

Moment mal ... (xx): Wie ist das optische Auflösungsvermögen definiert?

O. Passon u. J. Grebe-Ellis

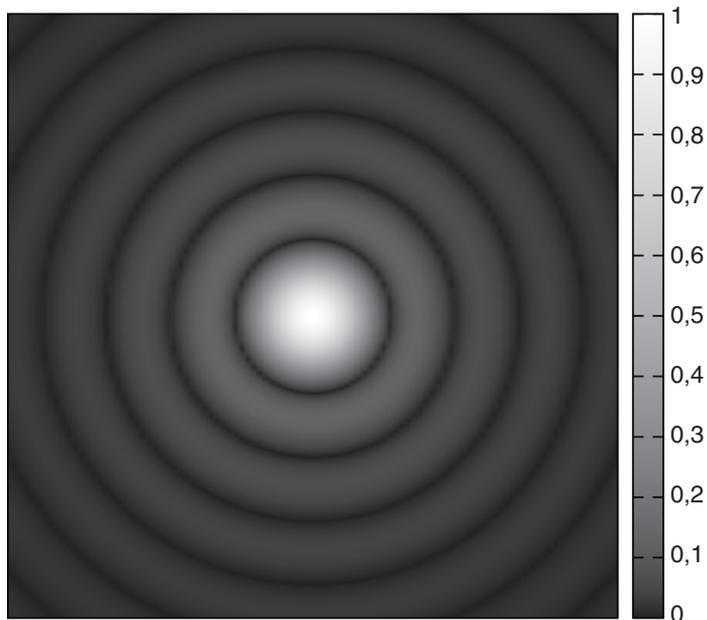
1 Das Auflösungsvermögen in üblicher Darstellung

Betrachtet man einen Stern durch ein optisches Teleskop sieht man natürlich keinen „Punkt“ und streng genommen auch nicht bloß eine kleine Kreisscheibe, sondern (bei günstigen Beobachtungsbedingungen) eine von konzentrischen Ringen umgebene Kreisscheibe (siehe Abb. 1). Erklärt wird dies durch Beugung an der (typischerweise) kreisförmigen Apertur und die dunklen Ringe entsprechen den Ordnungen der Beugungsminima. Für einen Einzelspalt der Breite d und eine Beleuchtung mit der Wellenlänge λ ergäbe sich $\sin \alpha_1 = \lambda/d$ als Bedingung für den Winkel zum ersten Minimum. Bei einer Kreisöffnung findet man $\alpha_1 = 1,22 \lambda/d$ (mit d dem Durchmesser der Kreisblende). Bekanntlich hat Rayleigh [1] 1874 vorgeschlagen, dass zwei Punktquellen noch „aufgelöst“ werden können, wenn ihr Winkelabstand mindestens den Wert $\Delta\alpha = \alpha_1$ hat (d.h., wenn der Mittelpunkt der zentralen Kreisscheibe – auch Airy-Scheibe genannt – gerade mit dem Rand der anderen zusammenfällt). In der Mikroskopie interessiert man sich stattdessen für den kleinsten aufzulösenden räumlichen Abstand. In der Kleinwinkelnäherung und mithilfe des Strahlensatzes (bei Schülern sehr unbeliebt) findet man $\Delta\alpha = \Delta x/g$. Hier bezeichnet Δx den Punktquellenabstand in der Gegenstandsebene und g die Gegenstandsweite, die bei einem Mikroskop ungefähr gleich der Brennweite f ist. Man erhält also auch eine entsprechende Beziehung für das räumliche Auflösungsvermögen eines Mikroskops (wir verzichten auf den Faktor 1,22):

$$\Delta x = \frac{\lambda f}{d}. \quad (1)$$

Der Metzler bemerkt dazu [2, S. 311]: „Die Wellennatur des Lichts setzt dem Auflösungsvermögen aller optischer Geräte (wie auch dem Auge) eine natürliche, prinzipiell nicht überschreitbare Grenze, die von der Wellenlänge des benutzten Lichts und dem Durchmesser der beugenden Öffnung abhängt“. Ähnliche Bemerkungen finden sich in zahlreichen Lehrbüchern und insbesondere folgen alle untersuchten Texte

Abb. 1: Beugungsmuster einer Punktquelle an einer Kreisblende.



dem selben Muster der Herleitung [3-5]. Der Dorn-Bader diskutiert sogar die Nahfeld-Mikroskopiemethode SNOM („scanning nearfield optical microscope“) [5, S. 379], mit der diese Auflösungsgrenze nur umgangen werden kann, da sie evaneszente Wellen verwendet. Dadurch wird erst recht der Eindruck erweckt, dass in der Fernfeldmikroskopie die Beugungsgrenze nicht unterboten werden kann.

