

# Hochentwickelte Anmerkungen über Wasserimmersionsobjektive

## Teil 1: Einleitung

*von René van Wezel, UK*

Im Vergleich zu einem durchschnittlichen 100x Ölimmersionsobjektiv an den meisten Mikroskopen, ist ein Wasserimmersionsobjektiv eine Freude. Die umständliche Reinigung des Präparates und des Objektivs macht das Ölimmersionsobjektiv in der Regel zum letzten (und am wenigsten) verwendeten Objektiv. Und auch ein schneller Wechsel zu einer geringeren Vergrößerung, um andere interessantere Teile in dem Präparat zu finden...

Mit einem Wasserimmersionsobjektiv jedoch saugt man einfach das Wasser mit einem Stück Filterpapier weg. Reste von Wasser verdunsten schnell und nach ein paar Sekunden können Sie zurück zu einer geringeren Vergrößerung. Es funktioniert sogar mit Wasser auf gerahmten Dias, die man nach dem Gebrauch mit einer Öl-Immersion nur noch wegwerfen kann.

Leider, trotz ihrer Leichtigkeit des Gebrauches, waren Wasserimmersionsobjektive in der Regel nicht sehr beliebt. Da Ölimmersion standardmäßig mit jedem Satz von Objektiven verkauft wurde, war ein Wasserimmersionsobjektiv entweder nicht bekannt, vorhanden oder im Allgemeinen betrachtet als überflüssig und "nicht so gut" angesehen.

Es ist wahr, dass Ölimmersion eine höhere Apertur erreichen kann, und somit eine höhere Auflösung im Vergleich zu einem Wasserimmersionsobjektiv hat. Dies zeigt, dass Ölimmersionsobjektive mit einer höheren numerischen Apertur (NA) von rund 1,25 bis 1,4, besser sind als Wasserimmersionsobjektive mit maximal 1,25 (bzw. ein Unterschied von ca. 10% Auflösung).

Auch aus einem anderen Blickwinkel, so scheint eine Öl- oder homogene Immersion (HALLO) ideal. Mit ähnlichen Brechungsindizes von Glas-, Öl- und Eindeckmedium, geht der Beleuchtungskegel ohne jede Abweichung direkt in das Objektiv.

Mit einem Wasserimmersionsobjektiv tritt jedoch eine Brechung der Strahlen im Bereich Glas - Wasser auf. Das Objektiv muss für diese geringfügige Abweichungen korrigiert werden, und ein offensichtliches Problem ist hier, dass die Dicke des Deckglases die Höhe der erforderlichen Korrektur beeinflusst. Dies ist insbesondere dann der Fall bei Wasserimmersionsobjektiven mit hoher Leistung. Diese haben in der Regel einen Korrektur-Ring, mit dem die Deckglasdicke zwischen 0,10 und 0,20 mm eingestellt werden kann.

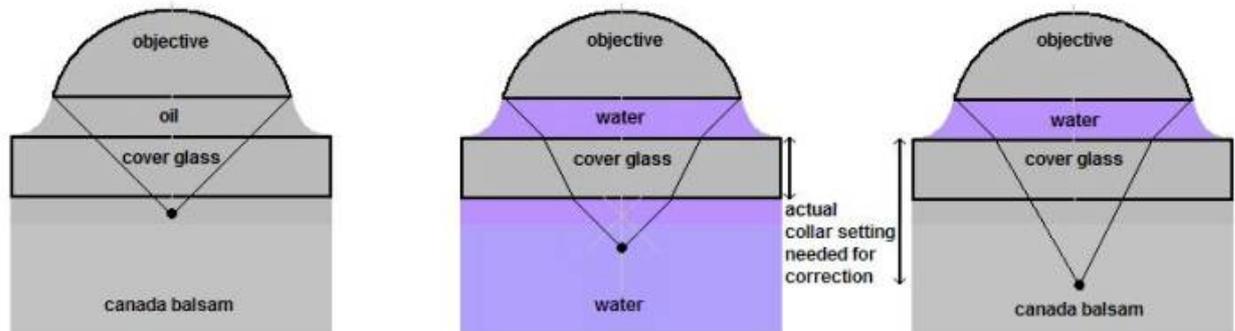


Abbildung 1:

Schematischer Strahlengang eines Ölimmersion- im Vergleich zu einem Wasserimmersionsobjektiv, konzipiert für den Einsatz mit Deckgläsern. Aufgrund der Unterschiede im Brechungsindex, braucht ein Wasserimmersionsobjektiv eine Objektivkorrektur, deren Höhe abhängig von der Dicke des Deckglases ist. Wenn ein Dauerpräparat mit einem Wasserimmersionsobjektiv verwendet wird, muss die Stärke des Einbettungsmittels zur Dicke des Deckglases hinzugefügt werden. Natürlich, für eine homogene (Öl) Immersion gibt es keine Licht Abweichung, daher sind diese Objektive natürlich nicht empfindlich auf Dickenvariationen des Deckglases. Sie können genauso gut ohne Deckglas verwendet werden, zum Beispiel bei Präparaten mit getrocknetem Blut oder Bakterien.

