

Methode:

Die förderliche Vergrößerung

Literatur:

GÖKE, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie
Franckh-Stuttgart 1988

Anwendungsbereich:

Für alle Lichtmikroskope gültig.

In dem Buch "Moderne Methoden der Lichtmikroskopie" (Franckh-Stuttgart 1988) wird auf den Seiten 27 bis 29 der von ERNST ABBE angegebene und viel diskutierte Bereich der sog. förderlichen Vergrößerung genau erklärt. Zum besseren Verständnis der nachfolgend beschriebenen modernen Betrachtungsweisen dieses für den Mikroskopiker so wichtigen Begriffes wird der Text hier wiederholt:

Für die volle Ausnutzung des Auflösungsvermögens eines Mikroskops (s. Abschnitt 1.2.2.5) ist eine Mindestvergrößerung erforderlich. Andererseits darf die Vergrößerung nicht beliebig groß gewählt werden, weil oberhalb einer bestimmten Vergrößerung keine weiteren Struktureinheiten sichtbar gemacht werden können. Dieser Bereich zwischen der minimal und maximal erforderlichen Vergrößerung wird als *förderliche Vergrößerung* bezeichnet. Er liegt nach ABBE zwischen dem 500- und 1000fachen der numerischen Apertur des Mikroskopobjektivs, bezogen auf die Endvergrößerung V_E :

$$500 A \leq V \leq 1000 A$$

Bei der Betrachtung eines Mikrofotogramms oder eines Projektionsbildes vom Abbildungsmaßstab M in der Entfernung der konventionellen deutlichen Sehweite w_0 von 250 mm ergibt sich für den Bereich des *förderlichen Abbildungsmaßstabes*

$$500 A \leq M \leq 1000 A$$

Die Gleichungen 19 bis 22 und 25 sagen nichts darüber aus, wie Objektiv und Okular zweckmäßig zu kombinieren sind. Deshalb hat ABBE eine gedankliche Zerlegung des Mikroskops durchgeführt, wonach die sachliche Grenze zwischen Objektiv- und Okularfunktion nicht im reellen Zwischenbild zu suchen ist, sondern dort, wo im Objektiv divergent eingetretene Strahlenbündel durch wiederholte Brechung in parallelstrahlige Bündel umgewandelt sind, von wo aus sie durch weitere Brechung nach dem Okular hin konvergierend gemacht werden. Wenn man das zusammengesetzte Mikroskop nach ABBE als ein Kompositum aus Objektiv und Fernrohr auffaßt, so ist die Mikroskopvergrößerung in

$$V_{\text{Mikr}} = \frac{250}{f'_{\text{ob}}} \left(\frac{f'_{\text{tu}}}{f'_{\text{ok}}} \right) = V_{\text{ob}} V_{\text{F}}$$

zu zerlegen, wobei $V_{\text{F}} = f'_{\text{tu}}/f'_{\text{ok}}$ die Vergrößerung des aus Tubuslinse als Fernrohrobjektiv und Okular bestehenden Fernrohres ist. Wie in Abschnitt 1.2.2 noch ausführlich erläutert wird, besteht das mikroskopische Bild nicht aus Bildpunkten, sondern aus Beugungsscheibchen, die zum Rande hin in extrafokale Zerstreuungskreise übergehen. In Abhängigkeit vom Öffnungswinkel des ins Objektiv eingetretenen Strahls weicht der aus dem Objektiv austretende Strahl mehr oder weniger von der Parallelität zur optischen Achse ab (Öffnungsfehler). Diese Abweichung wird durch den Winkel α bestimmt. Deshalb entsteht anstelle eines Bildpunktes eine Zerstreuungsfigur, die mit dem Okular vergrößert gesehen wird. Die Winkelabweichung αV_{F} wird dem Auge durch das Okular bzw. Fernrohr nur vergrößert dargeboten, während es selbst keinen Beitrag zum Öffnungsfehler liefert. Es ist deshalb zweckmäßig, die vom Auge durch das Okular gesehene Winkelabweichung dadurch klein zu halten, daß man die Okularvergrößerung V_{ok} bzw. die Fernrohrvergrößerung V_{F} klein wählt und die Lupenvergrößerung des Objektivs V_{ob} entsprechend groß. Aufgrund des begrenzten Auflösungsvermögens des menschlichen Auges stört die Winkelabweichung αV_{F} unterhalb einer gewissen Größe nicht mehr. Eine Steigerung der Objektivvergrößerung V_{ob} und die damit verbundene Verringerung der Objektivbrennweite führt allerdings zu größeren Feldfehlern, wie Bildfeldwölbung und Astigmatismus, während die Achsenfehler gering sind. Seitdem es jedoch gelingt, Objektive mit nur geringen Achsen- und Feldfehlern zu fertigen, haben diese Überlegungen an Wert verloren.

