

Wie funktioniert eigentlich das Phasenkontrastverfahren?

Das **Phasenkontrastverfahren** ist ein von F. Zernike entwickeltes Verfahren der Mikroskopie zur Erzeugung von Bildkontrasten, bei dem die **Phasenänderungen**, die das Licht an einem Objekt erfährt, in (sichtbare) **Intensitätsänderungen** umgewandelt werden.

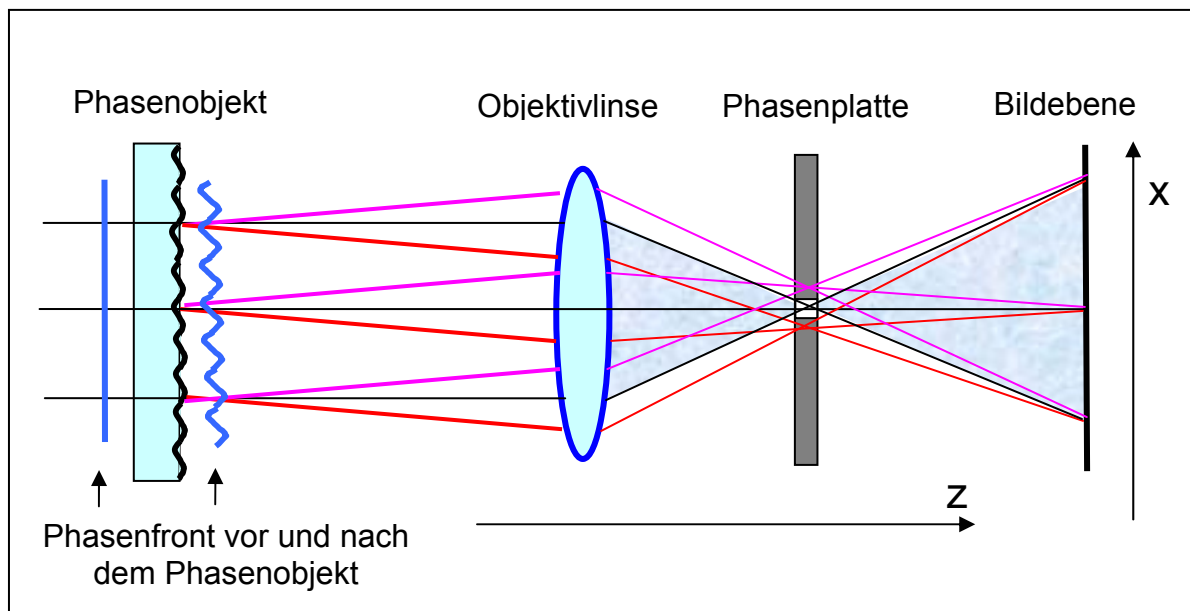
Mikroskopiert man ein Phasenobjekt ohne Phasenkontrastverfahren, so sieht man als Bild nur einen hellen strukturlosen Fleck. Das rührt daher, weil nur Änderungen des **Betrags der elektrischen Feldstärke** zu einem „sehbaren“ Kontrast im Bild führen. Mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens können auch lokale optische Weglängenunterschiede im Objekt (z.B. weil sich z.B. lokal die Dicke oder die Brechzahl ändern) als Helligkeitsunterschiede im Bild sichtbar gemacht werden.

Phasenobjekt:

Um das Verfahren zu verstehen, betrachten wir ein Phasenobjekt. Das kann beispielsweise eine Glasplatte sein, deren eine Oberfläche in x-Richtung waschbrettförmig gewellt ist. Damit wird die Glasplattendicke D von x abhängig:

$$D(x) = D_0 + h \cdot \cos(2\pi x/\Lambda) \quad (1)$$

[h - Amplitude der Oberflächenwelligkeit, Λ - Wellenlänge der Oberflächenwelligkeit]. Durchstrahlt man diese Glasplatte und bildet sie ab, so kann man zwar ein Beugungsbild beobachten, aber in der Bildebene erscheint ein strukturloser heller Fleck, der nichts über die Oberflächenwelligkeit aussagt.



