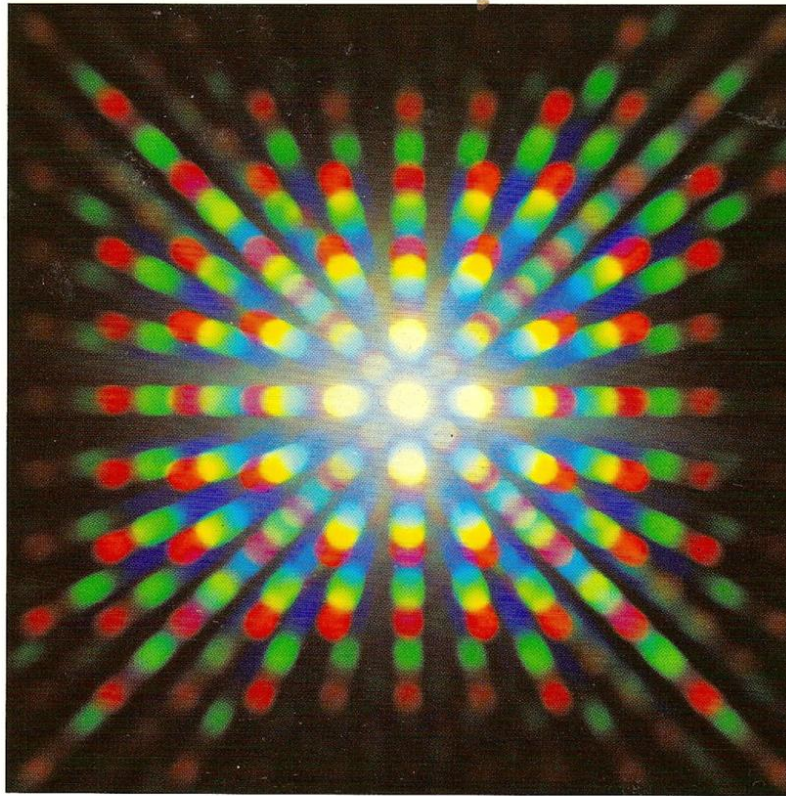


Das Mikroskop und seine Anwendung

Hans Determann und Friedrich Lepusch



Leitz. Ein Unternehmen des Wild Leitz Konzerns.

 **WILD LEITZ**

I Theorie

Die zweistufige Abbildung des Mikroskops

In der Literatur werden bei der Erklärung der mikroskopischen Abbildung häufig Begriffe wie zweistufige Vergrößerung und verflochtener Strahlengang gebraucht. Diese Begriffe sind aber gerade beim Mikroskop wenig anschaulich: Die Optik ist hier sehr klein und zusammengedrängt und die meist abgewinkelte Strahlenführung verläuft fast ausschließlich im Inneren des Instruments. Es gibt jedoch optische Modelle, die bei weitgehender Wahrung der Analogie zum Mikroskop besser durchschaubar sind. Hierzu gehören der Diaprojektor und das Vergrößerungsgerät. Auch beim Diaprojektor z. B. wird ein Objekt, das Diapositiv, vergrößert abgebildet. Auch bei ihm wird, wie bei modernen Mikroskopen, eine Lichtquelle mit Beleuchtungsoptik zur Abbildung benutzt.

Die erste Vergrößerungsstufe

Wir wollen jetzt versuchen, Strahlenführung und Zustandekommen der Abbildung beim Diaprojektor zu erklären, und die gewonnenen Erkenntnisse auf das Mikroskop zu übertragen.

Bekanntlich können wir uns jedes Dia rasterpunktartig zusammengesetzt denken. Wir betrachten zunächst einen dieser kleinen Rasterpunkte im Objekt. Von einem solchen Punkt geht, wenn er durch die Projektionslampe beleuchtet wird, ein Strahlenkegel aus. Diese Strahlen werden von den Sammellinsen des Objektivs so umgelenkt, daß sie sich in einer gewissen Entfernung zu einem Bildpunkt vereinigen. An diese Stelle legen wir einen transparenten Projektionsschirm. Die Strahlen werden dann natürlich nicht auf dem Projektionsschirm enden, sondern weiter in den rückwärtigen Raum divergieren. Und jetzt kommt das Entscheidende: Wenn man Abbildung 1 betrachtet, so erkennt man, daß der vom Bildpunkt ausgehende Strahlenkegel von denselben Strahlen gebildet wird, wie der vom Objektpunkt ausgehende Strahlenkegel. Ein Auge, das

sich hinter dem Projektionsschirm im Strahlenkegel befindet, sieht deshalb den Bildpunkt auf dem Schirm.* Aus Lage und Abstand der beiden Bildpunkte B' A' (Abb. 1) auf dem Projektionsschirm kann man ersehen, daß 1. das Bild umgekehrt und wegen der Strahlensymmetrie auch seitenverkehrt und 2. vergrößert ist.

Dieser Teil der Abbildung entspricht der ersten Vergrößerungsstufe im Mikroskop. Der Projektionsschirm entspricht der Zwischenbildebene im Mikroskop; das Dia dem Präparat.

Bringt man eine kleine Mattscheibe oder ein Stückchen Pergament in die Zwischenbildebene, so kann man das vom Objektiv vergrößerte Bild auch dort auffangen.

*) Selbstverständlich gilt dies für jeden einzelnen Bildpunkt, da sich das Bild, wie das Objekt, mosaikartig aus der Summe aller Punkte zusammensetzt.

Das Bild entstünde natürlich auch ohne Projektionsschirm als sogenanntes Luftbild. Es könnte allerdings vom Auge nur in einzelnen Details wahrgenommen werden, da die meisten Strahlenkegel am Auge vorbeigehen. Der Projektionsschirm, ob transparent oder undurchsichtig, streut die Strahlenkegel so in den Raum, daß das Bild überall hinter bzw. vor dem Schirm wahrgenommen werden kann.

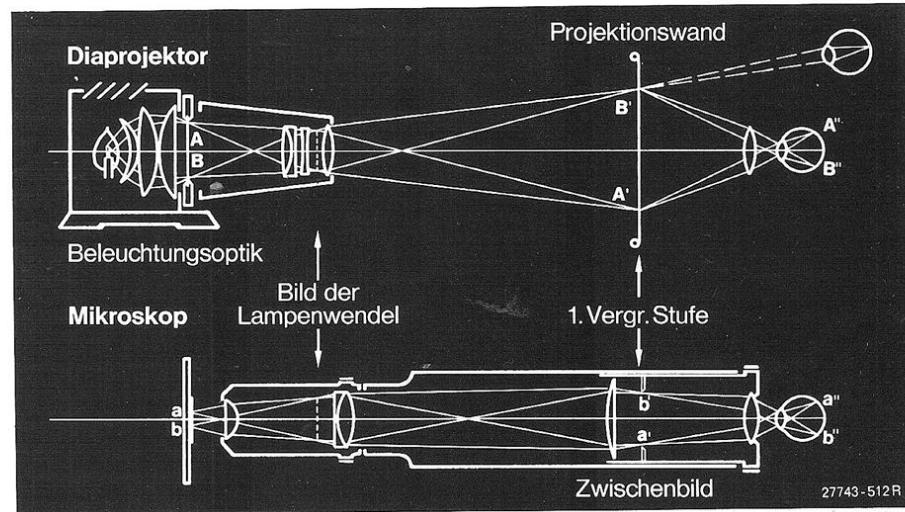


Abbildung 1
Gegenüberstellung der Strahlengänge im Dia-Projektor und Mikroskop.

Projektor: Der Strahlengang beim Dia-Projektor beginnt links bei der Lampe. Wir erkennen, daß das Diapositiv AB auf seiner ganzen Fläche vom Beleuchtungslicht durchstrahlt wird. Das Objektiv erzeugt ein Bild $B'A'$ des Dias auf der Projektionswand. Dieses Bild ist vergrößert und umgekehrt.

Mikroskop 1. Stufe: Dem Diapositiv AB entspricht im Mikroskop das Präparat a b auf dem Objektisch. Hier wird das Präparat vom Objektiv in die Zwischenbildebene abgebildet; sie entspricht der Projektionswand beim Projektor. Das Zwischenbild $b'a'$ ist ebenfalls vergrößert und umgekehrt.

2. Stufe: Das Zwischenbild wird durch eine Lupe (Okular) dem Auge vergrößert dargeboten. Diese nochmalige Vergrößerung bezeichnet man als zweite Vergrößerungsstufe. Die Augenlinse erzeugt schließlich auf der Netzhaut das aufrechte Bild $a''b''$, das vom menschlichen Hirn bekanntlich umgekehrt wahrgenommen wird.

Projektor: Um die Lupenvergrößerung des Okulars zu demonstrieren, wurde auch das Projektionsbild mit einer Lupe betrachtet. Diese zweite Vergrößerungsstufe wird natürlich beim Dia-Projektor in der Praxis nicht angewandt.

Des weiteren erkennt man im Strahlengang des Projektors auch den Beleuchtungsstrahl. Es wird nämlich die Lampenwendel von der Beleuchtungsoptik durch das Dia hindurch in das Objektiv abgebildet. Entsprechendes gilt für das Mikroskop, nur haben wir hier die kompliziert aufgebaute Beleuchtungsoptik aus Platzgründen weggelassen. Sie wird in Abbildung 2 ausführlich diskutiert.

Die zweite Vergrößerungsstufe

Jeder, der fotografiert und selbst vergrößert, weiß, daß er in Zweifelsfällen mit einer Lupe das vom Vergrößerungsgerät entworfene Bild betrachtet, um z.B. kleine Einzelheiten zu erkennen oder um festzustellen, ob das Bild auch wirklich scharf eingestellt ist. Wir können das natürlich auch beim Dia-Projektor tun, obwohl das in praxi kaum vorkommen wird. Das Prinzip aber wird dabei klar: Wir betrachten das vom Objektiv entworfene Bild in der zweiten Stufe nochmals vergrößert durch die Lupe. Hierbei ist es belanglos, ob es sich um ein wirkliches Bild auf einem Schirm oder um ein Luftbild handelt.

Beim Mikroskop ist das Bild der ersten Vergrößerungsstufe ein reelles Luftbild, für die zweite Stufe dient als Lupe das Mikroskopokular. Die Lupenvergrößerung wird dabei im wesentlichen von dessen Augenlinse bewirkt. Die am unteren Ende befindliche Feldlinse sitzt meist unterhalb des Zwischenbildes und lenkt die vom Objektiv divergierenden Strahlen so um, daß sie durch die Augenlinse des Okulars fallen. Erst dann können sie vom Auge aufgefangen werden.

Der verflochtene Strahlengang

Bisher haben wir beim Strahlenverlauf im Projektor die Beleuchtungsoptik außer acht gelassen. Würde man jedoch einen Projektor ohne diese Optik bauen, so könnte man weder die Lichtquelle optimal nutzen, noch das Dia gleichmäßig ausleuchten. Das sind aber gerade die unerläßlichen Voraussetzungen für ein gutes Projektionsbild. Man sammelt daher das Beleuchtungslicht mit Hilfe einer zwischen Lichtquelle und Dia angeordneten Beleuchtungsoptik. Sie hat die Aufgabe, die ganze leuchtende Fläche (oder die Wendel) der Lichtquelle in das Objektiv hinein abzubilden. Auf diese Weise wird die Lichtquelle voll genutzt und das Projektionsbild ist trotz der hellen und dunklen Zonen, die für Lichtquellen nun einmal charakteristisch sind, optimal hell und gleichmäßig ausgeleuchtet. Die Beleuchtungsoptik bewirkt nämlich, daß jeder Punkt der

Lichtquelle allein bereits das ganze Dia durchstrahlt und daß außerdem dieses Licht auch für die Abbildung voll genutzt wird.