Für bestimmte Objektivtypen, insbesondere für die preiswerten Achromate, sind sie aber noch gültig.

Zwischen dem Durchmesser der Austrittspupille des Mikroskops AP und der numerischen Apertur A des Objektivs besteht die Beziehung

$$AP = \frac{x \cdot A}{V_{\text{Mikr}}}$$

Setzt man für x die untere Grenze der förderlichen Vergrößerung 500 A ein, so ist der Durchmesser der Austrittspupille

$$AP = \frac{500 A}{V_{\text{Mikr}}}$$

Wenn die Mikroskopvergrößerung das 500fache der numerischen Apertur beträgt, so hat die Austrittspupille einen Durchmesser von 1 mm. Das ist die untere Grenze der förderlichen Vergrößerung oder die *Normalvergrößerung* des Mikroskops. An der Obergrenze der förderlichen Vergrößerung von 1000 A hat die Austrittspupille einen Durchmesser von 0,5 mm. Beim Mikroskopieren mit üblichen Vergrößerungen ist die Austrittspupille des Mikroskops stets kleiner als die Augenpupille, die somit nicht strahlenbegrenzend wirkt. Wenn die förderliche Vergrößerung überschritten wird ($AP < 0,5$ mm), ist der Querschnitt der ins Auge eintretenden Strahlenbündel so klein, daß feine Inhomogenitäten der Augenflüssigkeit (Schlieren, Punkte), sog. »entoptische Erscheinungen«, sichtbar werden. Staubteilchen im Okularbereich wirken um so störender, je kleiner der Durchmesser der Austrittspupille ist.

Die Gültigkeit des von ABBE angegebenen und viel diskutierten Bereiches der förderlichen Vergrößerung wird besonders deutlich, wenn man eine wellenoptische Betrachtungsweise einbezieht. Wie bereits in Abschnitt 1.1.1 erläutert wurde, müssen zwei dicht beieinander liegende Punkte einen Abstand von mindestens einer Winkelminute (1') haben, wenn sie als solche erkennbar sein sollen. Bezogen auf die konventionelle Sehweite von 250 mm entspricht 1' einer Strecke von 0,0725 mm. Wenn die Beobachtung bequem erfolgen soll, muß dieser Betrag verdoppelt bis vierfacht werden, d.h., die vom Objektiv im Zwischenbild aufgelösten Objekteinheiten müssen vom Okular so stark vergrößert werden, daß sie dem Auge mindestens unter diesem Winkel erscheinen. Be-

zeichnet man die hierzu erforderliche Gesamtvergrößerung bzw. förderliche Vergrößerung mit V_{min} und V_{max} , so ergeben sich, bezogen auf die deutliche Sehweite von 250 mm,

$$\frac{V_{\text{min}}}{250} = 2' = 5,8 \cdot 10^{-4}$$

und $\frac{V_{\text{max}}}{250} = 4' = 11,6 \cdot 10^{-4}$

Bezieht man jetzt die Wellenlänge λ mit ein, so erhält man die Gleichungen

$$\frac{\lambda}{500 A_{\text{ob}}} V_{\text{min}} = 5,8 \cdot 10^{-4},$$

$$V_{\text{min}} = \frac{5,8 \cdot 10^{-4}}{\lambda} 500 A_{\text{ob}}$$

und $\frac{\lambda}{500 A_{\text{ob}}} V_{\text{max}} = 11,6 \cdot 10^{-4},$

$$V_{\text{max}} = \frac{11,6 \cdot 10^{-4}}{\lambda} 500 A_{\text{ob}}$$

Wenn man in diese Formeln die Schwerpunktwellenlänge λ von $550 \text{ nm} = 5,5 \cdot 10^{-4} \text{ mm}$ einsetzt, so erhält man für $V_{\text{min}} = 528 A_{\text{ob}}$ und für $V_{\text{max}} = 1056 A_{\text{ob}}$.