Dies ist eindeutig nicht mit einem Wasserimmersionsobjektiv hoher Apertur möglich: wenn das Objektiv für die Verwendung mit einem Deckglas konzipiert ist, wird das Bild unscharf, wenn das Deckglas weggelassen wird. Dies wird durch die sphärische Aberration verursacht, und dies geschieht auch mit Nicht-Immersionsobjektiven. ein gewöhnliches 40/0.65 Trockenobjektiv zum Beispiel gibt kein gutes Bild ohne Deckglas, es sei denn, es wurde speziell entwickelt, um auf diese Weise verwendet zu werden (Mikroskope für Halbleiterindustrie, Metallurgie).

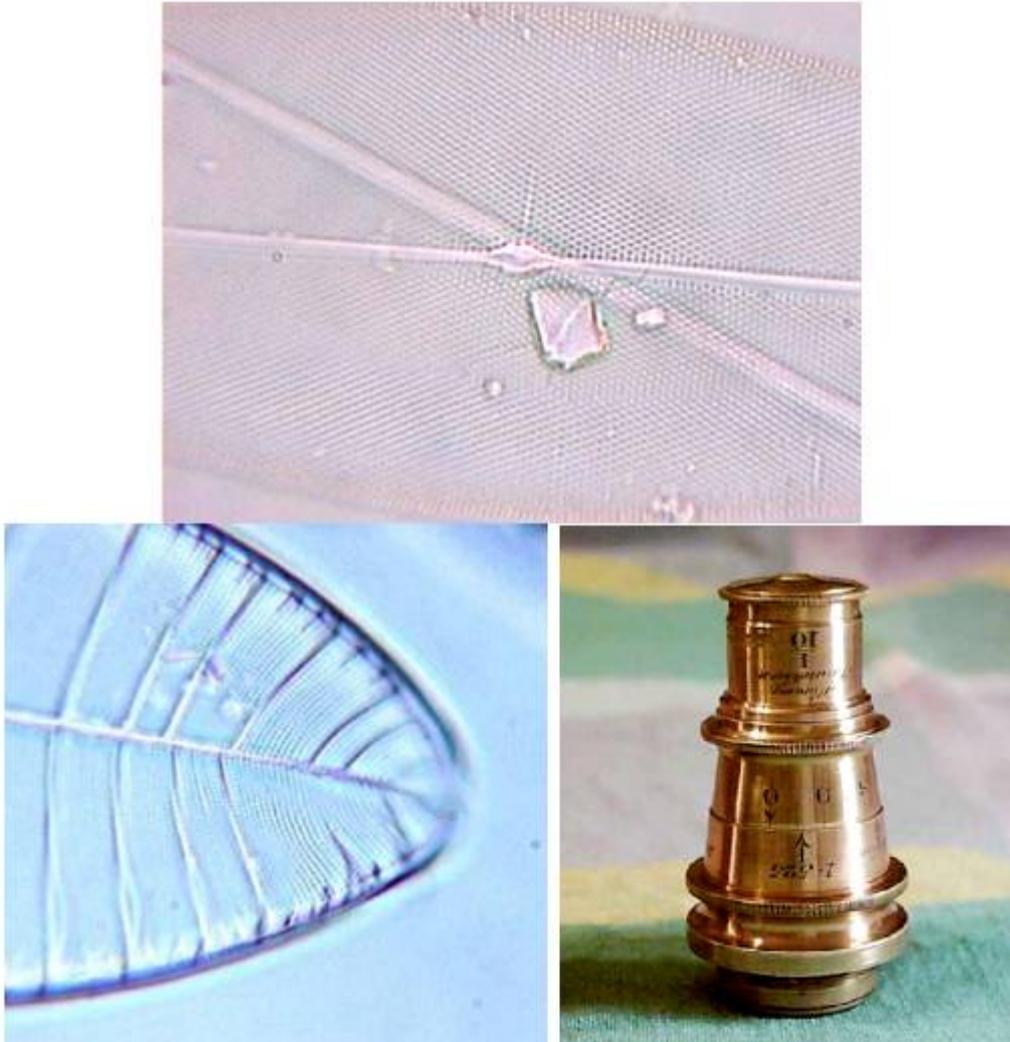
Im Vergleich zu Trockenobjektiven, sind Wasserimmersionsojektive natürlich weniger empfindlich für diese optische Aberration, da die Differenz von Glas zu Wasser kleiner ist als von Glas zu Luft (mit einem Trockenobjektiv). Es ergibt sich die Notwendigkeit für eine Korrekturfassung auf einem Wasserimmersionsobjektiv auf eine etwas höhere NA von rund 0,9. So ein Wasserimmersionsobjektiv mit typischer mittlerer Leistung wie das LOMO 40/0.75 WI-Objektiv kann erfolgreich mit oder ohne Deckglas verwendet werden.

