	3,58	1286	323	646	
Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „*“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv Phv HI 100x zwingend erforderlich.																
Planachromat Phv HI <b>100x / 1,30 oo / 0,17 -A mit Immersionsöl</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>197,32    1249    11453    3279    18417    18417    2,62    5,24    3181    546    1093</li> </ul>														

## Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Großfeld-Planachromate

Sehfeldzahl = $\phi_g \times Mz$		Tabelle 14a: <b>EOS 5D-Mk IV Movie und 27' Display 1920x1080</b>										$a$ [m] =		0,90		
		Okular Brenn- weite {mm}	Okular SFZ effektiv {mm}	Ver- größe- rungs- wechsler v.w. $f_3$	Vergröß. auf Kamera- Sensor M	Visuelle Gesamt- Vergröß. (Okular) Mo	Vergröß. Objekt zu Display MD	Opt. Auflös.- grenze $\lambda=550nm$ Ro	Auflös.- grenze Sensor Rs	Auflös.- grenze Display RD	Auflös.- grenze System Rsys	Förderlicher Sehabstand ar [ m ]	von	bis	Vergröß. Objekt zu Auge M(a)	Förderliche Ver- größerung Mf [ - ]
25	25	24,6	[ - ]	[ - ]	[ - ]	[ - ]	[LP/mm]	[LP/mm]	[LP/mm]	[LP/mm]	[LP/mm]	von	bis	[ - ]	von	bis
GF Planachromat <b>3,2x / 0,06 oo / -A</b>		<b>0,8</b>	4,05	26	67	179	108	108	108	108	108	0,47	0,93	19	18	36
		<b>1,0</b>	5,10	32	85	179	136	136	136	136	136	0,47	0,93	23	23	45
		<b>1,25</b>	6,37	40	106	179	170	170	170	170	170	170	0,47	0,93	29	28
GF Planachromat <b>12,5x / 0,25 oo / -A</b>		<b>0,8</b>	15,83	100	263	745	422	422	422	422	422	0,47	0,93	73	70	141
		<b>1,0</b>	19,96	126	331	745	532	532	532	532	532	0,47	0,93	92	89	177
		<b>1,25</b>	24,90	158	413	745	745	664	664	664	664	664	0,47	0,93	115	111
GF Planapochromat <b>25x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>		<b>0,8</b>	31,79	201	527	1937	848	848	848	848	848	0,47	0,93	146	141	283
		<b>1,0</b>	40,03	253	664	1937	1067	1067	1067	1067	1067	0,47	0,93	184	178	356
		<b>1,25</b>	50,05	317	830	1937	1335	1335	1335	1335	1335	1335	0,47	0,93	231	222
Planachromat FL <b>50x / 0,95 oo / 0,17 -A</b>		<b>0,8</b>	62,32	394	1033	2757	1662	1662	1662	1662	1662	0,47	0,93	287	277	554
		<b>1,0</b>	79,16	501	1313	2757	2111	2111	2111	2111	2111	0,47	0,93	365	352	704
		<b>1,25</b>	98,65	624	1636	2757	2631	2631	2631	2631	2631	2631	0,47	0,93	454	438
GF Planachromat HI <b>100x / 1,25 oo / 0,17 -A</b>		•	198,17	1254	3286	3204	5285	5285	5285	5285	5285	0,77	1,54	913	534	1068

**Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Objektive für Phasenkontrast**

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times Mz$		Tabelle 14b : <b>EOS 5D-Mk IV Movie und 27' Display 1920x1080</b>										<b>a [m] = 0,90</b>		Förderliche Vergrößerung <b>Mf [-]</b>		
Okular Brennweite {mm}	Okular SFZ nominal {mm}	Vergrößerungsw. V.W. f <sub>3</sub> [-]	Vergrößerung auf Kamera-Sensor <b>M</b> [-]	Visuelle Gesamtvergrößerung (Okular) <b>Mo</b> [-]	Vergrößerung Objekt zu Display <b>M<sub>D</sub></b> [-]	Opt. Auflös.-grenze λ=550nm <b>R<sub>o</sub></b> [LP/mm]	Auflös.-grenze Sensor <b>RS</b> [LP/mm]	Auflös.-grenze Display <b>RD</b> [LP/mm]	Auflös.-grenze System <b>R<sub>sys</sub></b> [LP/mm]	Förderlicher Sehabstand <b>a<sub>f</sub> [m]</b>	Vergrößerung Objekt zu Auge <b>M(a)</b> [-]	von	bis	von	bis	
																Förderliche Vergrößerung <b>Mf [-]</b>
25	25	24,6														
Planachromat Ph <b>10x / 0,20 oo / -A</b>		<b>0,8</b>	12,61	80	209	596	336	336	336	0,47	58	0,47	0,93	56	112	
		<b>1,0</b>	15,89	101	263	596	424	424	424	0,47	73	0,47	0,93	71	141	
		<b>1,25</b>	19,85	126	329	596	529	529	529	0,47	91	0,47	0,93	88	176	
Planachromat Phv <b>20x / 0,40 oo / 0,17 -A</b>		<b>0,8</b>	25,37	161	421	1192	677	677	677	0,47	117	0,47	0,93	113	226	
		<b>1,0</b>	31,88	202	529	1192	850	850	850	0,47	147	0,47	0,93	142	283	
		<b>1,25</b>	39,79	252	660	1192	1061	1061	1061	0,47	183	0,47	0,93	177	354	
GF Planachromat Phv <b>40x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>		<b>0,8</b>	50,68	321	840	1937	1352	1352	1352	0,47	233	0,47	0,93	225	451	
		<b>1,0</b>	63,86	404	1059	1937	1703	1703	1703	0,47	294	0,47	0,93	284	568	
		<b>1,25</b>	79,73	505	1322	1937	2126	2126	1937	0,51	367	0,51	1,02	323	646	

Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv Phv HI 100x zwingend erforderlich.

•	197,32	1249	3272	3279	5262	5262	3279	0,75	1,50	909	546	1093
---	--------	------	------	------	------	------	------	------	------	-----	-----	------

## Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Großfeld-Planachromate

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times M_Z$		Tabelle 15a : <b>EOS 5D-Mk IV Foto und 27' Display 3840x2160</b>						$a$ [m] =		0,90			
Okular Brenn- weite {mm}	Okular SFZ effektiv {mm}	Ver- größe- rungs- wechsler v.W. $f_3$	Vergröß. auf Kamera- Sensor $M$	Visuelle Gesamt- Vergröß. (Okular) $Mo$	Vergröß. Objekt zu Display $MD$	Opt. Auflös.- grenze $\lambda=550nm$ $Ro$	Auflös.- grenze Sensor $RS$	Auflös.- grenze Display $Rd$	Auflös.- grenze System $Rsys$	Förderlicher Sehabstand $af$ [m]		Vergröß. Objekt zu Auge $M(a)$	Förderliche Ver- größerung $Mf$ [-]
										von	bis		
GF Planachromat <b>3,2x / 0,06 oo / -A</b>		<b>0,8</b>	4,05	26	117	179	378	378	179	0,49	0,99	33	30
		<b>1,0</b>	5,10	32	148	179	476	476	179	0,62	1,24	41	30
		<b>1,25</b>	6,37	40	185	179	595	595	179	0,78	1,55	51	30
GF Planachromat <b>12,5x / 0,25 oo / -A</b>		<b>0,8</b>	15,83	100	460	745	1478	1478	745	0,46	0,93	128	124
		<b>1,0</b>	19,96	126	579	745	1863	1863	745	0,58	1,17	161	124
		<b>1,25</b>	24,90	158	722	745	2324	2324	745	0,73	1,45	201	124
GF Planapochromat <b>25x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>		<b>0,8</b>	31,79	201	923	1937	2967	2967	1937	0,36	0,71	256	323
		<b>1,0</b>	40,03	253	1162	1937	3736	3736	1937	0,45	0,90	323	323
		<b>1,25</b>	50,05	317	1452	1937	4671	4671	1937	0,56	1,12	403	323
Planachromat FL <b>50x / 0,95 oo / 0,17 -A</b>		<b>0,8</b>	62,32	394	1808	2757	5816	5816	2757	0,49	0,98	502	460
		<b>1,0</b>	79,16	501	2297	2757	7388	7388	2757	0,62	1,25	638	460
		<b>1,25</b>	98,65	624	2863	2757	9208	9208	2757	0,78	1,56	795	460
GF Planachromat HI <b>100x / 1,25 oo / 0,17 -A</b>		•	198,17	1254	5751	3204	18496	18496	3204	1,35	2,69	1598	534

## Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Objektiv für Phasenkontrast

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times M_Z$		<b>Tabelle 15b : EOS 5D-Mk IV Foto und 27' Display 3840x2160</b>						<b>a [m] =</b>		0,90				
Okular Brenn- weite {mm}	Okular SFZ nominal {mm}	Okular SFZ effektiv {mm}	Ver- größe- rungs- wechsler v.W. f3 [-]	Vergröß. auf kamera- Sensor M [-]	Visuelle Gesamt- Vergröß. (Okular) Mo [-]	Vergröß. Objekt zu Display MD [-]	Opt. Auflös.- grenze $\lambda=550nm$ Ro [LP/mm]	Auflös.- grenze Sensor Rs [LP/mm]	Auflös.- grenze Display RD [LP/mm]	Auflös.- grenze System Rsys [LP/mm]	Förderlicher Sehabstand af [ m ] von    bis	Vergröß. Objekt zu Auge M(a) [-]	Förderliche Ver- größe- rung Mf [- ] von    bis	
														Förderlicher Sehabstand af [ m ] von    bis
<b>Planachromat Ph 10x / 0,20 oo / -A</b>														
			<b>0,8</b>	12,61	80	366	596	1177	1177	596	0,46	0,92	102	99
			<b>1,0</b>	15,89	101	461	596	1483	1483	596	0,58	1,16	128	99
			<b>1,25</b>	19,85	126	576	596	1852	1852	596	0,72	1,45	160	99
<b>Planachromat Phv 20x / 0,40 oo / 0,17 -A</b>														
			<b>0,8</b>	25,37	161	736	1192	2368	2368	1192	0,46	0,93	205	199
			<b>1,0</b>	31,88	202	925	1192	2976	2976	1192	0,58	1,16	257	199
			<b>1,25</b>	39,79	252	1155	1192	3714	3714	1192	0,73	1,45	321	199
<b>GF Planachromat Phv 40x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>														
			<b>0,8</b>	50,68	321	1471	1937	4730	4730	1937	0,57	1,14	409	323
			<b>1,0</b>	63,86	404	1853	1937	5960	5960	1937	0,72	1,43	515	323
			<b>1,25</b>	79,73	505	2314	1937	7442	7442	1937	0,90	1,79	643	323
<b>Planachromat Phv HI 100x / 1,30 oo / 0,17 -A mit Immersionsöl</b>														
			•	197,32	1249	5726	3279	18417	18417	3279	1,31	2,62	1591	546
Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv Phv HI 100x zwingend erforderlich.														

## Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Großfeld-Planachromate

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times Mz$		Tabelle 16a : <b>EOS 5D-Mk IV Movie und 27" Display 3840x2160</b>										<b>a</b> [m] = 0,90		Vergröß. Objekt zu Auge <b>M(a)</b>							
		Okular Brennweite {mm}		Vergrößerungsw. V.W. f3 [-]		Vergröß. auf Kamera-Sensor		Visuelle Gesamt-Vergröß. (Okular)		Vergröß. Objekt zu Display						Opt. Auflös.-grenze $\lambda=550nm$		Auflös.-grenze Sensor		Auflös.-grenze Display	
Okular	Okular	Okular SFZ nominal {mm}	Okular SFZ effektiv {mm}	M	M	M	M <sub>o</sub>	M <sub>D</sub>	R <sub>o</sub>	R <sub>s</sub>	R <sub>D</sub>	R <sub>sys</sub>	von	bis	von	bis					
GF Planachromat <b>3,2x / 0,06 oo / -A</b>				0,8	4,05	26	34	179	108	108	108	108	0,23	0,47	9	18					
				1,0	5,10	32	42	179	136	136	136	136	136	0,23	0,47	12	23				
				1,25	6,37	40	53	179	170	170	170	170	170	170	0,23	0,47	15	28			
GF Planachromat <b>12,5x / 0,25 oo / -A</b>				0,8	15,83	100	131	745	422	422	422	422	0,23	0,47	36	70					
				1,0	19,96	126	166	745	532	532	532	532	532	0,23	0,47	46	89				
				1,25	24,90	158	206	745	664	664	664	664	664	664	0,23	0,47	57	111			
GF Planapochromat <b>25x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>				0,8	31,79	201	264	1937	848	848	848	848	0,23	0,47	73	141					
				1,0	40,03	253	332	1937	1067	1067	1067	1067	1067	0,23	0,47	92	178				
				1,25	50,05	317	415	1937	1335	1335	1335	1335	1335	1335	0,23	0,47	115	222			
Planachromat FL <b>50x / 0,95 oo / 0,17 - A</b>				0,8	62,32	394	517	2757	1662	1662	1662	1662	0,23	0,47	144	277					
				1,0	79,16	501	656	2757	2111	2111	2111	2111	2111	0,23	0,47	182	352				
				1,25	98,65	624	818	2757	2631	2631	2631	2631	2631	2631	0,23	0,47	227	438			
GF Planachromat HI <b>100x / 1,25 oo / 0,17 - A</b>						1254	1643	3204	5285	5285	5285	3204	0,38	0,77	456	534					
						198,17											1068				