Bei der oben besprochenen optischen Anordnung „Beleuchtungsoptik-Objektiv“ greifen zwei Abbildungen ineinander: Die Abbildung des Dias auf dem Projektionschirm und die Abbildung der Lichtquelle in das Objektiv. Man spricht deshalb von einem verflochtenen Strahlengang. Jede der beiden Gruppen konjugierter Ebenen hat also eine eigene Funktion.

Köhlersches Beleuchtungsprinzip

Die oben beschriebene Beleuchtungskonzeption wird außerordentlich erfolgreich beim Köhlerschen Beleuchtungsprinzip in der Mikroskopie angewandt. Auch hier muß, fast genauso wie beim Projektor,

1. die Lichtquelle in der hinteren Brennebene des Objektivs abgebildet werden und
2. jeder Punkt der Lichtquelle allein bereits das ganze Objektfeld ausleuchten.

Während aber beim Projektor Objektiv und Größe des Dias nicht verändert werden, sind beim Mikroskop diese Voraussetzungen für eine Reihe von Objektiv-Okularkombinationen und unterschiedlich große Objektfelder zu erfüllen. Die Mikroskopbeleuchtung muß daher die Möglichkeit geben, den Strahlenquerschnitt sowohl in der hinteren Brennebene des Objektivs als auch im Objekt beliebig und unabhängig voneinander durch Blenden zu verändern.

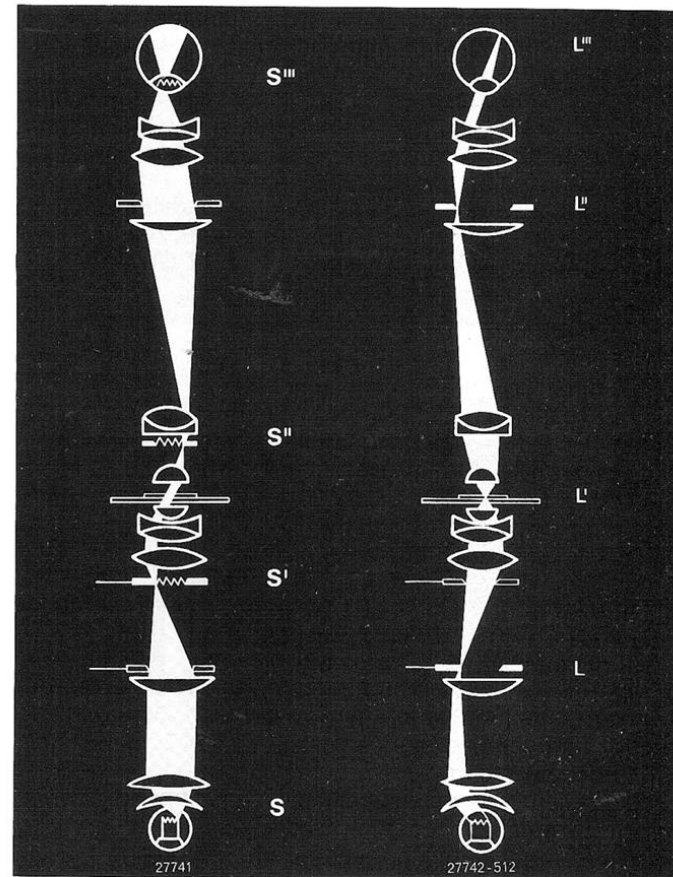
Wir betrachten zunächst den Beleuchtungsstrahlengang. Abb. 2a.

Dicht hinter der Lichtquelle S befindet sich der Kollektor, welcher meist mit der Lichtquelle zu einer Leuchte vereinigt ist. Der Kollektor bildet die Lichtquelle S in die vordere Brennebene S' des Kondensors ab. In dieser Ebene liegt auch die Aperturblende. Die Lichtquelle wird dann weiter durch Kondensor und Objektiv in dessen hintere Brennebene S'' und schließlich in die Austrittspupille des Okulars S''' abgebildet. Hier befindet sich die Augenpupille des Beobachters. Die Ebenen S , S' , S'' , S''' bezeichnet man als optisch konjugiert, weil jede ein optisches Bild der vorhergehenden ist.

Das zweite System optisch konjugierter Ebenen finden wir im Abbildungsstrahlengang (Abb. 2b). Die Leuchtfeldblende L begrenzt die Öffnung des Kollektors. Diese Blende wird durch den Kondensor ins Präparat nach L' abgebildet. Das Objektiv erzeugt in der Zwischenbildebene ein vergrößertes Bild des Präparates und der Leuchtfeldblende L'' , das durch das Okular nochmals vergrößert betrachtet wird. Das dritte Bild der Leuchtfeldblende L''' und das des Präparates entstehen auf der Netzhaut des Auges. Wir haben damit zwei Gruppen von optisch konjugierten Ebenen, die regelmäßig abwechselnd einander folgen, also einen verflochtenen Strahlengang.

Bleibt noch zu klären, welche Funktionen die an den Orten S' und L befindlichen Blenden erfüllen.

Die Aperturblende gestattet, das Bild der Lichtquelle abzubilden. Sie führt damit der hinteren Brennebene des jeweiligen Objektivs den erforderlichen Strahlenquer-



Abbildungen 2a und 2b
Der verflochtene Strahlengang.
Um die Verflechtung von Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang besser demonstrieren zu können, haben wir beide einzeln gezeichnet. Der Strahlenverlauf ist im Text ausführlich diskutiert.

Die zweite Vergrößerungsstufe

Jeder, der fotografiert und selbst vergrößert, weiß, daß er in Zweifelsfällen mit einer Lupe das vom Vergrößerungsgerät entworfene Bild betrachtet, um z.B. kleine Einzelheiten zu erkennen oder um festzustellen, ob das Bild auch wirklich scharf eingestellt ist. Wir können das natürlich auch beim Dia-Projektor tun, obwohl das in praxi kaum vorkommen wird. Das Prinzip aber wird dabei klar: Wir betrachten das vom Objektiv entworfene Bild in der zweiten Stufe nochmals vergrößert durch die Lupe. Hierbei ist es belanglos, ob es sich um ein wirkliches Bild auf einem Schirm oder um ein Luftbild handelt.

Beim Mikroskop ist das Bild der ersten Vergrößerungsstufe ein reelles Luftbild, für die zweite Stufe dient als Lupe das Mikroskopokular. Die Lupenvergrößerung wird dabei im wesentlichen von dessen Augenlinse bewirkt. Die am unteren Ende befindliche Feldlinse sitzt meist unterhalb des Zwischenbildes und lenkt die vom Objektiv divergierenden Strahlen so um, daß sie durch die Augenlinse des Okulars fallen. Erst dann können sie vom Auge aufgefangen werden.

Der verflochtene Strahlengang

Bisher haben wir beim Strahlenverlauf im Projektor die Beleuchtungsoptik außer acht gelassen. Würde man jedoch einen Projektor ohne diese Optik bauen, so könnte man weder die Lichtquelle optimal nutzen, noch das Dia gleichmäßig ausleuchten. Das sind aber gerade die unerläßlichen Voraussetzungen für ein gutes Projektionsbild. Man sammelt daher das Beleuchtungslicht mit Hilfe einer zwischen Lichtquelle und Dia angeordneten Beleuchtungsoptik. Sie hat die Aufgabe, die ganze leuchtende Fläche (oder die Wendel) der Lichtquelle in das Objektiv hinein abzubilden. Auf diese Weise wird die Lichtquelle voll genutzt und das Projektionsbild ist trotz der hellen und dunklen Zonen, die für Lichtquellen nun einmal charakteristisch sind, optimal hell und gleichmäßig ausgeleuchtet. Die Beleuchtungsoptik bewirkt nämlich, daß jeder Punkt der

Lichtquelle allein bereits das ganze Dia durchstrahlt und daß außerdem dieses Licht auch für die Abbildung voll genutzt wird.

Bei der oben besprochenen optischen Anordnung „Beleuchtungsoptik-Objektiv“ greifen zwei Abbildungen ineinander: Die Abbildung des Dias auf dem Projektionschirm und die Abbildung der Lichtquelle in das Objektiv. Man spricht deshalb von einem verflochtenen Strahlengang. Jede der beiden Gruppen konjugierter Ebenen hat also eine eigene Funktion.

Köhlersches Beleuchtungsprinzip

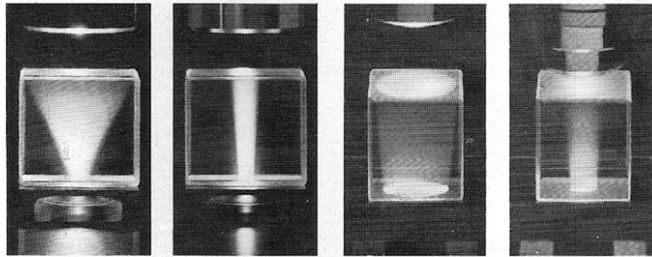
Die oben beschriebene Beleuchtungskonzeption wird außerordentlich erfolgreich beim Köhlerschen Beleuchtungsprinzip in der Mikroskopie angewandt. Auch hier muß, fast genauso wie beim Projektor,

1. die Lichtquelle in der hinteren Brennebene des Objektivs abgebildet werden und
2. jeder Punkt der Lichtquelle allein bereits das ganze Objektfeld ausleuchten.

schnitt zu. Beim Betätigen der Aperturblende werden die von den Objektpunkten ausgehenden Strahlenkegel breiter oder schlanker. Abb. 3a und 3b.

Die Leuchtfeldblende verändert den Strahlenquerschnitt in der Objektebene. Sie ist stets nur so weit zu öffnen, daß nicht mehr als das Objektfeld ausgeleuchtet wird. Abb. 3c und 3d.

Wie dieser zunächst schematisch abgehandelte Strahlengang in einem wirklichen Mikroskop verläuft, zeigt Abb. 4 am Beispiel des Großfeldmikroskops LEITZ ORTHOPLAN.



3a 17465-512 R 3b 17464-512 R 3c 17463-512 R 3d 17462-512 R

Abbildungen 3a und 3b

Durch Öffnen und Schließen der Aperturblende kann man den Strahlenquerschnitt in der hinteren Brennebene (Austrittspupille des Objektivs) verändern.

Links: Große Beleuchtungsapertur für ein Objektiv hoher Apertur (ein weit geöffneter Strahlenkegel).

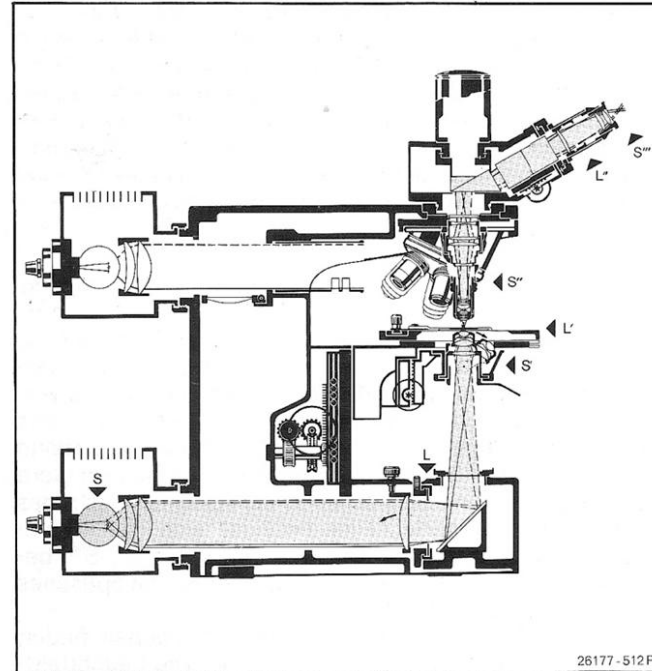
Rechts: Kleine Beleuchtungsapertur für ein Objektiv niedriger Apertur (schlanker Strahlenkegel).

Abbildungen 3c und 3d

Durch Betätigen der Leuchtfeldblende wird der Strahlenquerschnitt in der Objektebene verändert.