Man kann auch anders rechnen: 2 Bogenminuten entsprechen bei 250 mm deutlicher Sehweite der Entfernung zweier Punkte von 0,145 mm, 4 Bogenminuten von 0,290 mm. Somit gilt:

$$V_{\text{min}} = \frac{0,145 \cdot 2 A}{\lambda} = \frac{0,29}{\lambda} A$$

$$V_{\text{max}} = \frac{0,290 \cdot 2 A}{\lambda} = \frac{0,58}{\lambda} A$$

Wenn man λ wieder mit $550 \text{ nm} = 5,5 \cdot 10^{-4} = 0,00055 \text{ mm}$ annimmt, ergibt sich

$$V_{\text{min}} = 527 A, V_{\text{max}} = 1054 A$$

In der Praxis rechnet man mit gerundeten Werten und nimmt V_{min} mit 500 A und V_{max} mit 1000 A an, d.h. die Vergrößerung soll zweckmäßig zwischen dem 500- und 1000fachen der numerischen Apertur liegen. Unterschreitet man V_{min} , so wird die Leistung des Objektivs nicht voll genutzt. Überschreitet man V_{max} , so erhält man eine »leere Vergrößerung« oder sieht Strukturen, die in Wirklichkeit nicht vorhanden sind. Aus verschiedenen Gründen kann von dieser Regel abgewichen werden, z. B. bei Messungen, doch muß man dann die »entoptischen Erscheinungen« bei der visuellen Beobachtung oder den Kontrastverlust bei der Mikrofotografie in Kauf nehmen.

Wegen der willkürlichen Voraussetzungen, die den klassischen Formeln zugrunde liegen, gelten sowohl die Grenzen des Auflösungsvermögens als auch die der förderlichen Vergrößerung nicht mehr in allen Fällen. Neue Beobachtungsverfahren wie Phasenkontrast, Interferenzkontrast, ringförmige Beleuchtung, konfokale Systeme, Laser-Scan- und Videomikroskopie mit Bildverarbeitung haben die Grenzen um mindestens 40% verbessert. Bei der Beurteilung einer "förderlichen" Vergrößerung müssen auch die Eigenschaften und das Leistungsvermögen des Auges voll berücksichtigt werden.

Der Ophthalmologe und Physiker H. HARTRIDGE (1,2) hat um 1950 die förderliche Vergrößerung nach augenphysiologischen Gesichtspunkten untersucht und festgestellt, daß die ABBESche Regel, die besagt, daß $V_{förd} = 500 \rightarrow 1100A$ keine Obergrenze, sondern eine Untergrenze angibt, bei der ein normaler Beobachter unter optimalen Bedingungen die vom Mikroskop erzielte Auflösung auch tatsächlich erfassen kann. Die von ABBE angegebene Sehschärfe gilt nach HARTRIDGE nur für die Standardbedingungen der Augenprüfung, wobei das Objekt einen maximalen Schwarz-Weiß-Amplitudenkontrast von etwa 1 : 90 hat. Ein mikroskopisches Objekt erfüllt diese Bedingung nur selten. Im allgemeinen ist ein Helligkeitsunterschied im Bild von nur etwa 20 % zu erwarten. Nach HARTRIDGE beträgt das Auflösungsvermögen des Auges unter diesen Bedingungen nur etwa die Hälfte des Wertes. Die Objektdetails können nicht mehr unterschieden werden. Das gilt auch für den Fall, daß die Beleuchtungsintensität zu hoch oder zu gering ist. Es gibt demnach keine allgemein gültige Obergrenze für die Gesamtvergrößerung. Welche Vergrößerung benötigt wird und welche für eine bequeme Beobachtung (d.h. ohne übermäßige Anstrengung und Ermüdung) noch nützlich ist, muß für jeden Mikroskopiker individuell ermittelt werden. Die praktische Grenze liegt dort, wo bei weiterer Steigerung der Okularvergrößerung keine Verbesserung mehr erzielt werden kann. Es ist demnach keineswegs falsch, stärker vergrößernde Okulare mit ausreichend hohen Sehfeldzahlen zu benutzen, auch wenn dabei die klassische förderliche Vergrößerung von 1100·A überschritten wird.