## Förderliche Vergrößerung etc. für System Bildschirm, Digitalkamera, Objektive für Phasenkontrast

Sehfeldzahl = $\varnothing_g \times Mz$		<b>Tabelle 16b : EOS 5D-Mk IV Movie und 27' Display 3840x2160</b>										<b>a [m] =</b>		<b>0,90</b>			
		Okular Brenn- weite {mm}	Okular SFZ nominal {mm}	Okular SFZ effektiv {mm}	Ver- größe- rungs- wechsler v.w. f <sub>3</sub>	Vergröß. auf kamera- Sensor M	Visuelle Gesamt- Vergröß. (Okular) Mo	Vergröß. Objekt zu Display Md	Opt. Auflös.- grenze $\lambda=550nm$ Ro	Auflös.- grenze Sensor Rs	Auflös.- grenze Display Rd	Auflös.- grenze System Rsys	Förderlicher Sehabstand ar	von	bis	Vergröß. Objekt zu Auge M(a)	Förderliche Ver- größe- rung Mf
25	25	24,6	[-]	[-]	[-]	[-]	[-]	[LP/mm]	[LP/mm]	[LP/mm]	[LP/mm]	von	bis	[-]	von	bis	
Planachromat Ph <b>10x / 0,20 oo / -A</b>			<b>0,8</b>	12,61	80	105	596	336	336	336	336	0,23	0,47	29	56	112	
			<b>1,0</b>	15,89	101	132	596	424	424	424	424	424	0,23	0,47	37	71	141
			<b>1,25</b>	19,85	126	165	596	529	529	529	529	529	529	0,23	0,47	46	88
Planachromat Phv <b>20x / 0,40 oo / 0,17 -A</b>			<b>0,8</b>	25,37	161	210	1192	677	677	677	677	0,23	0,47	58	113	226	
			<b>1,0</b>	31,88	202	264	1192	850	850	850	850	850	0,23	0,47	73	142	283
			<b>1,25</b>	39,79	252	330	1192	1061	1061	1061	1061	1061	1061	0,23	0,47	92	177
GF Planachromat Phv <b>40x / 0,65 oo / 0,17 -A</b>			<b>0,8</b>	50,68	321	420	1937	1352	1352	1352	1352	0,23	0,47	117	225	451	
			<b>1,0</b>	63,86	404	530	1937	1703	1703	1703	1703	1703	0,23	0,47	147	284	568
			<b>1,25</b>	79,73	505	661	1937	2126	2126	2126	2126	1937	1937	0,26	0,51	184	323

Die Einstellung des Vergrößerungswechslers V.W. auf „•“ und das Immersionsöl zwischen Deckglas und Objektiv sind für das Objektiv Phv HI 100x zwingend erforderlich.

<b>•</b>	197,32	1249	1636	3279	5262	5262	3279	0,37	0,75	454	546	1093
----------	--------	------	------	------	------	------	------	------	------	-----	-----	------

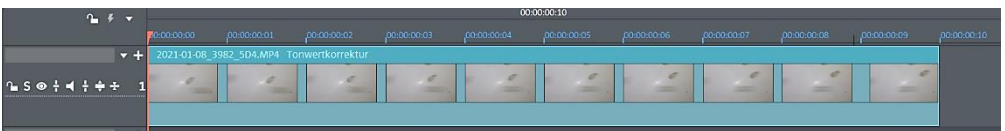
## 40. Geschwindigkeitsbestimmung

Das System Mikroskop-Digitalkamera-Bildschirm ermöglicht die Bestimmung von momentanen Fortbewegungsgeschwindigkeiten von aquatischen Mikroorganismen im jeweils beobachteten Zeitfenster.