Links: Voller Strahlenquerschnitt für die schwächsten Objektive (große Leuchtfäche in der Objektebene).

Rechts: Reduzierter Strahlenquerschnitt für ein starkes Objektiv (kleine Leuchtfäche in der Objektebene).



26177-512 R

Abbildung 4

Strahlengang im Mikroskop LEITZ ORTHOPLAN.

Diese Abbildung zeigt den verflochtenen Strahlengang (Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang) am Beispiel des Mikroskops ORTHOPLAN. Man erkennt hier die optischen Ebenen und ihre Lagen im Mikroskop.

S = Lampenwendel

L = Leuchtfeldblende

S' Bild der Lampenwendel in der Ebene der Aperturblende.

L' Bild der Leuchtfeldblende im Objekt

S'' Zweites Bild der Wendel in der Austrittspupille des Objektivs

L'' Zweites Bild der Leuchtfeldblende in der Sehfeldebene des Okulars

S''' Drittes Bild der Wendel in der Austrittspupille des Okulars

Das dritte Bild der Leuchtfeldblende entsteht zusammen mit dem mikroskopischen Bild auf der Netzhaut des Auges.

Die mikroskopische Abbildung wellenoptisch gesehen

Bisher haben wir den Strahlengang im Mikroskop nach geometrischen Gesetzen konstruiert. Die Wellennatur des Lichtes blieb bei dieser Betrachtungsweise unberücksichtigt. Aber schon die allgemein bekannte Erscheinung, daß paralleles Licht, welches eine feine Öffnung passiert, sich hinter dieser Öffnung nicht nur geradlinig ausbreitet, läßt auch beim Mikroskop an Beugungsphänomene denken. Auch das mikroskopische Objekt besteht ja im Prinzip aus sehr feinen Strukturen mit kleinen Öffnungen, die das Licht beugen können.

Ein kleines Experiment, das jeder, der im Besitz eines feinen Gitters ist, an seinem Mikroskop wiederholen kann, verschafft schnell Klarheit, ob und wie weit bei der mikroskopischen Abbildung Beugungserscheinungen eine Rolle spielen oder nicht. Als Gitter eignet sich zum Beispiel ein Objektmikrometer.

Man legt das Gitter auf den Objektstisch, fokussiert hierauf und schließt die Aperturblende. Wenn man nun nach Herausnehmen des Okulars in die hintere Brennebene des Objektivs blickt, sieht man folgendes:

In der Mitte erscheint als helles Zentralbild das Bild der Aperturblende, links und rechts davon erkennt man eine Reihe lichtschwächere und farbig gesäumte, sich teilweise überdeckende Nebenbilder. Abb. 5. Nimmt man das Gitter aus dem Strahlengang, dann verschwinden die Nebenbilder, während das Zentralbild bleibt. Dieses zentrale Hauptbild ist also nach geometrischen Gesetzen entstanden, während die Nebenbilder auf **Beugung** des Lichtes am Gitter zurückzuführen sind. Die Intensitätsverteilung des gebeugten Lichtes und damit die Lage der einzelnen Beugungsbilder ist durch Interferenz bedingt.

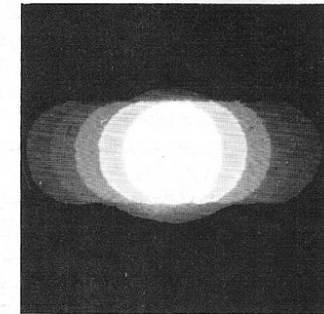
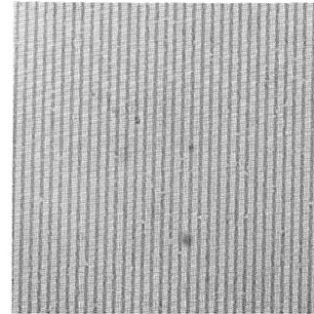


Abb. 5a, 5b

Beugung am Linienraster

Abbildung 5a zeigt das auf dem Objektstisch befindliche Gitter. Die Aperturblende ist weit geschlossen. Wenn man nach Herausnehmen eines Okulars in die hintere Brennebene sieht, (zweckmäßig benutzt man noch ein Einstellfernrohr) so erkennt man eine Reihe von Beugungsbildern, Abb. 5b. Das hellste davon ist das Bild nullter Ordnung, links und rechts schließen sich in abnehmender Helligkeit Beugungsbilder höherer Ordnung an.

27834 - 940 R

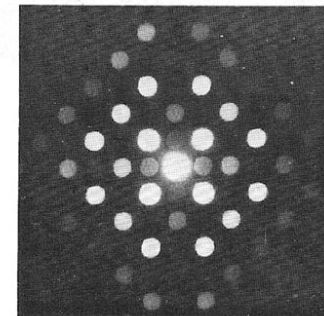
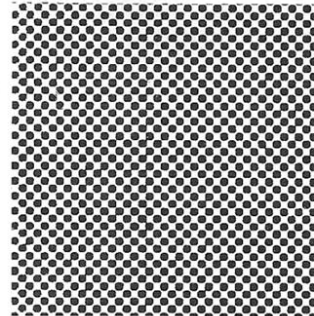


Abbildung 6a, 6b.

Beugung am Flächengitter

Die Beugungsbilder des schachbrettartigen Flächengitters (Abbildung 6a) sind im Gegensatz zu denen des Strichgitters flächenartig verteilt und erstrecken sich über die ganze hintere Brennebene. Siehe Abbildung 6b und Titelseite. Das helle, farblose Zentralbild repräsentiert die nullte Ordnung. Um dieses Zentralbild herum gruppieren sich die Beugungsbilder, deren Positionen je nach Farbe etwas verschoben sind. Da längerwelliges Licht grundsätzlich stärker gebeugt wird, sind die roten Beugungsbilder nach außen verschoben.

27833 - 940 R

Abb. 7 zeigt die Bildentstehung unter Berücksichtigung der Beugung. Aus Gründen besserer Übersicht sind anstatt Wellenfronten die mit der Fortpflanzungsrichtung der Wellen identischen Wellennormalen gezeichnet. Die ebene Wellenfront des Beleuchtungslichtes trifft auf das Gitter. Jetzt ist jeder Gitterspalt nach Huygens das Erregungszentrum einer Elementarwelle (Beugung).

Diese Elementarwellen erreichen mit gleichen Phasen nur das Zentrum der Objektivbrennebene, wo sie das Hauptbild erzeugen, welches man auch das Maximum nullter Ordnung nennt.

Nach beiden Seiten schließen sich die Nebenbilder an, die Maxima 1., 2. usw. Ordnung. Diese entstehen durch Interferenz der Elementarwellen, die dort mit Phasenunterschieden von 1, 2, usw. Wellenlängen ankommen. Die Nebenbilder zeigen Farbsäume infolge der unterschiedlichen Wellenlängen bei weißem Licht. Das übrige Gebiet der hinteren Objektivbrennebene bleibt dunkel, weil sich die Elementarwellen dort durch Interferenz auslöschen. Von den Interferenzmaxima gehen wieder Elementarwellen aus, die in der Zwischenbildebene zum vergrößerten Bild des Objektes, in unserem Fall des Gitters, interferieren.

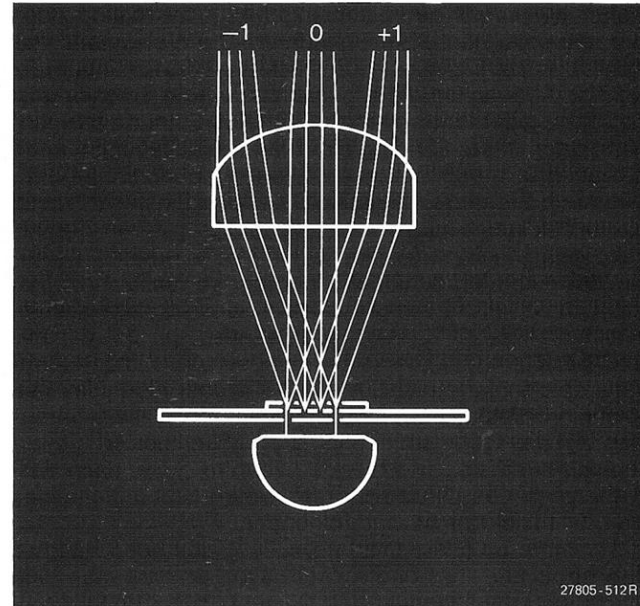


Abbildung 7.

Ein aus dem Beleuchtungslicht herausgegriffenes Parallelstrahlenbündel trifft auf ein Gitter. Hier entstehen durch Beugung Bündel 1., 2. ... Ordnung. Sie ergeben zusammen mit dem direkten Licht nullter Ordnung das mikroskopische Bild.

Die Auflösung wellenoptisch gesehen

Die Apertur

Aus der wellenoptischen Betrachtung ergibt sich unmittelbar die quantitative Beziehung für das Auflösungsvermögen eines Objektivs. Darunter versteht man das Vermögen eines Objektivs, zwei nahe beieinander liegende Punkte noch getrennt sichtbar zu machen. Ein Auflösungsvermögen von $1 \mu\text{m}$ bedeutet, daß zwei punktförmige Teilchen im Abstand von $1 \mu\text{m}$ gerade noch getrennt werden.

Abbildung 8 zeigt einen Ausschnitt des Gitters sowie das 0. und 1. Interferenzmaximum. d ist der Abstand von Gitterspalt zu Gitterspalt. Die Punkte A und B sind in gleicher Schwingungsphase, weil mit kohärentem und parallelem Licht beleuchtet wurde. C und B sind ebenfalls in Phase, weil $AC = \lambda$ (Wellenlänge) ist. Bei C liegt ein rechter Winkel, da die Wellenfront senkrecht zum gebeugten Bündel 1. Ordnung

$$\sin \alpha = \frac{\lambda}{d}$$

Zur Auflösung des Gitters muß das Objektiv also mindestens das abgebeugte Bündel 1. Ordnung noch aufnehmen, damit in der Zwischenbildebene ein Bild durch Interferenz entstehen kann. Entscheidend hierfür ist die Apertur des Objektivs, die definiert ist durch:

$$\text{Apertur } A = \sin \alpha \text{ für Trockenobjektive} \\ = n \cdot \sin \alpha \text{ für Immersionen (n)}$$

Hierbei ist α der größte Winkel, den ein Strahl mit der optischen Achse bilden kann, um vom Objektiv gerade noch aufgenommen zu werden.

Demnach löst ein Trockenobjektiv ein Gitter mit dem Spaltabstand d noch auf, wenn seine Apertur $A = \sin \alpha$ mindestens die Größe λ/d hat.