Literatur

- HARTRIDGE, H.: Physiology of vision. Churchill Ltd. London 1950.
- HARTRIDGE, H.: The optimal conditions for visual microscopy. J. Quekett Micr. Club Series 4, 4, 57 - 57 - 88 (1954).
- HARTRIDGE, H.: Visual acuity and the resolving power of the eye. J. Physiol. 57, 52 (1923).
- VAN DUIJN JR., C.: Die Bedeutung der Augeneigenschaften für die mikroskopische Wahrnehmung.
In: Arbeitsmappe der 4. INTERNATIONALEN MIKROSKOPIE-TAGE IN HAGEN. 32 Seiten. 1992.

Aufbau und spektrale Empfindlichkeit der Netzhaut

Die aus acht Schichten aufgebaute Netzhaut des Auges enthält insgesamt 125 bis 130 Millionen Stäbchen und etwa 7 Millionen Zapfen als lichtempfindliche Sensoren, die untereinander vernetzt sind und Auflösungsvermögen und Farbwahrnehmung bestimmen. Die Stäbchen sind allgemein lichtempfindlich mit Ausnahme von spektralem Orange und Rot. Hingegen gibt es drei Arten von Zapfen, die auf verschiedene Spektralbereiche reagieren. Auf nur einen Zapfen für den blauen Bereich kommen neun grünempfindliche und neun rottempfindliche. Die addierten Signale der Zapfen korrespondieren mit den Signalen der Stäbchen und vermitteln dem Gehirn einen integrierten Helligkeitseindruck. Untereinander sind die

Signalausgänge zu Netzwerken verknüpft. der Output der blauempfindlichen Zapfen, von denen nur einer auf 18 andere entfällt, wird in einer Zwischenstufe um den Faktor 10 verstärkt. Rot- und Grünausgänge sind zweifach verknüpft.

Der Sehnerv (Nervus opticus) enthält etwa eine Million Nervenfasern, das sind 40% von allen mit dem Gehirn verbundenen Nerven.

Die absoluten spektralen Empfindlichkeiten der drei Zapfenarten sind unterschiedlich und überschneiden sich. Das erklärt die falschen Farbeindrücke, die man von kleinen Einzelheiten im mikroskopischen Bild bekommen kann. Für einen richtigen Farbeindruck muß eine ausreichende Anzahl von Zapfen zusammenarbeiten, d.h., eine Netzhautoberfläche von bestimmter Mindestgröße muß von einem Detailbild ausgefüllt werden. Nach HARTRIDGE (1,2) entspricht dieser Schwellenwert für die Netzhautoberfläche einem Bildwinkel von zwei Bogengraden. Bezogen auf die konventionelle Sehweite von 250 mm ist das ein Kreis von 8700 μm . Auf der Netzhaut würde dieser Kreis einen Durchmesser von 500 μm haben. Die förderliche Vergrößerung für die richtige Farbwahrnehmung MF von einem Objekt mit dem Durchmesser D ist demnach

$$MF = \frac{8700}{D}$$

Ein Teilchen mit einem Durchmesser von 6 μm kann bei einer Vergrößerung von 1500- bis 1600-fach nicht mehr farbrichtig beurteilt werden. Bei 500-facher Vergrößerung muß das Teilchen bereits 17 μm groß sein. Die Okularvergrößerung muß hier wesentlich über der sogenannten förderlichen Vergrößerung liegen, denn für das richtige Erkennen von Farben gibt es keine leere Vergrößerung.