2 Fachliche Mängel und ihre Lösung

Unser Beitrag will nun auf verschiedene Probleme dieser Darstellung aufmerksam machen. Zum einen ist das oben eingeführte Rayleigh-Kriterium nicht geeignet, eine „prinzipielle“ Auflösungsgrenze zu begründen (siehe Abschnitt 2.2). Dies ist jedoch bereits 1873 Ernst Abbe gelungen und die Grundidee seines Arguments ist sogar noch viel simpler und schultauglicher, als der oben geschilderte Versuch, das Rayleigh-Kriterium anzuwenden (siehe Abschnitt 2.1). Gleichzeitig kann man leicht einsehen, dass mit all diesen Argumenten irgendetwas nicht stimmen kann, denn moderne Fernfeld-Mikroskopiemethoden unterbieten die Auflösungsgrenze leicht um eine Größenordnung. Wie dies gelingt und was dies für das Auflösungsvermögen bedeutet werden wir in Abschnitt 2.3 und der Zusammenfassung ansprechen.

2.1 Ernst Abbes Begründung der Auflösungsgrenze

Ernst Abbe hat 1873 die Frage der maximalen Auflösung von Mikroskopen analysiert [6]. Sein Ausgangspunkt waren keine Punktquellen, sondern periodische Strukturen. Ganz konkret hat er die Frage untersucht, welchen minimalen Strichabstand d ein optisches Gitter haben darf, damit seine Abbildung unter einem Mikroskop noch gelingt (man beachte: das Gitter soll abgebildet werden – und nicht sein Beugungsmuster). Ohne auf Details des von ihm skizzierten Abbildungsvorgangs einzugehen, ist folgende Überlegung sicherlich plausibel: Um besagtes Gitter abbilden zu können, muss *mindestens* die erste Beugungsordnung im Öffnungswinkel des Objektivs liegen. Bezeichnet man mit α den halben Öffnungswinkel des Objektivs (vgl. Abb. 2 b), muss also $\sin \alpha \geq \lambda/d$ gelten. Ist d kleiner als die Wellenlänge, dringt nur die nullte Ordnung durch das Objektiv und das Bild wird kein Gitter zeigen, sondern eine homogen ausgeleuchtete Fläche (siehe Abb. 2c). Daraus folgt jedoch für den kleinsten aufzulösenden Abstand:

$$d_{\min} = \frac{\lambda}{\sin \alpha} \quad (2)$$

Bei senkrechter Beleuchtung (vgl. Abb. 2) treten sogar „beide“ ersten Ordnungen

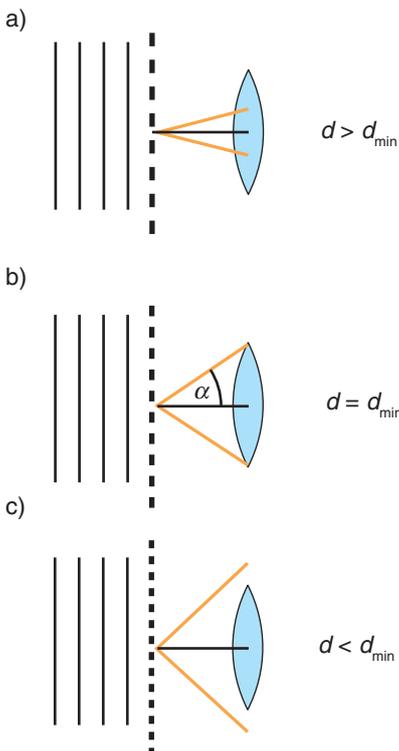


Abb. 2: Skizze zur Abbildung eines optischen Gitters mit verschiedenen Gitterkonstanten d . Von links wird das Gitter beleuchtet. Dargestellt sind die Winkel von 0. und 1. Beugungsordnung. Bei a) und b) gelingt die Abbildung. Im Falle von c) ist die Apertur zu gering (bzw. die Gitterkonstante zu klein).