Die Entwicklung dieser Art von Immersionsojektiven war eigentlich hauptsächlich mit dem Bau von Wasserimmersionsojektiven betroffenen ab ca. 1850. Sehen Sie eine interessante Zusammenfassung zu diesem Thema:

[http://www.smecc.org/history\\_of\\_oil\\_immersion\\_lenses.htm](http://www.smecc.org/history_of_oil_immersion_lenses.htm) von James Solliday.

Die ersten Immersionsojektive in der Produktion waren nicht so gut wie die besten Trockenobjektive in jenen Tagen, aber einige Arbeiter waren überzeugt, eine höhere Auflösung könnte durch Immersion gewonnen werden. Es gab eine recht böse Auseinandersetzung zwischen ein paar prominenten Mikroskopikern in der Zeit, die schließlich in den 1870ern abgewickelt wurde.

(Siehe [http://www.smecc.org/the\\_aperture\\_wars.htm](http://www.smecc.org/the_aperture_wars.htm) von James Solliday).



Abbildungen 2-4:

Bereits 1870 wurden herausragende Beispiele optischer Zauberei produziert. Diese Bilder wurden mit einer 1:10 Immersionslinse, um 1875 von Robert J. Tolles und mit Korrektur vorgenommenen Einstellungen zum Eintauchen mit Wasser bis zur Zedernholzöl gemacht. *Pleurosigma angulatum* (links) und *Surirella gemma* (rechts), zwei bekannte Test Kieselalgen für die Mikroskopie. Bilder mit freundlicher Genehmigung von Mervyn Hobden.



Abbildungen 5-7:

Ein Zeiss 'J' Achromat Wasserimmersionsobjektiv von circa 1880 ist auch in der Lage Bilder zu geben, die im Vergleich zu modernen Äquivalent Objektiven überraschend gut sind. Dieses Objektiv beinhaltet eine Korrekturfassung zum Ausgleich des Unterschiedes in der Deckglasdicke. Pleurosigma angulatum (links) und Nitzschia sigma (rechts). Bilder mit freundlicher Genehmigung von Mervyn Hobden.

Newfound Beliebtheit von Wasserimmersionsobjektiven.

Um 1900 stand eine umfangreiche Auswahl an Wasserimmersionsobjektiven zur Verfügung, die im Laufe des ganzen 20. Jahrhunderts abnahm. Allerdings ist das Interesse an Wasserimmersionsobjektiven im professionellen Bereich seit den 1990er Jahren stetig gewachsen.

Mit dem Schwerpunkt der heutigen Forschung auf Lebenduntersuchung war es leicht klar, dass die unvermeidbaren Wasser (Kochsalzlösung) Montageverfahren für frische biologische Proben ernsthafte Probleme hervorgerufen hätten. Im Vergleich zu Harzen wie Kanadabalsam, die ähnliche optische Eigenschaften von Glas und Immersionsöl haben, ist eine Wasser Probe nicht ideal für eine Ölimmersionsobjektiv. Bei einer Wasserschicht von nur 0,05 mm zwischen Probe und Deckglas verschlechtert sich die Auflösung eines 60/1.4 Ölimmersion um über 50% und senkt den Kontrast. Im Gegensatz dazu führt eine 60/1.2 Wasserimmersion seine Leistung sehr gut über mindestens 0,15 mm Wasser

Von Nikon <http://microscopyu.com/articles/optics/waterimmersionobjectives.html>

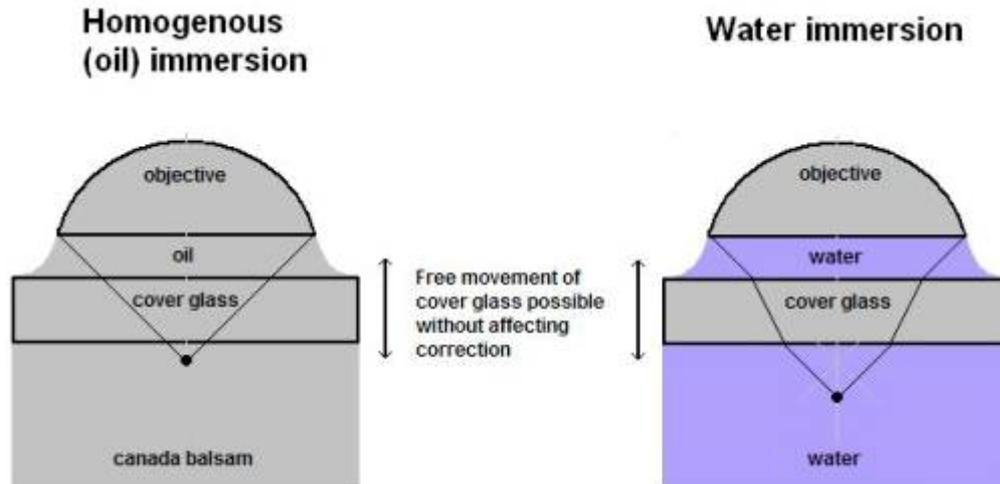


Abbildung 8:

Homogene- (Öl) und Wasserimmersion. Innerhalb der Grenzen nach Entfernung des Objektivs auf die Probe eingestellt, kann das Deckglas auf und ab bewegt werden (oder die Linse kann tiefer in die Probe fokussiert werden) ohne die Bildqualität zu beeinträchtigen. Dies ist nur möglich, wenn das Immersionsmedium vergleichbar mit dem Eindeckmedium ist.

Nur wegen der Unempfindlichkeit der Wasserimmersionsobjektive gegenüber der Stärke des Präparates, können diese Objektive in die Probe tief mit großer Klarheit und Genauigkeit.

Ein Ölimmersionsobjektiv könnte dies auch tun, wenn es mit einer Korrekturfassung ausgestattet ist; es muss für aber jede Tiefe neu eingestellt werden (das ist sehr unpraktisch, aber sie sind in der Tat die für spezielle Anwendungen produziert worden). Doch in den hier verwendeten Bedingungen gibt es keinen Gewinn, da der limitierende Faktor in diesem System immer noch die Wasser-Glas-Grenzfläche ist (Probe/Glasabdeckung), und dies begrenzt die NA theoretisch auf 1,33 (d.h. der Brechungsindex von Wasser) und praktisch auf rund 1,25.

Die Vorteile des Wasserimmersionsobjektives für Lebendbeobachtungen sind bekannt, und die modernen und sehr teuren konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop-Systeme sind heute oft als Standard mit Wasserimmersionsobjektiven ausgestattet. Leider sind für diese modernen Anwendungen die Anforderungen an diese Linsen sehr hoch, und der daraus resultierende Preisrahmen für eine einzelne Linse kann leicht bis zum 10fachen des Preises betragen, welchen ein Amateur auf eine ganzes Mikroskop ausgeben will.

Zum Glück gibt es alternative Quellen für Wasserimmersionsobjektive. Am bekanntesten ist der russische Hersteller LOMO, welcher noch eine Reihe von Wasserimmersionsobjektiven produzierte.



Abbildung 9:

Eine Reihe von neueren Lomo Wasserimmersionsobjektiven: Zwei Achromaten 40/0.75 und 85/1.0 und ein Apochromat 70/1.23, die beiden letzteren mit einer Korrekturfassung für Korrektur der Deckglasdicke. Die 40x und 70x-Objektive sind Zeiss Entwürfe aus dem Jahr 1890 (!)

Referenzen und Auszeichnungen

Vielen Dank an Mervyn Hobden für seine freundliche Erlaubnis für die Bilder, die er mit dem Jahrgang Tolles und Zeiss Objektiven gemacht hat.

Paul James hat einen ausgezeichneten Artikel in Micscape geschrieben:

<http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artoct04/pjwater.html>

Eine gute Übersicht der Immersion ist gegeben

<http://microscopy.fsu.edu/primer/anatomy/immersion.html>

Einen Überblick über die moderne Nutzung von Wasserimmersionsobjektiven finden Sie auf <http://microscopyu.com/articles/optics/waterimmersionobjectives.html>

Die herrlichen Stücke der Forschung in historischer Mikroskopie von James Solliday begann ursprünglich mit einer Diskussion über die (Un-) Möglichkeit des Sehens sehr feiner Kieselalgen Details mit Objektiven, die theoretisch diese Details nicht zulassen. Alle Kommentare an den Autor Rene van Wezel sind willkommen.

Microscopy UK Front Page

Micscape Magazine

Artikel-Bibliothek

---

© Microscopy Großbritannien oder deren Lieferanten.

Veröffentlicht in der April-Ausgabe 2005 des Micscape.

Bitte melden Sie alle Web Probleme oder bieten allgemeine Anmerkungen zu den Micscape Editor .

Micscape ist die online Monatszeitschrift der Mikroskopie UK-Website unter Microscopy-UK

---

© Onview.net Ltd, Microscopy-UK, und alle Mitwirkenden ab 1995. Alle Rechte vorbehalten. Main site ist [www.microscopy-uk.org.uk](http://www.microscopy-uk.org.uk) mit voller Spiegel [www.microscopy-uk.net](http://www.microscopy-uk.net) .

Letzte Änderungen: 05.03.2014