Die Farben sehr kleiner Objekte können nicht richtig beurteilt werden, wenn Sie nicht blaugrün oder rot sind. In diesem Bereich überlagert sich die Empfindlichkeit der drei Zapfenarten am meisten. Wenn die Objekte blau sind, macht sich der Fehler am deutlichsten bemerkbar, denn von 19 Zapfen ist nur einer blauempfindlich. Orange, gelbe, gelbgrüne oder violette Objekte werden rot, blaugrün oder ganz farblos erscheinen, denn für den Eindruck Gelb müssen Grün- und Rotrezeptoren zusammenwirken. Im Gegensatz zum monochromatischen Grün oder Rot wird dafür die doppelte Fläche auf der Netzhaut benötigt. Sehr kleine farblose Objekte erscheinen manchmal farbig, meistens karmesin oder blaugrün. Deshalb soll die Prüfung der Optik auf Farbfehler an den Rändern größerer Objekte durchgeführt werden.

Bei der Beurteilung der Farbe mikroskopischer Objekte soll die Gesamthelligkeit des Bildes nicht wesentlich von 100 Lux abweichen. Bei zu großer Helligkeit werden die roten und grünen Farben von kleinen Objekten nicht richtig erkannt. Wenn der Optimalwert von 100 Lux unterschritten wird, sind gelbe und grüne Objekte betroffen.

Auch die im Bild vorherrschende Farbe beeinflusst die Farbempfindlichkeit der Netzhaut, weil die lichtempfindliche Substanz in den Zapfen verbraucht wird und sich erst nach einer gewissen Zeit wieder erneuert.

Literatur

HARTRIDGE, H.: The optical conditions for visual microscopy. J. Quekett Club 4, 57 - 88 (1954))

VAN DUIJN JR., C.: Die Bedeutung der Augeneigenschaften für die mikroskopische Wahrnehmung.

IN: Arbeitsmappe der 4. Internationalen Mikroskopie Tage in Hagen. Seite 1 - 32 (1992).

Auflösungsvermögen des Auges und förderliche Vergrößerung

Auf der Netzhaut (Retina) entsteht ein umgekehrtes reelles Bild wie in der Filmebene einer Kamera. Dieses Bild wird vom Gehirn aufgerichtet. Sonst würden wir unsere Umgebung höhen- und seitenverkehrt sehen. Das **Auflösungsvermögen des Auges** ist der Bildwinkel, bei dem die kleinste auf der Netzhaut detektierbare Strecke von den Sinneszellen als Sensoren (Pixel) gerade gefüllt wird. Für die Auflösung von zwei gleichfarbigen Objektpunkten sind drei, für zwei ungleichfarbige nur zwei Pixel erforderlich. Deshalb ist das Auflösungsvermögen des Auges von der Dichte der Pixel in der Retina abhängig, die jedoch individuell schwankt.

Die erforderliche minimale Vergrößerung M_{\min} zur Wahrnehmung von zwei physikalisch aufgelösten Strukturelementen mit dem Auge wird durch das Verhältnis des aktuellen Auflösungsvermögens des Auges zur Auflösung des Mikroskops

$$M_{\min} = \frac{\delta_{\text{Auge}}}{\delta_{\text{Mikroskop}}}$$

bestimmt. Das Auflösungsvermögen des Auges schwankt individuell von etwa 50 μm bis über 500 μm und ist nicht konstant. ERNST ABBE hat bei seinen Berechnungen die Voraussetzung zugrunde gelegt, daß der Schwellenwert der Sehschärfe 1 Bogenminute = 70 μm beträgt, bezogen auf die konventionelle deutliche Sehweite von 250 mm.* Bei optimaler Beleuchtung der Objekte wird diese Sehschärfe aber nur von 1 % der Bevölkerung erreicht. Etwa 80 % der normalsichtigen Personen mittleren Alters erreichen einen Schwellenwert der Sehschärfe von 150 μm . Im Alter nähert sich dieser Wert 200 μm und zwar unter der Voraussetzung, daß das Auge noch gesund ist, was aber selten zutrifft. Die mikroskopische Beobachtung bei einem Schwellenwert von 70 μm = 1 Bogenminute ist sehr ermüdend. Das hat E. ABBE erkannt und einen Sehwinkel von 4 Bogenminuten = 300 μm bei 250 mm Sehweite zugelassen. Aus seiner Formel $\lambda / 2A$ ergibt sich dann bei einer Wellenlänge von 550 nm (= 0,550 μm) die förderliche Vergrößerung im weißen Licht von 1100·A. Wie eine ganze Reihe späterer Autoren ausführte, hat ABBE wohl zu unrecht angenommen, daß dieser Wert die höchste zulässige Vergrößerung sei.