(also +1. und -1.) in das Objektiv ein. Unter schrägem Lichteinfall gelingt es, dass nur die Nullte und lediglich eine erste Ordnung zur Abbildung beitragen. Dies ist bereits ausreichend, um in der Bildebene das Gitter erkennen zu können und man gewinnt einen Faktor 2 im Nenner der Beziehung (2). Zusätzlich kann durch ein Medium mit Brechzahl n zwischen Objekt und Objektiv die effektive Wellenlänge auf λ/n reduziert werden und man erhält schließlich die berühmte Abbe-Grenze (auch Beugungsgrenze genannt):

$$d_{\min} = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha} \quad (3)$$

Für die Größe $NA = n \sin \alpha$ wurde von Abbe der Ausdruck „numerische Apertur“ (NA) eingeführt. Der halbe Öffnungswinkel ist offensichtlich $\leq 90^\circ$, aber durch die Wahl eines stark brechenden Mediums (z. B. Öl) kann sogar ein Wert von $NA \approx 1,4$ erreicht werden. Als Faustregel gilt, dass der kleinste aufzulösende Abstand eines abbildenden Systems bei der halben Wellenlänge liegt (in der Lichtmikroskopie ca. $0,2 \mu\text{m}$). Man erkennt, dass hier (im Gegensatz zum Rayleigh-Kriterium; siehe Abschnitt 2.2) tatsächlich eine strenge Grenze begründet wird, denn die erste Beugungsordnung fällt entweder in das Objektiv oder nicht.

2.2 Anmerkungen zum Rayleigh-Kriterium

Kehren wir nun zum Rayleigh-Kriterium zurück, das in den meisten Schulbüchern verwendet wird, um das Auflösungsvermögen (und seine prinzipielle Grenze) zu begründen. Tatsächlich könnte bereits einem aufgeweckten Schüler auffallen, dass dieses Argument nicht wirklich triftig ist. Der Behauptung, zwei Quellen können gerade dann noch unterschieden werden, wenn das Maximum des einen Beugungsmusters mit dem ersten Minimum des zweiten zusammen fällt, haftet etwas Willkürliches an. Warum sollte bei einem etwas geringeren Abstand die Auflösung der beiden Quellen plötzlich nicht mehr gelingen? Dies hat bereits Rayleigh eingeräumt, wenn er schreibt [7, S. 267]: „This rule is convenient on account of its simplicity; and it is sufficiently accurate in view of the necessary uncertainty as to what exactly is meant by resolution“. Folglich existieren auch eine ganze Reihe anderer „Auflösungs-Kriterien“ und anscheinend spielt beim Rayleigh-Kriterium neben seiner Einfachheit auch eine Rolle, dass zwei Punktquellen im besagten Abstand mithilfe des Auges verlässlich und bequem unterschieden werden können. Hier wird also nicht bloß das „optische System“ charakterisiert, sondern ebenso das „visuelle System“, mit dessen Hilfe die Bilddaten „ausgewertet“ werden. Seit Rayleighs Zeiten wurden jedoch beträchtliche Fortschritte bei der Entwicklung optischer Sensoren und computergestützter Bilddatenauswertung gemacht. Mithilfe solcher Systeme gelingt zum Beispiel die Lokalisierung isolierter Moleküle mit einer Genauigkeit von bis zu 1 nm (bei einer verwendeten Wellenlänge von $\lambda \approx 500 \text{ nm}$ [8]). Technisch gesprochen ist das Beugungsmuster aus Abb. 1 dann nämlich die Wahrscheinlichkeitsverteilung für den Ort der Punktquelle und dessen Zentrum (also der Ort der Quelle) kann mit einer Genauigkeit geschätzt werden, die nur durch praktische Einflüsse wie endliche Zählraten, Rauschen, Pixelgröße und Untergrundeignisse begrenzt ist. Diese hochpräzise Lokalisierung ist im Übrigen die Grundidee einer Klasse von sogenannten „superauflösenden“ Mikroskopen. Darunter versteht man Techniken, die die Abbe-Grenze (Gleichung 3) unterbieten.