Als Formel ausgedrückt: $A = \frac{\lambda}{d}$

Diese Formel, sie gilt auch für Immersionen, stellt eine gute Näherung des Auflösungsvermögens bei ausschließlich senkrechter Beleuchtung dar. Die Größe d kann hier

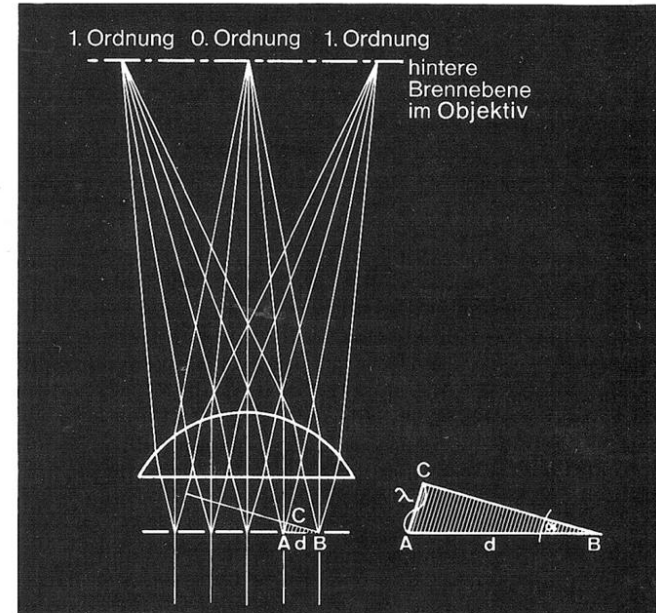


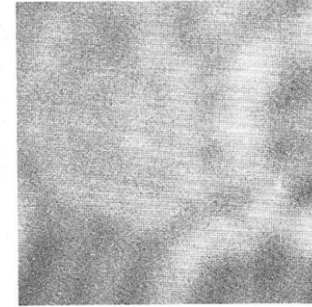
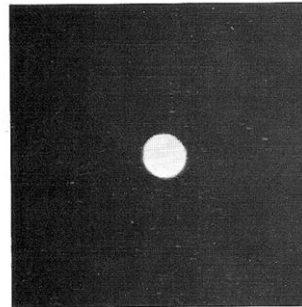
Abbildung 8, 8a
Abbildung 8 zeigt ein Gitter mit fünf Gitterspalten. Auf das Gitter fällt paralleles Licht. Ein Teil pflanzt sich nach den Gesetzen der geometrischen Optik in gleicher Richtung fort und wird im Brennpunkt des Objektivs gesammelt. Dargestellt sind ferner die am Gitter gebeugten Bündel 1. Ordnung, die auf die hintere Brennebene des Objektivs fokussiert werden. Die Richtung der am Gitter gebeugten Bündel 1. Ordnung ergibt sich aus dem Dreieck A, B, C, das in Abbildung 8a vergrößert dargestellt wurde.

auch interpretiert werden als Abstand zweier benachbarter Objektpunkte, die gerade noch getrennt zu erkennen sind.

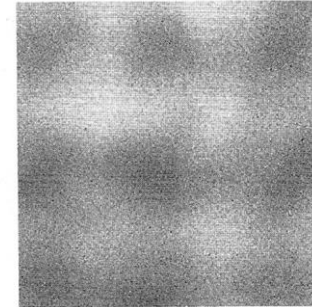
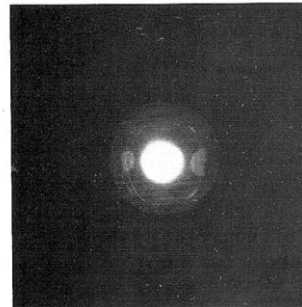
In der Praxis arbeitet man nie mit senkrechter Beleuchtung, also parallelem Licht. Außerdem ist die Beleuchtungsapertur meist kleiner als die Objektivapertur. In diesem

$$\text{Fall gilt } d = \frac{\lambda}{A_{\text{Obj.}} + A_{\text{Bel.}}}$$

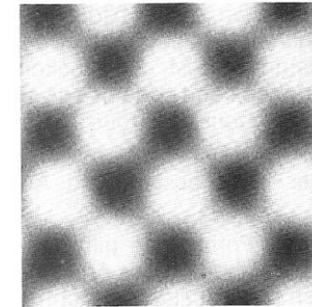
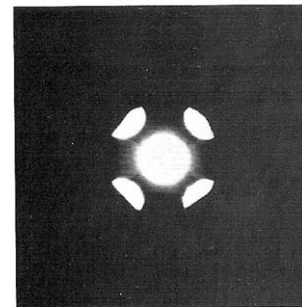
Diese Formel sollte man als Faustregel nehmen. Sie gilt für Objekte mit üblichem Kontrast und setzt normale Farbkontrastempfindlichkeit des Auges voraus. Bei allen Formeln wurden weiterhin auch einwandfrei korrigierte Objektive vorausgesetzt. Bildfehler würden das Auflösungsvermögen natürlich beeinträchtigen. Die numerische Apertur ist aber auch maßgebend für die Lichtstärke und damit die Bildhelligkeit eines Objektivs. Die Bildhelligkeit verändert sich nämlich unter sonst gleichbleibenden Bedingungen proportional mit dem Quadrat der Apertur. Blendet man z.B. die Apertur eines Objektivs auf etwa 70% ab, so sinkt die Bildhelligkeit auf die Hälfte. Dabei vergrößert sich zwar die Tiefenschärfe, gleichzeitig erscheinen jedoch Beugungssäume an allen Bilddetails, die das Auflösungsvermögen beeinträchtigen.



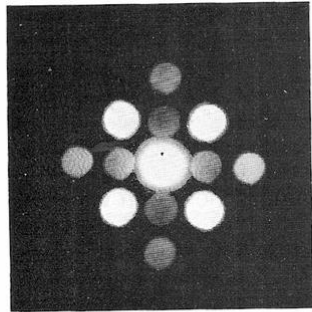
a)



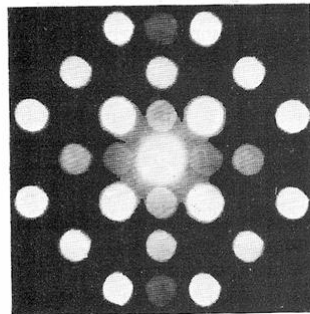
b)



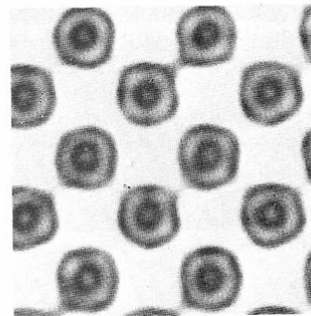
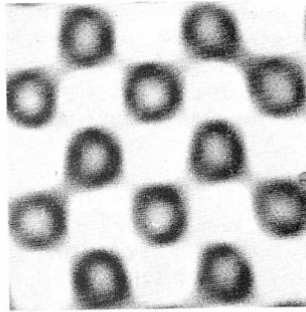
c)



d)



e)



27831-940R

Abbildung 9 a-e
Auflösung in Abhängigkeit von der Objektivapertur.
Zur Aufnahme wurde ein schwaches Objektiv mit eingebauter Irisblende benutzt. Die Aperturblende des Kondensators wurde sehr weit geschlossen.

Links

a) Irisblende in kleinster Stellung, zur Abbildung gelangt nur die nullte Ordnung.

b) Blende etwas geöffnet, so daß Teile der ersten Ordnung zur Abbildung gelangen.

c) Nullte und 1. Ordnung treten ins Objektiv.

d) Bei weiterem Öffnen der Irisblende treten höhere Ordnungen ins Objektiv.

e) Volle Öffnung der Irisblende.

Rechts

Das Bild des schachbrettartigen Gitters ist strukturlos. Die unregelmäßigen Strukturen rühren von Staub etc. her.

Man erkennt schemenhaft die schachbrettartige Struktur, die jedoch noch nicht aufgelöst ist.

Das schachbrettartige Muster wird aufgelöst, die Gitterkonstante ist erkennbar.

Die schwarzen Felder sind nun scharf begrenzt. Die weißen Flecken in den Feldern sind typische bildverfälschende Beugungsercheinungen.

Man erkennt jetzt, daß sich die Felder in Wirklichkeit nicht berühren. Auf den Feldern selbst sind nur noch feine Beugungssäume vorhanden.

Die wahre Gestalt des Gitters zeigt Abbildung 6a. Hier wurde zur Aufnahme ein hochauflösendes Objektiv benutzt.

Förderliche Vergrößerung

a) bei visueller Betrachtung

Um eine Objektstruktur, zum Beispiel zwei Punkte, im Mikroskop aufzulösen, d. h., sie auch als zwei Punkte zu sehen, genügt es nicht nur, ein Objektiv entsprechender numerischer Apertur zu verwenden. Das Bild dieser Objektstruktur muß dem Auge auch unter einem hinreichend großen Winkel dargeboten werden. Dieser Winkel muß im Minimum etwas größer als das Auflösungsvermögen des Auges selbst sein. Wir müssen also vorher ermitteln, wie weit zwei Punkte in der Bezugssehweite von 25 cm voneinander entfernt sein dürfen, um vom unbewaffneten Auge aufgelöst zu werden. Bei guter Beleuchtung und entsprechendem Kontrast erhält man als Abstand hierfür ca. 0.15 mm, das entspricht einem Winkel von 2'. Dieser Grenzwinkel ist durch Abstand und Anordnung der Sehelemente auf der Netzhaut bedingt, er ist also eine physiologische Größe. Wir wollen nun die Auflösungsgrenze des Auges und das wellenoptisch hergeleitete Auflösungsvermögen eines Objektivs miteinander verknüpfen. Betrachten wir zwei Punkte im Objekt mit dem Abstand d . Sind die beiden Punkte gerade an der Grenze des Auflösungsvermögens des Objektivs, so gilt

$$d = \frac{\lambda}{2A}$$

Dieser Abstand muß nun so viele Male vergrößert werden, bis die Punkte dem Auge mindestens unter der Distanz von 0.15 mm (entsprechend 2') erscheinen. Also gilt

$$V \cdot \frac{\lambda}{2A} = 0.15 \text{ mm} \quad \text{oder}$$

$$V = \frac{2A \cdot 0.15}{\lambda}$$

Für $\lambda = 550 \text{ nm} = 0.00055 \text{ mm}$ ergibt sich

$$V = \frac{A \cdot 0.30}{0.00055}$$

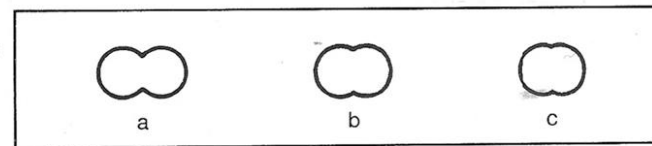
$$V \approx 500 A$$

Diese Überlegungen gelten für Objekte mit mittlerem Kontrast. Bei hohem Kontrast kann man durch ent-

sprechend höhere Vergrößerung die beiden Punkte auch noch auflösen, wenn sie näher beieinanderliegen. Hierzu muß vorausgeschickt werden, daß grundsätzlich jeder Punkt des Objektes infolge der Wellennatur des Lichtes als Beugungsscheibchen abgebildet wird. Je näher nun zwei Punkte beieinanderliegen, desto mehr überlappen sich die Beugungsscheibchen (Abb. 10 u. 11). Bei hohem Kontrast heben sich die Beugungsscheibchen vom Umfeld natürlich besser ab. Das Auge kann dann die Einschnürung an den beiden Überlappungsstellen besser erkennen und dementsprechend besser auflösen.

Die Erfahrung hat gezeigt, daß man die Gesamtvergrößerung bei solchen Objekten etwa bis 1000 A steigern kann. Bei Vergrößerungen über 1000 A erscheinen die Bilder in der Regel nur noch unscharf.

Der Bereich von 500 A bis 1000 A wird nutzbare oder förderliche Vergrößerung genannt. Schwächere Vergrößerungen als 500 A geben brillantere Bilder, aber das Auflösungsvermögen des Objektivs wird dabei nicht voll genutzt, und das Auge vermag feine Details von der Größe $d = \frac{\lambda}{2A}$ nicht mehr aufzulösen. Bei niedrigen Gesamtvergrößerungen kann das meist hingenommen werden.