**Werkzeuge:** Mikroskop Jenamed 2 ; Digitalkamera Canon EOS 5D Mk IV ; Bildschirm mit Einstellung Full HD (1920x1080 Pixel) ; Videobearbeitungssoftware (Magix Video Pro oder Kdenlive oder gleichwertig) ; Bildbearbeitungssoftware ( Photoshop oder GIMP oder gleichwertig ) ; Maßstabtabellen in diesem Merkheft zur Objektgrößenbestimmung mit Hilfwert „m“.

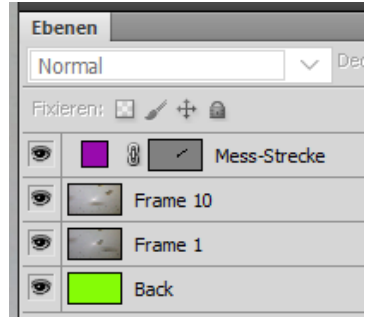
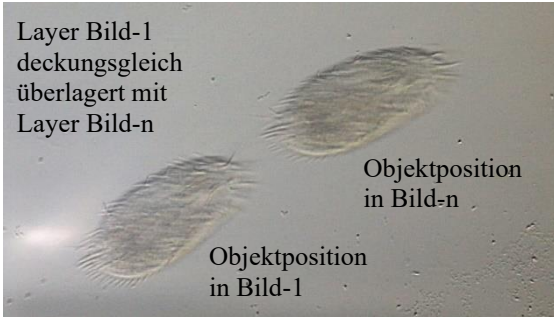
**Voraussetzungen:** Digitalkamera im Livebild-Movie-Modus mit Tonaufzeichnung (zwecks Ansage der gewählten Mikroskopeinstellung) ; Movie-Format Full HD (1920x1080) mit Framerate 50 B/s ( B/s = fps = bps = Bilder pro Sekunde) und MOV-Dateiformat (anstatt MP4) ; kein Pixel-Binning ; Objektträger bewegungslos während der Movie-Livebild-Aufnahme ; freie unbehinderte Beweglichkeit des Objekts (betrachteter Mikroorganismus) muß gewährleistet sein, auch im Wasserfilm zwischen Objektträger und Deckglas bei Verwendung eines Deckglases ; keine Beschädigung des gefilmten Mikroorganismus durch Quetschung oder durch Schadstoffe ; erforderlichenfalls einen entfetteten Haar-Ring als Abstandhalter zwischen Objektträger und Deckglas einlegen ; keine Bewegung im Wasserfilm infolge von Wasserverlust durch Verdunstung oder infolge von Druck auf das Deckglas ; Mikroskop-Einstellung ( Vergrößerungseinstellung ) der Objektgröße sinnvoll anpassen, sodaß die vom Objekt zurückgelegte Bezugs-Wegstrecke in der Bildfolge einer Einstellung mit erfasst werden kann ( ohne Nachführen des Objektfeldes ! ).

**Arbeitsschritte:** Objekt im Livebild-Movie-Modus aufnehmen und dabei die gewählte Mikroskopeinstellung aufsprechen --- Die Datei xyz.mov (Videoclip) auf eine Festplatte des Computers übertragen --- Die Datei xyz.mov mit einer Videobearbeitungssoftware unter Beibehaltung von Bildgröße und Bildrate (Framerate) öffnen --- Im Videoclip wird nach einem möglichst geradlinigen Wegabschnitt **S** des Objekts gesucht --- Das Bildfolgeintervall des gewählten geradlinigen Wegabschnitts wird durch Setzen von In-Punkt und Out-Punkt markiert und in die TimeLine übertragen --- Mittels Abfrage-Werkzeug „Objekteigenschaften“ wird die Anzahl  $n_{EB}$  der Einzelbilder angezeigt ---



Erstes und letztes Einzelbild in der Originalauflösung (1920x1080) als Standbilder im JPEG-Dateiformat exportieren ( z.B. Bild-1.jpeg und Bild-10.jpeg gemäß vorstehender Abbildung mit 10 Einzelbildern )