2.3 Mikroskopie mit „Superauflösung“

Weiß man von einem Objekt, dass es isoliert ist, kann seine Ortsbestimmung mit einer theoretisch unbegrenzten Genauigkeit erfolgen. Nun besteht das typische Objekt der Lichtmikroskopie (etwa in

der Biologie) gerade nicht aus isolierten Molekülen. Die vor ca. 10 Jahren entwickelten Methoden PALM (*photo-activated localization microscopy*) [9] und STORM (*stochastic optical reconstruction microscopy*) [10] verwenden deshalb einen Trick. Es handelt sich bei ihnen um Verfahren der sogenannten Fluoreszenz-Mikroskopie, d. h., sie untersuchen Objekte, die (etwa durch einen Laser angeregt) selber Licht aussenden. Die Entwicklung dieser Methoden geht nun Hand in Hand mit der Erforschung und Entwicklung spezieller fluoreszierender Moleküle, deren Verhalten aktiv manipuliert werden kann. Beiden Gruppen ist es gelungen, durch spezielle An- und erzwungene Abregung jeweils nur zufällige Teilpopulationen der Farbstoffe gleichzeitig „leuchten“ zu lassen. Ist der jeweilige Abstand zwischen gleichzeitig leuchtenden Molekülen größer als der Radius der Airy-Scheibe, gelingt ihre hochpräzise Ortsbestimmung wie in Abschnitt 2.2 skizziert und ein (unvollständiges) Bild des Objektes kann registriert werden. Wiederholt man diesen Prozess viele 100-mal, kann man durch Überlagerung dieser Teilbilder den gesamten Gegenstand rekonstruieren. Auf diese Weise erzielt man Auflösungen von 10 – 50 nm innerhalb der optischen Mikroskopie (also mit $\lambda \approx 500 \text{ nm}$). Die Abbe-Grenze wird hier also bis zu einem Faktor von 25 unterboten!

3 Zusammenfassung, oder: Gibt es eine fundamentale Grenze der Auflösung?

Die Auflösungsgrenze von Abbe (Gleichung 3) ist gebrochen und für die Entwicklung der entsprechenden optischen Femfeld-Mikroskope (gelegentlich als „Nanoskope“ bezeichnet) haben Eric Betzig, Stefan Hell und William Moerner 2014 den Chemie-Nobelpreis erhalten [11]. Entscheidend für diesen Durchbruch war die Berücksichtigung der Wechselwirkung mit den fluoreszierenden Molekülen, während Abbe von einer homogenen Beleuchtung und einem „Standard-Design“ für die Lichtsensoren ausgegangen ist.

Jedoch ist die in Abschnitt 2.1 skizzierte Herleitung der Abbe-Grenze noch in einem anderen Punkt problematisch. Dadurch, dass Abbe lediglich die Hauptmaxima der Beugung berücksichtigte, ging er praktisch von einem unendlich ausgedehnten Gitter aus. Jedes endliche Gitter (oder allg. jeder endliche Gegenstand) erzeugt nämlich zusätzliche Nebenmaxima (siehe etwa [2], S. 309)). Diese Nebenmaxima enthalten jedoch Informationen über räumliche Strukturen, die unterhalb der angeblichen „Auflösungsgrenze“ liegen (d. h., sie dringen in

das Objektiv auch dann ein, wenn das zugehörige Hauptmaximum außerhalb seines Akzeptanzwinkels liegt). Diese Informationen auszuwerten ist zwar praktisch schwierig, da sie äußerst sensibel vom „Rauschen“ der Daten abhängen [12], aber auf diese konzeptionelle Schwäche der Abbe-Grenze wurde seit den 1950er Jahren hingewiesen [13]. Als „fundamentale“ Grenze für die Auflösung kann Gleichung (3) bereits seitdem nicht mehr gelten. Vor dem Hintergrund dieser Tatsache sowie den supraauflösenden Mikroskopiermethoden (von denen Abschnitt 2.3 nur eine Klasse vorgestellt hat) muss man feststellen, dass die räumliche Auflösung abbildender Systeme keiner prinzipiellen Grenze unterliegt. Die einzige Ursache für die tatsächliche Begrenzung des Auflösungsvermögens ist die endliche Signalstärke und die Güte der Daten (d. h. das sogenannte Signal-Rausch-Verhältnis).