27837-512 R

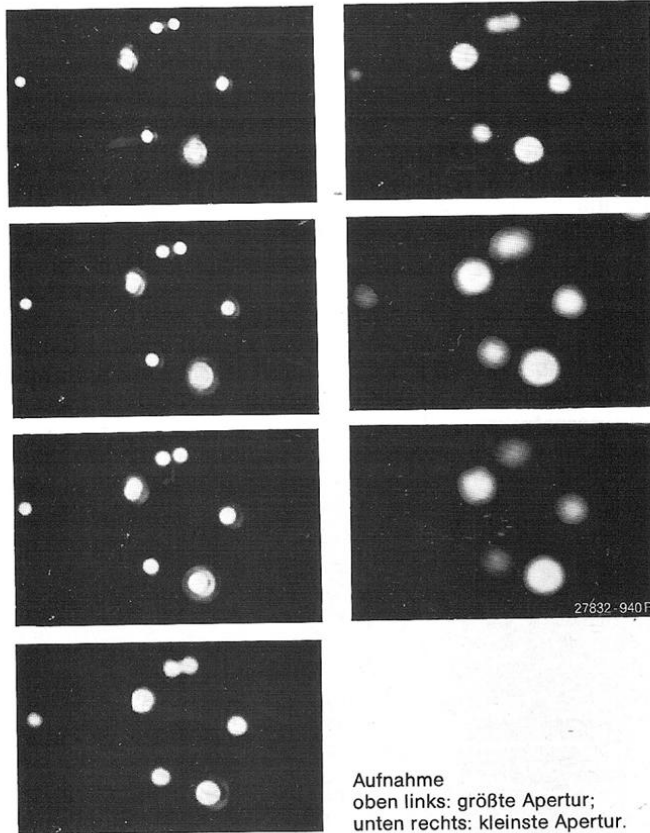
Abbildung 10

Zwei benachbarte Beugungsscheibchen in verschiedenen Abständen

a) Die Scheibchen erscheinen deutlich getrennt.

b) Eine Trennung ist nicht mehr mit Sicherheit erkennbar.

c) Die Einschnürung an den beiden Überlappungsstellen ist bereits so schwach, daß die Figur auch von einem einzigen Objektteilchen herühren könnte.



Aufnahme
oben links: größte Apertur;
unten rechts: kleinste Apertur.

Abbildung 11

Es wurde ein Objektträger mit aufgedampfter, lichtundurchlässiger Schicht benutzt, in der submikroskopisch kleine Löcher enthalten sind. Die Mikroaufnahmen zeigen jeweils am oberen Rand zwei solcher eng benachbarter Löcher. Bei der Aufnahme mit der größten Objektivapertur erkennt man zwei deutlich getrennte Beugungsscheibchen, während bei der kleinsten Apertur diese beiden Beugungsscheibchen so groß sind, daß sie zu einem einzigen verschmelzen, also nicht mehr aufgelöst werden können. Die dazwischenliegenden Aufnahmen wurden mit stufenweise abnehmender Apertur gemacht, wobei die Apertur jeweils um den Faktor 1,3 verringert wurde.

b) bei Mikrophotographie

Während bei der visuellen Betrachtung die Auflösung von Anordnung und Abstand der Sehelemente begrenzt ist, wird bei der photographischen Aufnahme die Auflösungsgrenze von den Silberkörnern der Filmemulsion bestimmt. Diese Silberhalogenidkörner haben je nach Filmgradation eine bestimmte Größe. Sie beträgt bei Filmen mittlerer Empfindlichkeit etwa $2 \mu\text{m}$, bei feinkörnigen Emulsionen liegt sie unter $1 \mu\text{m}$. Aus den Silberkörnern baut sich durch Belichtung das photographische Bild auf. Bei der Belichtung werden aber nicht nur die vom Licht direkt getroffenen Stellen geschwärzt, sondern durch Streuung an den einzelnen Körnern breitet sich die Schwärzung auch diffus innerhalb der Schicht aus. Dieser Diffusions-Lichthof wird als Zerstreungskreis bezeichnet. Er geht anstelle der wirklichen Korngröße in die Rechnung ein.

Überträgt man die Überlegungen des vorigen Kapitels auf die Mikrophotographie und setzt als Zerstreungskreis eines Feinkornfilmes

$$\frac{1}{60} \text{ mm } \varnothing \text{ ein, so gilt analog}$$

$$M \cdot \frac{\lambda}{2 \cdot A} = \frac{1}{60} \text{ mm.}$$

Hierbei ist M die Maßstabsvergrößerung des Bildes auf dem Film, λ die Wellenlänge und A die Apertur.

Durch Umformung und Ausrechnen erhält man

$$M = 60 A$$

Die Konsequenzen, die sich aus dieser Formel für das Filmformat in der Mikrophotographie ergeben, werden im Abschnitt Mikrophotographie behandelt.

Dunkelfeld-Mikroskopie

Für Untersuchungen im Dunkelfeld benutzt man im allgemeinen spezielle Dunkelfeldkondensoren, sogenannte Spiegelkondensoren. Wichtigstes Bauelement hierin ist ein Spiegelkörper, der das Beleuchtungslicht so umlenkt, daß es als ein flacher Hohlkegel die Objektebene schneidet, jedoch nicht ins Objektiv fällt. Von hier aus wollen wir die Entstehung des Bildes wieder wellenoptisch betrachten. Befindet sich kein Objekt im Strahlengang, dann geht das Licht – unter der Voraussetzung, daß die Objektivapertur kleiner ist als die innere Grenzapertur des Kondensors – am Objektiv vorbei; das Sehfeld ist dunkel. Daher rührt die Bezeichnung Dunkelfeld. Ein im Strahlengang befindliches Objekt wird jedoch einen Teil des Beleuchtungslichtes abbeugen. Ein Teil des gebeugten Lichtes fällt ins Objektiv. Das direkte Licht, also das Maximum 0. Ordnung, das ja stets vom geometrischen Strahlengang repräsentiert wird, ist von der Abbildung ausgeschlossen. Zur Bildentstehung trägt also nur das gebeugte Licht bei, Abb. 12a. Da für eine weitgehend objektgetreue Abbildung das Maximum 0. Ordnung unerläßliche Bedingung ist, werden die Objekte im Dunkelfeld nicht völlig objektgetreu dargestellt, sondern sie leuchten nur in ihren Konturen auf. Vom Gitter sind dies beispielsweise nur die Kanten. Die Dunkelfeldmethode ist daher besonders geeignet für alle Arten von Linienstrukturen – wie Kanten, Risse, Geisseln oder solche Objekte, die mangels Kontrast im Hellfeld kaum oder gar nicht sichtbar sind. Innenstrukturen werden nicht so gut wiedergegeben. Das Köhlersche Beleuchtungsprinzip kommt auch bei der Dunkelfeldmethode zur Anwendung.

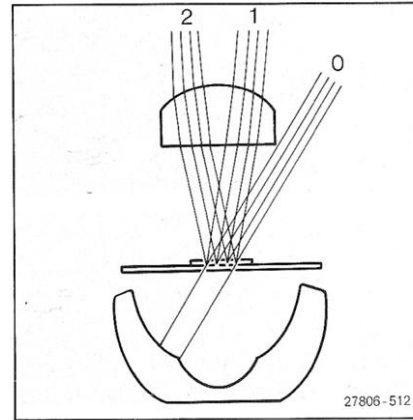


Abbildung 12a
Wellenoptische Beugung im Dunkelfeld
Man sieht, daß infolge des sehr schräg einfallenden Beleuchtungslichtes die 0. Ordnung nicht mehr ins Objektiv gelangt. Zur Abbildung gelangt nur das gebeugte Licht (hier 1. und 2. Ordnung).

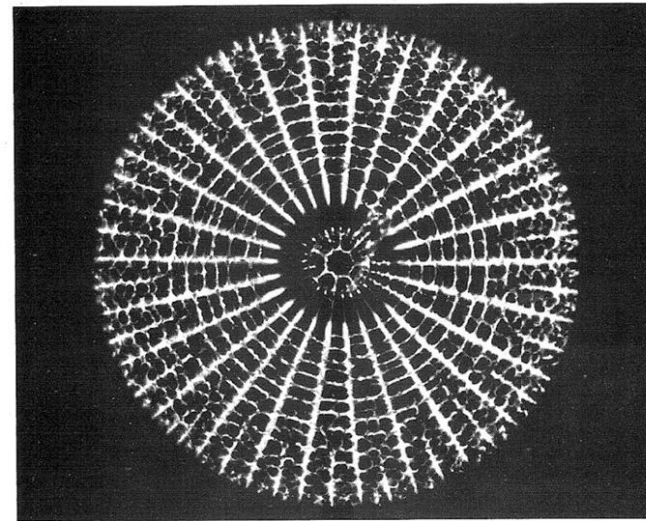


Abbildung 12b
Im Dunkelfeld leuchten vorwiegend die Konturen der Objekte auf.
Radialarie/Kieselalge (Dunkelfeld)

Phasenkontrast-Mikroskopie

Bisher haben wir es mit mikroskopischen Präparaten zu tun gehabt, die bei Beleuchtung mit monochromatischem Licht dessen Amplitude verändern, so daß die einzelnen Strukturelemente verschieden hell erscheinen oder die im Weißlicht die einzelnen spektralen Anteile unterschiedlich stark absorbieren, so daß die jeweiligen Strukturelemente in verschiedenen Farben sichtbar werden. Diese Objekte haben Amplitudenstrukturen; man kann sie im Hellfeld untersuchen. Außerdem kann man mit der Dunkelfeldmethode lineare Amplituden- und Phasenstrukturen sichtbar machen.

Beobachtet man dagegen ungefärbte biologische Dünnschnitte im Hellfeld, so erscheinen die Bilder nahezu leer und ohne Struktur. Zelle und Zellkern zum Beispiel haben im sichtbaren Spektralbereich praktisch die gleiche Durchlässigkeit, so daß Helligkeits- oder Farbunterschiede nicht wahrgenommen werden können. Trotzdem ist in dem Licht, das vom Präparat kommt, ein „Bild“ des Objektes verborgen. Lichtwellen, die den optisch dichteren Zellkern passieren, bleiben in der Phase zurück gegenüber den Wellen, die das Umfeld durchsetzen. Für diese Veränderungen besitzen wir jedoch weder im menschlichen Auge noch in der photographischen Platte einen geeigneten Empfänger. Beide registrieren nur Unterschiede der Intensität und der Wellenlänge, also Abstufungen in Helligkeit und Farbe, jedoch nicht Wellenzüge unterschiedlicher Phase.

Weist der Feinbau der Objekte optische Orientierung (Anisotropie) auf, dann kann das Polarisationsmikroskop die Phasenunterschiede der polarisierten Wellen in Helligkeitsunterschiede verwandeln. Bei optisch isotropen Präparaten blieb lange Zeit nur der Ausweg, das Objekt durch Färben zu differenzieren. Jedoch sind Fixieren, Beizen und Färben Eingriffe, die auch bei schonendster Behandlung die morphologische Struktur des Objektes verändern. Das Phasenkontrastverfahren vermeidet Eingriffe dieser Art am Objekt. Bei ihm wird durch Eingriff in den Strahlengang des Mikroskops die Phasenstruktur des Objektes in ein Amplitudenbild übersetzt. Diese Methode ist sehr empfindlich, es werden Phasenunterschiede von

wenigen Grad in deutlich sichtbare Helligkeitsunterschiede umgewandelt.

Im folgenden Kapitel soll nun am Modellfall eines sehr kleinen Amplitudenobjektes bzw. Phasenobjektes gezeigt werden, welche prinzipiellen Unterschiede zwischen beiden bestehen und wie man mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens von einem Phasenobjekt ein Amplitudenbild gewinnt.