- Erstes Standbild „Bild-1.jpeg“ mit Bildbearbeitungsprogramm (Gimp oder Photoshop oder gleichwertig) öffnen
- Letztes Standbild „Bild-n.jpeg“ mit Bildbearbeitungsprogramm öffnen
- Das Standbild „Bild-n.jpeg“ via „Copy&Paste“ und Verschieben des Layers „Bild-n.jpeg“ exact über den Layer „Bild-1“ legen. („Bild-n“ verdeckt hierbei das „Bild-1“ vollständig)
- Transparenzregler zu Layer „Bild-n“ verschieben, bis das darunterliegende „Bild-1“ in gleicher Intensität erscheint.



- Neuen Layer „Mess-Strecke“ anlegen und die zurückgelegte Mess-Strecke  $S$  und die Objekt-Länge  $G$  mittels Linienzeichner-Werkzeug im Bild markieren.

- Längen  $S$  [px] und  $G$  [px] mit dem Messwerkzeug des Bildbearbeitungsprogramms messen.

- Faktor  $m$  der Tabelle entnehmen. Beispiel: EOS 5D-Mk IV mit Großfeld Planapochromat 25x und V.W. 1,25 → Tabelle 10:  $m = 0,3747 \mu\text{m}/\text{px}$



### Berechnung:

$$\text{Im Zeitraum } t \text{ zurückgelegte Wegstrecke } s [\mu\text{m}] = m [\mu\text{m}/\text{px}] \times S [\text{px}]$$

$$\text{Zeitraum } t [\text{s}] = (\text{NEB} [\text{f}] - 1) / \text{fps} [\text{f}/\text{s}]$$

$$\text{Objektlänge } g [\mu\text{m}] = m [\mu\text{m}/\text{px}] \times G [\text{px}]$$

$$\text{Momentangeschwindigkeit des Objekts } v [\mu\text{m}/\text{s}] = s [\mu\text{m}] / t [\text{s}]$$

$$\text{Auf die Körperlänge } L \text{ bezogene Momentangeschwindigkeit } v_{\text{rel}} \text{ des Objekts: } v_{\text{rel}} [L/\text{s}] = v [\mu\text{m}/\text{s}] / g [\mu\text{m}/L]$$

Vorstehendes Beispiel: EOS 5D-Mk IV; Livebild-Movie FullHD (1920x1080) mit Bildrate (Frame-Rate) fps = 50 Bilder pro Sekunde; Anzahl **nEB** der exportierten Standbilder (Frames) = 10 ; Hilfwert **m** = 0,3747 [ $\mu\text{m}/\text{px}$ ] für Mikroskop-Einstellung Objektiv 25x und V.W. 1,25 aus Tabelle 10 entnommen ; S = 393 Pixel und G = 320 Pixel gemessen

Wegstrecke **s** = 0,3747 [ $\mu\text{m}/\text{px}$ ] x 393 [px] = 147 [ $\mu\text{m}$ ]

Zeitraum **t** = ( 10 [f] – 1 [f] ) / 50 [f/s] = 0,18 [s]

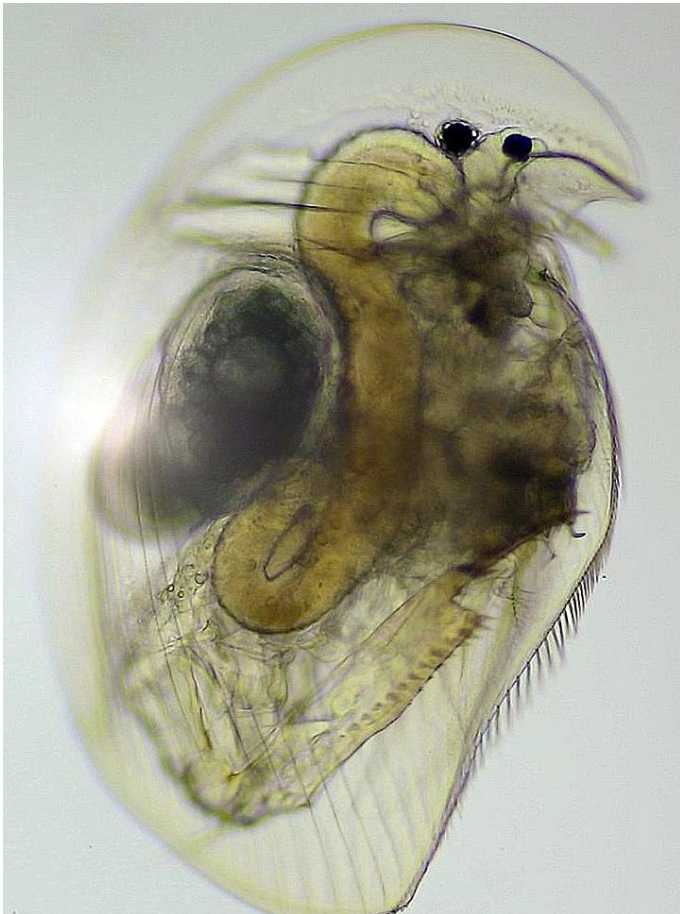
Objektlänge **g** = 0,3747 [ $\mu\text{m}/\text{px}$ ] x 320 [px] = 120 [ $\mu\text{m}$ ]