Jetzt soll ein Lichtstrahl (eine ebene Welle $E(x, y, z, t) = A \cdot e^{j(\omega t - k \cdot z)}$ mit konstanter Feldstärkeamplitude A) auf die gewellte Glasplatte fallen. Wir interessieren uns im weiteren nur für die Feldstärkeamplitude $A(x, y)$ in der Bildebene und nehmen vereinfachend eine 1:1 Abbildung an..

Vor dem Phasenobjekt ist die Feldstärkeverteilung also konstant $A(x, y) = A$. Nach Durchlaufen der Glasplatte werden die ebenen Wellenfronten der Lichtwelle wegen der unterschiedlichen, x -abhängigen Dicke auch x -abhängig verbogen.

Die Amplitude wird komplex $A(x,y)=A \cdot e^{j\varphi(x,y)}$.

Hinter dem Phasenobjekt hat die Phasenfront jetzt die Gestalt

$$\varphi(x, y) = \varepsilon \cdot \cos(2\pi \cdot x / \Lambda). \quad (2)$$

Dabei ist ε der „Phasenhub“ $\varepsilon = \frac{(n-1) \cdot h}{\lambda}$ (n - Glasbrechzahl, λ - Lichtwellenlänge).

Ab jetzt betrachten wir nur noch die x -Abhängigkeit der Amplitude!

Für $\varepsilon \ll 1$ kann man die Exponentialform nähern ($e^x \approx 1+x$) und erhält

$$\begin{aligned} A(x) &\approx A \cdot e^{j \cdot \varphi(x)} \\ &= A \cdot (1 + j \cdot \varepsilon \cdot \cos(2\pi \cdot x / \Lambda)) \\ &= A + j \cdot A \cdot \varepsilon \cdot \cos(2\pi \cdot x / \Lambda) \end{aligned} \quad (3)$$

Da die „sehbare“ Intensität proportional zum Feldstärkebetragsquadrat in der Bildebene ist

$$I_B(x) \sim |E(x)|^2 = |A(x)|^2, \quad (4)$$

kann man für die **phasenmodulierte Amplitude** keine Struktur erkennen, denn $|A(x)|^2 \approx const.$

Führt man aber eine **Phasenverschiebung von $\pm \pi/2$** (modulo 2π) im ersten oder zweiten Term der Gl.(3) ein, so erhält man eine **Modulation des Amplitudenbetrags**, die zu einem Intensitätskontrast führt.

Beugung am Phasenobjekt:

Wie man auch im Experiment sofort sehen kann, wird an dem Phasenobjekt (d.h. am Oberflächenprofil der Glasplatte = Phasengitter) die Welle gebeugt. Wir wissen, dass generell die Verformung bzw. Krümmung der Wellenfronten immer mit einem Auseinanderlaufen (Beugung) des Lichtstrahls verbunden ist.

Bei Beugung an einem Sinusgitter (Gl.1) treten immer **3 verschiedene Beugungsrichtungen** unter dem Winkel α zur optischen Achse auf:

- 0. Beugungsordnung: Amplitude A Richtung $\alpha = 0$,
- ± 1 . Beugungsordnung: Amplitude $j \cdot \varepsilon \cdot A$ Richtung $\alpha_{\pm 1} = \pm (2\pi x / \Lambda)$,

Die Winkelverteilung der Beugungsrichtungen (das ist das so genannte Richtungspektrum der Feldstärke des gebeugten Lichtstrahls) ist also:

$$E(\alpha) = E \cdot \delta(0) + j \cdot E \cdot \varepsilon \cdot \delta(\alpha_{+1}) - j \cdot E \cdot \varepsilon \cdot \delta(\alpha_{-1}) \quad (5)$$

wobei mit dem Symbol δ die Deltafunktion bezeichnet wird.