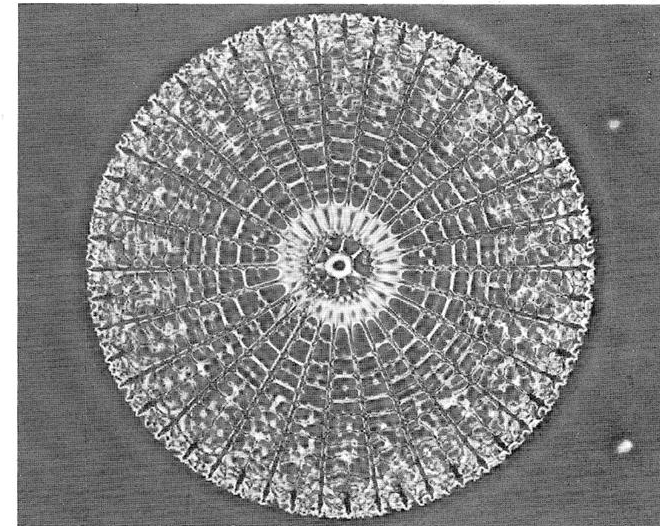
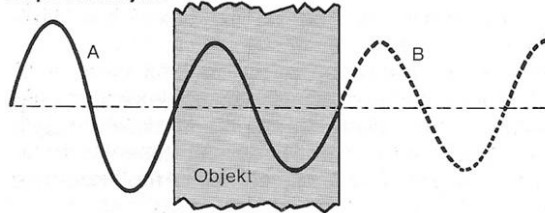
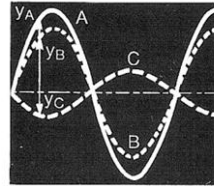


Abbildung 13
Radiolarie/Kieselalge (Phasenkontrast)

Amplitudenobjekt

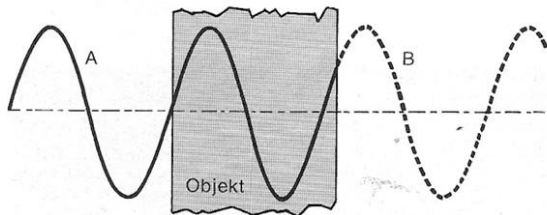


14a

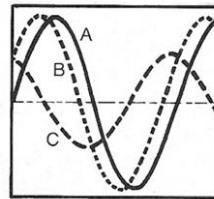


14b

Phasenobjekt im Hellfeld

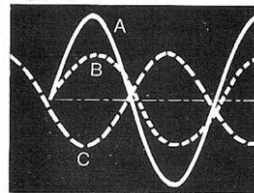


15a



15b

Phasenobjekt im Phasenkontrast



15c

Abbildung 14a und 14b

Amplitudenobjekt im Hellfeld.

In Abbildung 14a trifft das Beleuchtungslicht A auf ein sehr kleines Amplitudenobjekt. Beim Durchsetzen des Objektes verkleinert sich die Amplitude, bis das Licht das Objekt rechts verläßt. Es läuft jetzt als Welle B mit der verkleinerten Amplitude weiter.

Abbildung 14b zeigt die Bildentstehung in der Zwischenbildebene nach der Abbe'schen Theorie. Die Summe von Beleuchtungslicht Y_A und Beugungslicht Y_C ergibt das Bild des Objektes Y_B .

Abbildung 15a und 15b

Phasenobjekt im Hellfeld.

In Abbildung 15a trifft das Beleuchtungslicht A auf das sehr kleine Phasenobjekt. Beim Durchsetzen des Objektes wird die Lichtwelle im optisch dichteren Medium des Objektes zusammengedrängt und verläßt das Objekt rechts (Welle B) mit einer Phasenverschiebung gegenüber dem Beleuchtungslicht, das am Objekt vorbei geht (hier nicht gezeichnet).

Abbildung 15b zeigt die Bildentstehung in der Zwischenbildebene nach der Abbe'schen Theorie. Es gilt auch hier das in Abbildung 14b Gesagte.

Abbildung 15c

Phasenobjekt im Phasenkontrast.

Gegenüber Abbildung 15b wurde das Beleuchtungslicht A um 90° ($1/4$ -Wellenlänge) nach rechts verschoben, während das Beugungslicht C unverändert blieb. Addition entsprechend der Abbe'schen Theorie ergibt die neue Bildwelle B, die jetzt eine kleinere Amplitude hat. Beim Vergleich von Abbildung 14b und 15c – schwarze Felder – erkennt man schon rein äußerlich die prinzipielle Ähnlichkeit aller Kurvenzüge. Aus dem unsichtbaren Phasenbild ist ein sichtbares Amplitudenbild geworden.

Amplitudenobjekte

Wir betrachten ein sehr kleines Objekt im sonst leeren Umfeld eines Mikroskops. Licht, das dieses leere Umfeld passiert, habe die Amplitude A. Es sei das direkte Licht 0-Ordnung und stelle wegen der Kleinheit des Objektes den wesentlichen Anteil am Beleuchtungslicht. Ein kleiner Teil dieses Beleuchtungslichts fällt auch auf das Objekt. Dieses Objekt soll Licht absorbieren, die Phase dagegen unbeeinflusst lassen. Die Amplitude des durchgelassenen Lichtes B ist also kleiner geworden. Abb. 14a.

Nach der Abbe'schen Theorie entsteht das Bild des Objektes durch Interferenz des direkten und des gebeugten Lichtes. Unter der Voraussetzung, daß weitgehend alles gebeugte Licht zur Abbildung gelangt, ist das Bild objektgetreu, d.h. die Wellenzüge in der Zwischenbildebene entsprechen bezüglich Amplitudenverhältnis und Phasenlage denen in der Objektebene. Abbildung 14b.

Das gebeugte Licht läßt sich dann einfach aus beiden Kurven punktweise konstruieren, wenn man bedenkt, daß

$$Y_B = Y_A + Y_C,$$

$$\text{also } Y_C = Y_B - Y_A \text{ ist.}$$

Beugungslicht = Bild - nullte Ordnung.

Das gebeugte Licht ist um 180° gegen das direkte phasenverschoben.

Phasenobjekte im Hellfeld

Abbildung 15 a zeigt ein sehr kleines, durchsichtiges Objekt im leeren Umfeld des Mikroskopes. Wir setzen voraus, es sei optisch dichter als das Umfeld. Das Beleuchtungslicht wird von diesem Objekt in seiner Amplitude nicht wahrnehmbar geändert, hingegen erfährt die Phase eine Verschiebung*) relativ zum Beleuchtungslicht, das durch

das Umfeld gegangen ist. Das direkte Licht wird auch hier wieder im wesentlichen durch das Beleuchtungslicht, das durch das Umfeld passierte, dargestellt.

Wir konstruieren wie beim Amplitudenobjekt aus den beiden Kurvenzügen „direktes Licht“ und „Bild des Objektes“ den Kurvenverlauf des Beugungslichtes. Aus dieser Darstellung ersieht man, daß das Beugungslicht etwa 90° gegen das direkte Licht phasenverschoben ist. Abbildung 15b.

Phasenobjekte im Phasenkontrast

Verschiebt man in Abbildung 15b die Phase des direkten Lichtes um 90° nach rechts, so verlaufen die Kurven A und C wie in Abbildung 15c. Auch jetzt entsteht durch Interferenz von A und C wieder das Bild des Objektes B, das wir gemäß $Y_B = Y_A + Y_C$ konstruieren können.

Vergleicht man Abbildung 15c mit Abbildung 14b, so wird schon auf den ersten Blick die äußere Ähnlichkeit aller Wellenzüge deutlich. Das Beugungslicht ist auch jetzt wieder um 180° gegen das direkte Licht verschoben. Die Kurve B repräsentiert demnach hier wieder ein Amplitudenbild, das dunkel auf hellem Untergrund erscheint. Die Phasenverschiebung des direkten Lichtes um 90° hat also aus dem unsichtbaren Phasenbild ein sichtbares Amplitudenbild gemacht.

Um den Kontrast noch zu steigern, wird das direkte Licht außerdem abgeschwächt, so daß es vom gebeugten Licht durch Interferenz nahezu vollends ausgelöscht wird. Das Amplitudenbild erscheint dann mit hohem Kontrast dunkel auf hellem Grund.

*) In der Praxis betragen diese Phasenverschiebungen einige Grad.

Das Phasenkontrast-Mikroskop

Zur praktischen Durchführung des Phasenkontrastverfahrens schlug Zernike vor, den direkten Strahlengang durch ein Phasenplättchen in der hinteren Brennebene des Objektivs zu beeinflussen. Heute benutzt man dafür ringförmige Lamellen, sogenannte Phasenringe geeigneter Dicke und Absorption.

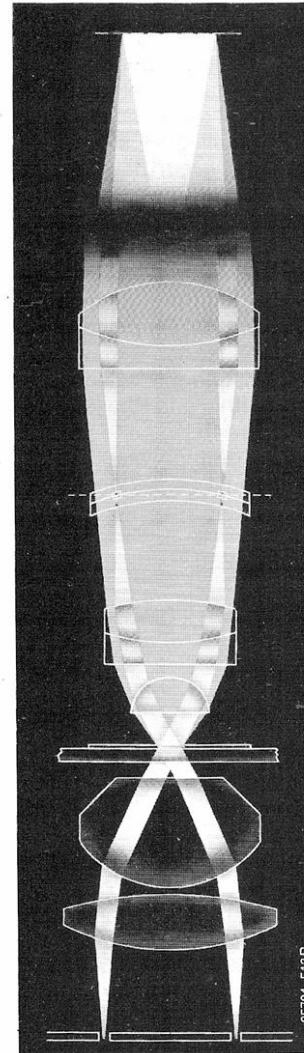
Diese Phasenringe legt man in die hintere Brennebene des Objektivs, wo sich ja das direkte Licht vereinigt. Das Beugungslicht ist dagegen über die ganze hintere Brennebene verteilt, es wird vom Phasenring kaum beeinflusst. Läßt der Phasenring das durch ihn strömende Licht um ein Viertel der Wellenlänge voreilen und schwächt es gleichzeitig, dann entsteht bei der Überlagerung von direktem und gebeugtem Licht im Bildfeld „positiver Phasenkontrast“. Objekte, die eine größere Brechzahl haben als ihre Umgebung, erscheinen im Bild dunkler, Objekte mit kleinerer Brechzahl heller als das Umfeld. Hält der Phasenring das direkte Licht um ein Viertel der Wellenlänge zurück, so entsteht „negativer Phasenkontrast“ mit den umgekehrten Kontrastverhältnissen.

Ein ringförmiges Phasenplättchen im Objektiv setzt naturgemäß auch voraus, daß das Licht von einer ringförmigen Lichtquelle herkommt. Man erreicht dies durch eine im Kondensator angebrachte Blende. Der Durchmesser dieser Blende bestimmt die Beleuchtungsapertur, die ungefähr die Hälfte der Objektivapertur betragen muß.

Der Phasenkontrastkondensator enthält daher mehrere der Objektivs zugeordnete Ringblenden, die auf einer Revolverscheibe angeordnet sind. Den Verlauf des Strahlenganges von direktem und gebeugtem Licht im Phasenkontrastmikroskop von der Ringblende des Kondensators bis zur Zwischenbildebene zeigt Abbildung 16.

Infolge der Ringblenden und der Absorption der Phasenringe erfordert das Phasenkontrastverfahren stärkere Lichtquellen als das Hellfeldverfahren.

Abbildung 16
Strahlengang eines flächenhaften Phasenobjektes.



Text bitte von unten nach oben in Richtung des Strahlenverlaufs lesen.

Wie beim Amplitudenobjekt interferieren Beleuchtungslicht und Beugungslicht in der Zwischenbildebene zum mikroskopischen Bild. $\Delta \varphi$ ist jetzt 180° , es hat also den gleichen Wert wie beim Amplitudenobjekt.

Der in der Brennebene des Objektivs liegende Phasenring läßt das ringförmige Beleuchtungsband um 90° voreilen und schwächt es gleichzeitig. Das Beugungslicht ist über die ganze Brennebene verteilt; es wird vom Phasenring praktisch nicht beeinflusst.

Am Objekt wird Licht abgebeugt. Bei einem Phasenobjekt ist in der Objektebene die Beleuchtungswelle gegenüber der Beugungswelle um $\Delta \varphi = 90^\circ$ verschoben. Beim Amplitudenobjekt ist $\Delta \varphi = 180^\circ$.

Das Beleuchtungslicht fällt als Hohlkegel aus der Ringblende des Kondensators.

Interferenzkontrast-Mikroskopie

Mit diesem Verfahren werden, wie auch in der Phasenkontrast-Mikroskopie, ungefärbte transparente Objekte kontrastreich dargestellt. Es entsteht ein außerordentlich plastisches Bild, in dem die optischen Wegelängendifferenzen des Objektes sichtbar werden, keineswegs das geometrische Profil. Die Interferenzkontrast-Methode erweist sich beim Untersuchen von Objekten mit optischen Wegelängendifferenzen zwischen $\lambda / 10$ und λ als sinnvoll. Sie vermittelt somit zwischen der Phasenkontrast- und der klassischen Hellfeld-Mikroskopie.