Die Abbe'sche Beugungsgrenze bleibt hingegen ein wichtiges Hilfsmittel zur Abschätzung des Auflösungsvermögens konventioneller optischer Systeme (alle Arten von Teleskopen gehören etwa in diese Klasse). Der in Abschnitt 2.1 skizzierte Versuch kann sogar mit Mitteln der Schulphysik durchgeführt werden [14] und knüpft unmittelbar an die schulübliche Behandlung von Interferenz am Gitter an, während die Beugung am Einfachspalt in einigen

Bundesländern curricular gar nicht mehr verankert ist. Von dem Begriff der Auflösungs-grenze eines Mikroskops kann dann ebenfalls die Einführung der Heisenberg'schen Unschärferelation profitieren [15].

Literatur

- [1] Rayleigh, J. W. (1874). On the manufacture and theory of diffraction-gratings. *Philosophical Magazine Series 4* 47(310): 81-93.
- [2] Grehn, J. und J. Krause (Hrsg.) (2008). *Metzler Physik*, 4. Auflage. Schroedel: Braunschweig.
- [3] Bayer, R. et al. (2007). *Impulse Physik Oberstufe*. Klett: Stuttgart.
- [4] Meyer, L. und G. Schmidt (2006). *Physik Gymnasiale Oberstufe (Ausgabe für Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern)*, Duden Verlag: Berlin.
- [5] Bader, F. (Hrsg.) (2012). *Dorn-Bader Gymnasium Gesamtband Sek II (10. Auflage)*. Schroedel: Braunschweig.
- [6] Abbe, Ernst (1873). Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung. *Archiv für mikroskopische Anatomie* 9(1): 413-468.
- [7] Rayleigh, J. W. (1879). Investigations in Optics, with special reference to the Spectroscope. *Philosophical Magazine Series 5* 8(49) 261-274.
- [8] Yildiz, A. und P. R. Selvin (2005). Fluorescence imaging with one nanometer accuracy: Application to molecular motors. *Acc. Chem. Res.* 38(7): 574-582.
- [9] Betzig, E, G. H. Patterson, R. Sougrat, O. W.

Lindwasser, S. Olenych, J. S. Bonifacio, M. W. Davidson, J. Lippincott-Schwartz und H. F. Hess (2006). Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution. *Science* 313(5793): 1642-1645.

- [10] Rust, M. J., M. Bates und X. Zhuang (2006). Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM). *Nat. Methods* 3: 793-796.
- [11] http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2014/
- [12] Passon, O. und J. Grebe-Ellis (in Vorbereitung). What ist the thing called resolution?
- [13] Wolter, H. (1958). Zum Grundtheorem der Informationstheorie, insbesondere in der Optik. *Physica* 24(1-5): 457-475.
- [14] Grebe-Ellis, Johannes und O. Passon (in Vorbereitung). Die Abbe'sche Auflösungsgrenze in der Schulphysik
- [15] Passon, O. und J. Grebe-Ellis (2015). Was besagt die Heisenberg'sche Unschärferelation. *Praxis der Naturwissenschaften Physik in der Schule*, 64(7): 44-49.

Anschrift der Verfasser

Dr. Oliver Passon und Prof. Dr. Johannes Grebe-Ellis, Bergische Universität Wuppertal, Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften, Arbeitsgruppe Physik und ihre Didaktik, Gaußstraße 20, 42119 Wuppertal.
E-Mail: passon@uni-wuppertal.de, grebe-ellis@uni-wuppertal.de

Stichworte:

Auflösungsvermögen, Rayleigh Kriterium, Abbe-Grenze, Beugung, Supermikroskopie

Kurzfassung:

Die schulbuchübliche Herleitung des (be-grenzten) Auflösungsvermögens optischer Instrumente basiert auf einer fachlich un-genauen Anwendung des Rayleigh Kriteri-ums. Ungefähr zeitgleich (nämlich 1873) hat Ernst Abbe jedoch seine Beugungs-grenze vorgeschlagen. Die Idee ihrer Her-leitung ist beides: einfacher (und damit schultauglicher) sowie fachlich strenger. Jedoch kann auch diese Grenze nicht „fun-damental“ sein, denn moderne Mikrosko-piermethoden können sie brechen.