Abbildung mit Objektivlinse:

Mit Hilfe der Objektivlinse werden die gebeugten Strahlen in der Bildebene zusammengeführt und überlagert. Zur Vereinfachung nehmen wir eine 1:1 Abbildung an. Die **Lichtintensität in der Bildebene ist proportional zu $|A_B(x)|^2$** . Wir betrachten jetzt 2 Fälle:

1) unbeeinflusste Abbildung (d.h. ohne Phasenplatte in der hinteren Brennebene der Objektivlinse):

Wenn wir die auflösungsbegrenzenden Effekte infolge des endlichen Durchmessers der Objektivlinse nicht berücksichtigen, so finden wir in der Bildebene wieder die komplexe (allerdings umgekehrte) Feldstärkeamplitude wie in Gl.(3). Damit wird

$$\begin{aligned} I(x) &\sim A^2 \cdot (1 + j \cdot \varepsilon) \cdot (1 - j \cdot \varepsilon) \\ &= A^2 \cdot (1 + \varepsilon^2) \approx A^2 = \text{const.} \end{aligned} \quad (6)$$

Es entsteht nur ein gleichmäßig heller Fleck. Die Struktur des Phasenobjekts wird demnach im durchfallenden Licht nicht gesehen.

2) modifizierte Abbildung mit Phasenplatte in der hinteren Brennebene der Objektivlinse:

In die hintere Brennebene der Objektivlinse wird jetzt eine **Phasenplatte** eingesetzt. Das ist im einfachsten Fall (so auch im Versuch 413) eine transparente Scheibe, die in der Mitte (nämlich dort, wohin die 0. Beugungsordnung fokussiert wird) ein Loch hat. Hier ist die optische Weglänge gleich der Scheibendicke d . Treten die höheren Beugungsordnungen aber am Loch vorbei durch die Scheibe hindurch, so ist dort der optische Weg $n_{\text{Scheibe}} \cdot d$. **Hinter der Phasenplatte haben also die höheren Beugungsordnungen gegenüber der 0. Beugungsordnung einen längeren Weg $d \cdot (n_{\text{Scheibe}} - 1)$ zurückgelegt.**

Zur Vereinfachung (und ohne Beschränkung der Allgemeinheit) wollen wir annehmen, dass dieser Wegdifferenz eine Phasenverschiebung von $-\pi/2$ (modulo 2π) entspricht.

Damit erfährt die Feldstärke in der 0. Beugungsordnung eine Phasenverschiebung gegenüber den höheren Beugungsordnungen von $-\pi/2$ (d.h. $e^{-j\pi/2} = -j$). Die Amplitude der 0. Beugungsordnung ist das 1. Glied in Gl.(5) wird mit „-j“ multipliziert, und die Überlagerung aller 3 Beugungsordnungen in der Bildebene führt damit zur resultierenden Amplitude

$$A_B(x) \approx -j \cdot A + j \cdot A \cdot \varepsilon \cdot \cos(2\pi \cdot x / \Lambda) = -j \cdot A \cdot (1 - \varepsilon \cdot \cos(2\pi \cdot x / \Lambda)) \quad (7)$$

Diese Feldstärkeverteilung besitzt jetzt – im Unterschied zu Gl.(2) – **nur noch eine Komponente** im Komplexen und führt zur Intensitätsverteilung in der Bildebene

$$I(x) \sim |A_B(x)|^2 \approx A^2 \left[1 - 2\varepsilon \cdot \cos\left(2\pi \cdot \frac{x}{\Lambda}\right) \right] \quad (8)$$

Diese Intensitätsverteilung ist ortsabhängig und weist ebenso wie das Phasenobjekt eine Periodizität in x-Richtung auf.

Das Phasenobjekt wird jetzt als Intensitätsbild gesehen!

Eine Phasenverschiebung von $+\pi/2$ führt wegen $I(x) \sim A^2 \left[1 + 2\varepsilon \cdot \cos\left(2\pi \cdot \frac{x}{\Lambda}\right) \right]$ zu einer Kontrastumkehr des Bildes.

Eine ausführliche Darstellung der verschiedenen Möglichkeiten des Mikroskopierens finden Sie im Internet unter:

<http://www.mikroskopie.de/kurse/index.htm>
<http://www.mikroskopie.de/kurse/phasenstrahl.htm>