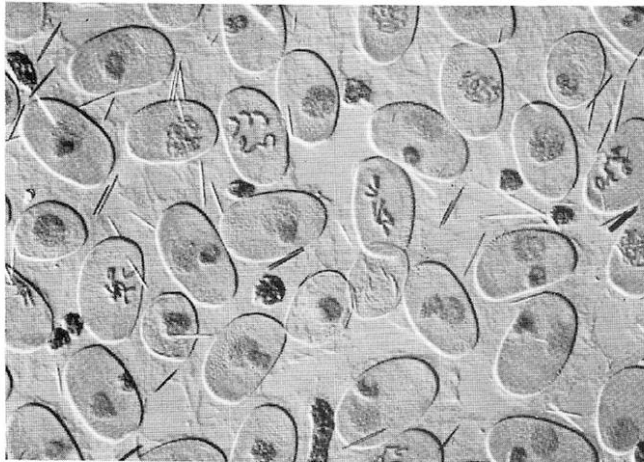


Abb. 17
Pollen, Tradescantia im Interferenzkontrast

27835 - 940 R

Grundprinzip und Funktion

Die Leitz-Interferenzkontrast-Einrichtung beruht auf dem Prinzip der Zweistrahlinterferenz. Das Grundprinzip ist in Abbildung 18 schematisch für eine ebene Welle, d. h. für paralleles Licht dargestellt. Zum Verständnis ist aber eine vorherige Erklärung des Wollaston-Prismas erforderlich.

Ein Wollaston-Prisma besteht aus zwei miteinander verkitteten, doppelbrechenden Prismen, deren kristallographische Achsen einen rechten Winkel bilden. Die eine Achse liegt in der Zeichenebene, die andere steht senkrecht dazu (Abb. 18a). Außerdem liegen beide Achsen parallel zur Ein- und Austrittsfläche des Doppelprismas. Fällt ein Lichtstrahl senkrecht auf das Wollaston-Prisma, so wird dieser in zwei senkrecht zueinander polarisierte Strahlen zerlegt. Liegt der Zerlegungspunkt in der Mitte der Trennfläche, wo also beide Prismen gleich dick sind, dann sind die aus dem Wollaston-Prisma austretenden Strahlen in Phase. Liegen die Zerlegungspunkte seitlich davon, so tritt ein Gangunterschied zwischen den beiden senkrecht zueinander polarisierten Teilstrahlen auf. Bringt man das Doppelprisma zwischen zwei Polarisatoren, so kann man im monochromatischen Licht eine Serie von geradlinigen Interferenzstreifen beobachten. Im Weißlicht erscheinen zwischen zwei gekreuzten Polarisatoren die Interferenzstreifen farbig.

Nach diesen einleitenden Erklärungen läßt sich das Grundprinzip des Interferenzkontrast-Verfahrens besser verstehen (Abb. 18b). O sei das Objekt, das von einer ebenen Welle durchstrahlt wird. Diese Welle wird beim Durchgang durch das Objekt deformiert. Die neue Wellenfront sei Σ . Das Wollaston-Prisma hinter dem Objektiv O spaltet die Welle Σ in die beiden Teilwellenzüge Σ_1 und Σ_2 auf, die nach Durchsetzen des Analysators A miteinander interferieren, so daß in der Zwischenbildebene Intensitäts- oder Farbunterschiede sichtbar werden.

Diese Anordnung erfordert eine sehr kleine Beleuchtungsapertur, wodurch natürlich das Auflösungsvermögen erheblich reduziert wird. In der Praxis benutzt man daher

eine Anordnung gemäß Abbildung 18c, bei der die Beleuchtungsapertur nicht eingeschränkt wird und die trotzdem einen homogenen Bilduntergrund ermöglicht:

Das von der Lichtquelle kommende natürliche Licht wird vom Polarisator linear polarisiert. Von dort aus gelangt es zum Wollaston-Prisma, das in Diagonalstellung zum Polarisator orientiert ist. In dieser Stellung wird der linear polarisierte Strahl in zwei senkrecht zueinander polarisierte Teilstrahlen gleicher Intensität aufgespalten, die voneinander divergieren. Da der Divergenzpunkt in der Brennebene des Kondensors liegt, wird die Winkelaufspaltung im Wollaston-Prisma zur lateralen Aufspaltung im Objektraum. Demzufolge durchsetzen die Teilstrahlen das Objekt an zwei verschiedenen Punkten und werden dort auch an ihrer Phase unterschiedlich beeinflusst. Die Größe der Aufspaltung ist so gewählt, daß sie unterhalb des Auflösungsvermögens des Mikroskops liegt. Im Mikroskop entsteht also kein sichtbares Doppelbild. Das Objektiv bringt beide Teilstrahlen in der hinteren Brennebene zur Vereinigung. Dort liegt auch das zweite Wollaston-Prisma, das die beiden Teilstrahlenbündel räumlich wieder zusammenführt. Ohne dieses Wollaston-Prisma würden die Teilstrahlen hinter dem Vereinigungspunkt wieder divergieren. Sie durchsetzen jetzt den Analysator und können nun, auf eine gemeinsame Schwingungsrichtung gebracht, interferieren. Die Interferenzfarbe bzw. Intensität in jedem Punkt des Bildfeldes hängt dabei von dem Phasenunterschied der beiden Teilstrahlenbündel und damit von Dicke und Brechzahl der beiden Objektpunkte ab. Die Richtung der Bündelaufspaltung erscheint im Bild wie die seitliche Beleuchtung eines Reliefs.

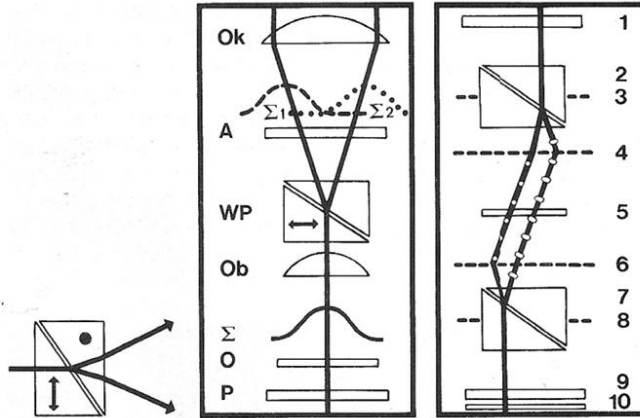


Abbildung 18a, b, c.
Prinzip Interferenzkontrast.

Abbildung 18a
Prinzip Wollaston-Prisma. Das dargestellte Wollaston-Prisma ist stark schematisiert. Der Winkel, den die lange Prismenseite mit der Basis einschließt, beträgt in Wirklichkeit wenige Bogenminuten.

Abbildung 18b
P = Polarisator
O = Objekt
 Σ = Wellenzug
Ob = Objektiv
WP = Wollaston-Prisma
A = Analysator
Ok = Okular

Abbildung 18c
Schema der Leitz-Interferenzkontrasteinrichtung T (Transmission).
1 Analysator
2 Oberes Wollaston-Prisma
3 Hintere Brennebene des Objektivs
4 Objektiv
5 Objekt
6 Kondensator
7 Unteres Wollaston-Prisma
8 Brennebene des Kondensors
9 Lambda/4-Plättchen
10 Polarisator.

27838-512R

Lichtbrechung und Dispersion

Jedes optische Material zeigt eine mehr oder weniger ausgeprägte Dispersion. Darunter versteht man die unterschiedliche Lichtbrechung für die verschiedenen Wellenlängen. Charakterisiert wird die Lichtbrechung in bekannter Weise durch die Brechzahl n mit einem angehängten Index der jeweiligen Wellenlänge. Die mit diesem Index markierte Wellenlänge ist aus der folgenden Tabelle zu entnehmen.

verwendete Spektrallinien	violette Quecksilberlinie	blaue Quecksilberlinie	blaue Cadmiumlinie	blaue Wasserstofflinie	grüne Quecksilberlinie	gelbe Heliumlinie	gelbe Natriumdoppellinie	rote Cadmiumlinie	rote Wasserstofflinie	rote Heliumlinie
	h	g	F'	F	e	d	D	C'	C	r
Element	Hg	Hg	Cd	H	Hg	He	Na	Cd	H	He
Wellenlänge in mm	404,66	435,84	479,99	486,13	546,07	587,56	589,00 589,59	643,85	656,27	706,52

Aus drei Brechzahlen läßt sich nach der Formel $\nu_d = \frac{n_d - 1}{n_F - n_C}$ bzw. $\nu_e = \frac{n_e - 1}{n_{F'} - n_{C'}}$ die Abbe'sche Zahl ν errechnen, mit der die Dispersion zahlenmäßig angegeben wird.

II Anwendungstechnischer Teil

Allgemeine Hinweise

Das Mikroskop wird zum Versand oder zur Aufbewahrung in einem Mikroskopschrank, Koffer oder einer Spezialverpackung untergebracht. Vor dem Herausnehmen achte man darauf, wie das Instrument und die Zubehörteile angeordnet sind, damit sie nach dem Gebrauch wieder ihren richtigen Platz erhalten.

Bevor das Mikroskop aufgestellt wird, einige Hinweise zur Beschaffenheit des Raumes.

Der Raum soll nicht zu hell sein und möglichst kein direktes Sonnenlicht erhalten. Vorteilhaft sind nach Norden gelegene Räume.

Laboratorien mit aggressiven Dämpfen sind gänzlich ungeeignet für das Aufstellen eines Mikroskops. Wenn man mit Eisessig etc. im Mikroskopierraum arbeiten muß, sollte das unter dem Abzug geschehen.

Wird das Instrument aus einem kalten in einen warmen Raum gebracht, so warte man mit dem Mikroskopieren bis die Linsen nicht mehr beschlagen.

Staub ist leider überall zu finden; er kann die Bildqualität oder die mechanischen Funktionen des Mikroskops beeinträchtigen, wenn man das Gerät längere Zeit unbedeckt stehen läßt. Man mache sich daher von vornherein zum Prinzip, das Mikroskop nach Gebrauch stets abzudecken und nichtbenutzte Objektive in den Kunststoffbüchsen aufzubewahren. Beim Hantieren mit den Objektiven, besonders beim Anschrauben der Objektive an den Revolver, achte man darauf, die Frontlinsen nicht mit den Händen zu berühren. Schon ein schwacher Fingerabdruck kann das Bild hoffnungslos flau machen.

Zum Mikroskopieren wähle man einen festen, nicht zu hohen Arbeitstisch, auf dem auch das sonst benötigte Zubehör Platz finden kann. Besonders empfehlenswert sind hier die Leitz-Gerätetische.

Mikroskopieren sollte man nur im Sitzen, in bequemer Körperhaltung mit leicht geneigtem Oberkörper, um Ermüdungserscheinungen vorzubeugen. Es empfiehlt sich, einen in der Höhe verstellbaren Stuhl zu benutzen.

Bei Benutzung eines monokularen Tubus halte man das nicht benutzte Auge offen. Bei einiger Übung wird man

sich schnell daran gewöhnen, nur das Bild im Mikroskop zu sehen und das andere Auge ins „Leere“ blicken zu lassen. Besonders wichtig ist es, mit entspannten Augen zu arbeiten, da sonst das Auge zu leicht ermüdet. Hierzu stelle man sich vor, daß das Bild in weiter Ferne liege. Wenn man sich vergewissern möchte, ob das Auge wirklich entspannt ist, empfiehlt sich folgende Probe: man halte einen Spiegel so vor das unbenutzte Auge, daß man einen fernen Gegenstand erblickt. Wenn das Auge auf diesen Gegenstand akkommodiert ist, muß das andere Auge das vorher scharf eingestellte Bild jetzt auch wirklich scharf sehen. Andernfalls muß mit dem Feintrieb nachgestellt werden.