*Die von CHRISTAAN HUYGENS im 18. Jahrhundert eingeführte "konventionelle deutliche Sehweite" von 250 mm ist nur eine Rechenfiktion und darf nicht auf das Sehen einzelner Beobachter bezogen werden. Es gibt keine allgemein gültige Sehweite, weil diese u.a. vom Lebensalter abhängig ist.

Zur Sehfeldzahl der Okulare

Wenn sich das Auge **ohne Kopfbewegung** frei bewegen kann, ist das überschaubare Feld größer als beim stillstehenden Auge. Wegen der Augenbewegung mit ihrer kontinuierlichen Abtastung des Bildfeldes muß die Austrittspupille des Okulars kleiner sein als die Eintrittspupille des Auges. Sonst würde die Abtastung eingeschränkt und das Bild vignettiert werden. Im Gegensatz zu den künstlichen Scanning-Systemen (Videokamera, Rastermikroskope), die das Objekt mäanderförmig abtasten, funktioniert das "Scanning-System Auge" ganz anders. Es konzentriert sich auf ein besonders auffälliges Detail und springt von dort zickzackförmig durch das Blickfeld und wieder zurück, wobei allen interessanten Objektdetails die Fovea passieren. Die Steuerung dieses Vorganges erfolgt vom Gehirn aus. Alle Gebiete des Bildfeldes, in denen das Gehirn keine interessierenden Informationen vermutet, werden nicht unbedingt in das Gesamtbild integriert.

Die Wahrscheinlichkeit, daß kleine und kontrastarme Details überhaupt nicht wahrgenommen werden, ist recht groß. Deshalb braucht man bei der Suche nach kleinen Objektdetails höhere Okularvergrößerungen, als das nach den klassischen Formeln erforderlich wäre. Das reelle Zwischenbild soll in solchen Fällen stärker nachvergrößert werden.

Auch die Pupillengröße des Auges ist Veränderungen ausgesetzt. Mit zunehmendem Alter des Menschen wird sie kleiner. Außerdem wird sie durch die Beleuchtungsstärke des Objekts und dessen Umfeld, sowie von emotionellen Faktoren wie Interesse am Objekt, Erregung oder Furcht verändert. Die Pupillengröße beeinflusst das Auflösungsvermögen des Auges. Nach HARTRIDGE (1) soll die Austrittspupille (=Ramsdenscher Kreis) des Okulars kleiner sein als die Eintrittspupille des Auges, die hinter der Pupillenöffnung im inneren Auge liegt. Sonst wird das Blickfeld vignettiert und gleichzeitig die Bewegung des Auges gestört. Der Durchmesser des Ramsdenschen Kreises $\varnothing R$ läßt sich nach der Formel

$$\varnothing R = \frac{500 A}{M_{ob} V_{ok}}$$

berechnen. Darin ist A die numerische Apertur des Objektivs, M_{ob} die Maßstabszahl des Objektivs und V_{ok} die Okularvergrößerung. Der Durchmesser des Ramsdenschen Kreises, der Austrittspupille des Okulars und somit des ganzen Mikroskops soll einem Viertel bis einem Drittel des Durchmessers der Augenpupille entsprechen der nach HARTRIDGE (1) optimal 3 mm beträgt. Dieser Wert wurde 1966 von BAKER (2) durch zwei unabhängige Meßreihen (2,84 + 0,35 und 2,82 + 0,32) bestätigt. MICHEL (3) hat 1964 einen Durchmesser der Augenpupille von nur 2 mm vorausgesetzt, wodurch das Auflösungsvermögen des Auges 3 % niedriger sein würde. Bei wesentlich kleinerer Austrittspupille des Auges würde theoretisch ein Teil der numerischen Apertur des Objektivs nicht genutzt. Praktisch ist das Auge aber ein abtastendes System, das sich sein Bild pixelweise aufbaut.