Momentangeschwindigkeit des Objekts **v** [ $\mu\text{m}/\text{s}$ ] = **147** [ $\mu\text{m}$ ] / **0,18** [s] = 817  $\mu\text{m}/\text{s}$

Auf die Körperlänge **L** bezogene Momentangeschwindigkeit **vrel** des Objekts:

**vrel** = 817 [ $\mu\text{m}/\text{s}$ ] / 120 [ $\mu\text{m}/\text{L}$ ] = 6,81 [L/s]

---



## 41. Objektgrößen

Objekt Länge g1 [ $\mu\text{m}$ ]	Objekt Breite, $\emptyset$ g2 [ $\mu\text{m}$ ]		Objekt-Bezeichnung
	0,03-0,30		spezifischer Virendurchmesser
	0,3	ca.	Auflösung $d_0$ für ein Objektiv 100x / 1,3 (Öl)
0,38 - 0,75			weißes Licht, Periodenlängen
< 1	< 1	ca.	Bakteriengröße, überwiegend
1		ca.	Bakterium Zoogloea ramigera
2 - 6	$\emptyset$ 1,1 - 1,5		Bakterium Escherichia coli
5	3	ca.	Kopf des menschlichen Spermiums
55		ca.	Gesamtlänge des menschlichen Spermiums
	$\emptyset$ 4	ca.	Myosotis sp. Pollen (Vergißmeinnicht-Pollen)
	$\emptyset$ 4 - 10		Chlorella vulgaris (Grünalge, einzellig)
16 - 20	12 - 15		Cryptodiffugia oviformis (Eierschalenamöbe)
	$\emptyset$ 10 - 20		Coeleastrum sphaericum (Dreizacken-Hohlstern) Grünalge
15 - 32			Cyclidium glaucoma (Graublaues Bogentierchen) Wimpertier
	$\emptyset$ 33		Bärlappsporen, trocken unter Deckglas
	30 - 40		Multicilia lacustris (Vielgeißelige Teichamöbe)
40 - 46			Rhabdostyla conipes (Daphnien-Glockentierchen)
	$\emptyset$ 50	ca.	Pflanzenzellen (Größenordnung)
	$\emptyset$ 45 - 52		Staurastrum spongiosum (Schwamm-Zieralge) ; Jochalge
	$\emptyset$ 50 - 100		Kopfhaar Mensch
	100	ca.	Schreibpapierdicke
50 - 140			Paramecium putrinum (Schmutz-Pantoffeltier)
	$\emptyset$ 200	ca.	Cucurbita pepo Pollen (Kürbispollen)
150 - 250	25		Gyrosigma attenuatum (Sigma-Kieselalge)
200 - 360	165 - 305		Micrasterias rotata (Radalge) ; Desmidiiales / Zieralgen
700		ca.	Cypridopsis vidua (Zebrauschelkrebs)
1000		ca.	Attheyella sp. (Raupenhüpferling)
2000		ca.	Polyphemus pediculus (Raubwasserfloh)
2500		ca.	Macrocylops albidus (Weißer Riesenhüpferling)
2600		ca.	Cypris pubera (Grüner Muschelkrebs)
2000		ca.	Daphnia magna (Großer Wasserfloh), m.
6000		ca.	Daphnia magna (Großer Wasserfloh), f.