Literatur

1. HARTRIDGE, H.: The optical conditions for visual microscopy. J. Quekett Club 4, 57 - 88 (1954).
2. BAKER, J.R.R.: : Experiments on the fuction of the eye on in light microscopy. J. Roy. Micr. Soc. 85, 231 - 254 (1966).
3. MICHEL, K. : Die Grundlagen der Theorie des Mikroskops. Stuttgart 1964.
4. VAN DUIJN JR., C.: Die Bedeutung der Augeneigenschaften für die mikroskopische Wahrnehmung. In: Arbeitsmappe der 4. Internationalen Mikroskopie-Tage in Hagen, 1992 (32 Seiten).

Das große Umfeld eines kleinen Objekts wird als das **sensibilisierende Umfeld** bezeichnet. Die Sehfeldzahl $2y'$ ist die Kennzahl eines Okulars, die den Durchmesser des überschaubaren reellen Zwischenbildes festlegt. Der Durchmesser des überschaubaren Objektfeldes $2y$ in mm kann man nach der einfachen Formel

$$2y = \frac{2y'}{M_{ob}}$$

berechnen.

Der Bildwinkel φ_{ok} des Okulars errechnet sich aus

$$\varphi_{ok} = \frac{2y'}{f_{ok}}$$

Durch Zusammenfassen der beiden Formeln erhält man

$$2y = \frac{f_{ok} \cdot \varphi_{ok}}{M_{ob}}$$

In diesen Formeln ist $2y'$ die Sehfeldzahl in mm, M_{ob} die Maßstabszahl des Objektivs, f_{ok} die die Brennweite des Okulars und φ dessen Bildfeldwinkel.

Heute werden Großfeld-Okulare mit Sehfeldzahlen bis 28 hergestellt, die nur mit den besten Plan-Objektiven verwendet werden können. Ein 10-faches Okular mit einer Sehfeldzahl von 18 bis 20 gilt schon als Weitfeldokular. Normale Okulare 10x haben eine Sehfeldzahl von etwa 13.

Großfeld-Okulare mit Sehfeldzahlen von 20 bis 28 sind nur dort geeignet, wo man große Objektfelder bei gleichzeitig höchster Auflösung übersehen will, z.B. in der Histologie und Petrographie. Für viele Arbeiten sind die hohen Sehfeldzahlen ungünstig. Wenn man kleine Objekte von nur wenigen μm untersuchen muß, z.B. in der Bakteriologie und Protozoologie, sind stärkere Okulare mit kleineren Sehfeldzahlen angezeigt, um ein günstigeres Flächenverhältnis zwischen Objekt und Umfeld zu bekommen. Je größer das Sehfeld ist, um so mehr Arbeit müssen die Augen bei der Auffindung kleiner Objekte leisten. Auch zum Zählen und Messen sind kleine Sehfelder besser als große. Früher gab es Okulare mit verstellbarer Sehfeldblende.

Auch die Helligkeitsdifferenz zwischen Objekt und Umfeld spielt eine große Rolle. Wenn die integrierte Helligkeit des sensibilisierenden Umfeldes und die mittlere Helligkeit der Objektstrukturen annähernd gleich sind, bekommt man meistens die beste Auflösung (z.B. bei Diatomeen). Sowohl die Gesamtvergrößerung als auch die Abstimmung der Bildhelligkeit sind bei der Auflösung schwieriger Strukturen wichtig. Bei einer Beleuchtungsstärke, die über 100 Lux hinausgeht, nimmt das Auflösungsvermögen ab. Bei geringer Bildhelligkeit wird meistens die beste Kontrastempfindlichkeit erreicht, wenn die Struktur heller erscheint als das Umfeld.

Die Bildhelligkeit in den Okulartuben eines binokularen Mikroskops wird von den Augen nicht addiert. Die vom Objektiv kommenden Lichtbündel werden von den Prismen des Tubus in zwei Hälften geteilt. Jedes Auge bekommt nur die Hälfte der Leuchtdichte, die es von einem vergleichbaren Monokulartubus erhalten würde.

In einem Bereich von 1 : 250 folgt das Auge fast genau dem WEBER-FECHNERSchen Gesetz und gibt bei geometrisch zunehmender Lichtenergie nur linear ansteigende Signale ab. Deshalb braucht man für binokulare Mikroskope Lichtquellen mit der vierfachen Leuchtdichte, die für ein vergleichbares monokulares Mikroskop erforderlich wäre.