Weiterhin ist der richtige Abstand des Auges vom Okular wichtig. Dieser ist je nach Okular verschieden. Man gehe langsam mit dem Auge an das Okular heran, bis das Sehfeld voll überblickt wird und scharf begrenzt ist. Jetzt befindet man sich mit der Augenlinse in der Austrittspupille des Okulars, dem Ort der engsten Strahleneinschnürung.

Bei einem Binokulartubus ist noch das Einstellen der richtigen Augenweite erforderlich.

Etwaige Fehlsichtigkeit stört beim Mikroskopieren in den meisten Fällen nicht. Der Benutzer kann bei Kurz- oder Weitsichtigkeit, sogar bei nicht zu großem Astigmatismus, auch ohne die korrigierende Brille scharfstellen. Ungleiche Augenfehler können mittels Okularen mit verstellbaren Augenlinsen kompensiert werden. Für Brillenträger stehen Brillenträgerokulare zur Verfügung; sie haben den Vorteil, daß man mit Brille mikroskopieren kann.

Die weiteren Erläuterungen sollen in den folgenden Kapiteln bei der praktischen Arbeit am Mikroskop gegeben werden.

Mikroskopieren im Hellfeld

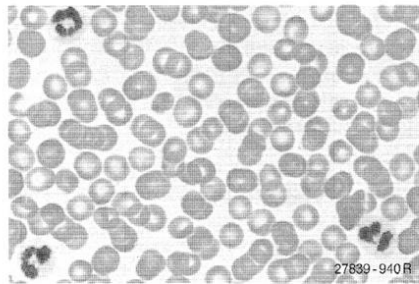
Im Hellfeld werden im allgemeinen Objekte mit farbigen Strukturen untersucht. Diese erscheinen auf Grund ihrer unterschiedlichen spektralen Absorption im Weißlicht farbig differenziert. Im monochromatischen Licht zeigen sie nur Helligkeitsunterschiede. In der Theorie haben wir solche Präparate als Amplitudenobjekte kennengelernt.

Aufbau und Funktion der Beleuchtung

Alle Leitz-Mikroskope mit Leuchtfeldblende sind für Köhlersche Beleuchtung ausgerüstet. Dazu gehören: Nieder-voltleuchte mit vorzentrierter oder zentrierbarer Lampe, ferner Kollektor, Klapplinse, Leuchtfeldblende und Kondensor mit Aperturblende (Siehe auch Theorie, Seite 8). Leuchte und Kondensor sind meist wechselbar. Da Bildqualität und allgemeiner Bildcharakter von der Mikroskopbeleuchtung ausschlaggebend beeinflusst werden, ist dem Gebrauch der Beleuchtungseinrichtung große Sorgfalt beizumessen. Hierzu gehört vor allem der Gebrauch von Apertur- und Leuchtfeldblende sowie das Zentrieren des Kondensors und gegebenenfalls der Leuchte.

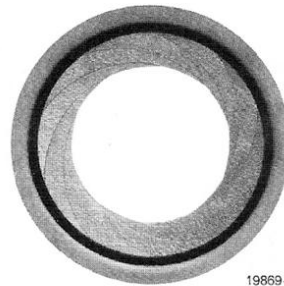


19868-512 R

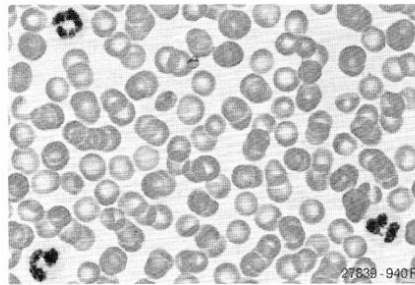


27839-940 R

Abb. 19
Aperturblende ganz geöffnet. Das Blutbild erscheint bei voller Beleuchtungsapertur noch etwas kontrastarm.

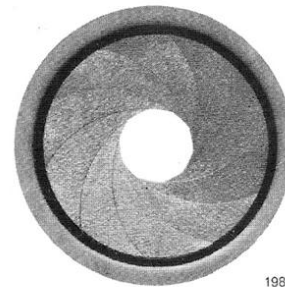


19869-512 R

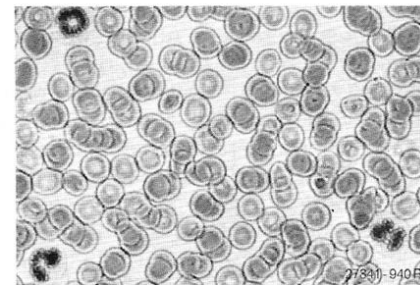


27839-940 R

Abb. 20
Aperturblende auf 2/3 geöffnet. Das Blutbild hat jetzt richtigen Kontrast.



19870-512 R



27839-940 R

Abb. 21
Aperturblende mehr als zur Hälfte geschlossen. Um die Blutkörperchen erscheinen bei verminderter Auflösung die typischen Beugungssäume.

Gebrauch der Aperturblende

Die Aperturblende ist Bestandteil des Kondensors. Wie schon im theoretischen Teil erläutert wurde, läßt sich mit ihr das Bild der Lichtquelle abblenden. Sie führt damit der hinteren Brennebene des Objektivs den erforderlichen Strahlenquerschnitt zu.

Schließt man die zunächst ganz geöffnete Aperturblende langsam und blickt in den Tubus, nachdem man das Okular entfernt hat, so wird das Bild der Blende bei richtig eingestelltem Kondensor irgendwann in der Hinterlinse des Objektivs sichtbar. Jetzt ist die Beleuchtungsapertur gleich der Objektivapertur. Bei dieser Blendeneinstellung – man spricht auch von voller Beleuchtungsapertur – wird man jedoch nur die Strukturen erkennen, die gegenüber der Umgebung durch Absorptionsunterschiede genügend differenziert sind. Diese Strukturen werden dann allerdings mit optimalem Auflösungsvermögen abgebildet. Sind jedoch auch noch kontrastarme Objektdetails oder solche, die sich vorwiegend nur durch den Brechungsindex unterscheiden, vorhanden, und dies ist in der Praxis fast immer der Fall, dann gehe man nach folgender Regel vor: Wenn bei voller Blende alles Sichtbare hinreichend erfaßt ist, schließe man die Blende allmählich bis auf etwa 2/3 der vollen Öffnung. Bei diesem allmählichen Zuziehen treten auch die weniger differenzierten Strukturen deutlich hervor. Ein weiteres Schließen der Blende, also auf etwa 1/2 oder noch kleiner, ist nicht ratsam. Zwar steigert Abblenden den Kontrast, man sollte aber bedenken, daß ein Teil dieser Kontraststeigerung subjektiv ist. Das Bild wird nämlich beim Abblenden gleichzeitig dunkler und täuscht dadurch eine zusätzliche Kontraststeigerung vor. Außerdem wird die Bildqualität bei zu starkem Abblenden durch Beugungssäume beeinträchtigt.

Bleibt noch zu klären, wie sich ein Überschuß an Beleuchtungsapertur auswirkt, wenn also die Beleuchtungsapertur größer als die Objektivapertur ist. Diese Beleuchtung wäre im Prinzip eine Addition von Hellfeld- und Dunkelfeldbeleuchtung. Dementsprechend sähe man ein Hellfeldbild, dem ein Dunkelfeldbild überlagert ist. Dadurch werden Kanten und ähnlich lichtstreuende Strukturen auf-

gehellt und der Kontrast des Bildes erheblich gemindert. Wir empfehlen daher, die Beleuchtungsapertur nie größer zu machen als die Objektivapertur. Dagegen verursacht ein Überschuß an Beleuchtungsapertur nie störendes Streulicht, obwohl dies häufig in der Literatur behauptet wird. Wir brauchen uns nur an die Dunkelfeldmikroskopie zu erinnern, bei der ja stets mit einem Zuviel an Beleuchtungsapertur mikroskopiert wird.

Neben Auflösung und Kontrast wird aber auch noch die Tiefenschärfe von der Aperturblende beeinflusst. Mit kleiner werdender Blendeneinstellung wird nämlich das abbildende Strahlenbündel immer schlanker und die scharf abgebildete Objektschicht damit dicker. Allerdings verringert sich dabei die Auflösung, und man wird deshalb nur bedingt von der die Tiefenschärfe regelnden Funktion der Aperturblende Gebrauch machen.

Auflösung, Kontrast und Tiefenschärfe sind also mit der Aperturblende regelbar. Zur Regulierung der Helligkeit darf sie dagegen auf keinen Fall benutzt werden. Hierfür werden entweder der Transformator oder farbneutrale Graufilter verwendet.

Gebrauch der Leuchtfeldblende

Die Leuchtfeldblende ist im Stativfuß eingebaut und soll dem Mikroskopiker die Möglichkeit geben, den Strahlenquerschnitt der Beleuchtung in der Objektebene zu ändern. Man kann also mit ihrer Hilfe das Leuchtfeld im Objekt so weit abblenden, daß es mit dem Sehfeld des Mikroskops übereinstimmt. Das Objekt wird so vor unnötiger Erwärmung geschützt und Überstrahlungen werden vermieden. Man öffnet die Leuchtfeldblende deshalb nur so weit, daß sie gerade aus dem Sehfeld des Mikroskops verschwindet.

Einstellen des Präparates

Bei Inbetriebnahme eines neuen Stativs muß auch die dem jeweiligen Modell beigegebene Anleitung zu Rate gezogen werden; die in dieser Broschüre beschriebenen Bedienungshinweise sind mehr allgemeiner Natur, sie haben keinen Bezug zu einem bestimmten Mikroskop.

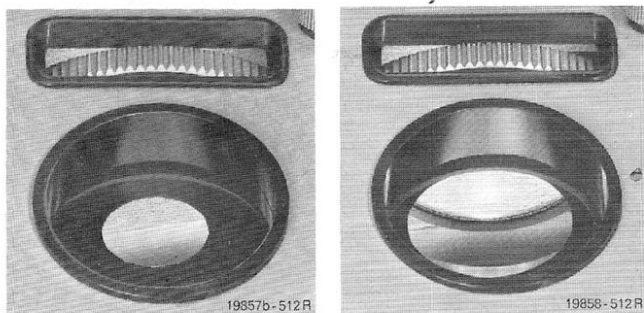
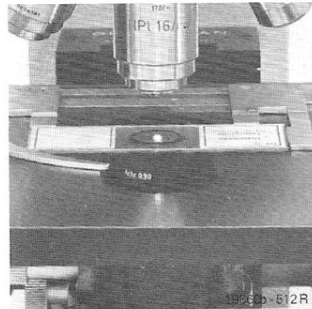
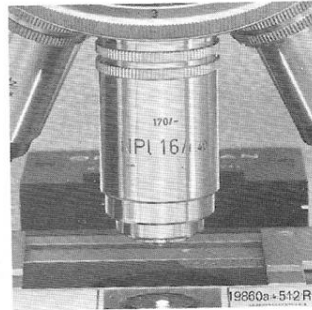


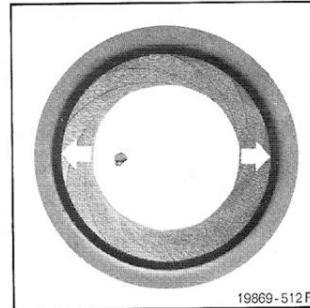
Abb. 22
Im Stativfuß eingebaute Leuchtfeldblende.
Links: geschlossen, rechts: ganz geöffnet.



1. Präparat auf dem Objektisch befestigen.



2. Zur ersten Einstellung ein Objektiv 10:1 oder 16:1 wählen. Bei diesen Objektiven ist der Arbeitsabstand so groß, daß man nicht so leicht mit der Frontlinse auf das Präparat stößt.



3. Aperturblende und Leuchtblende ganz öffnen.

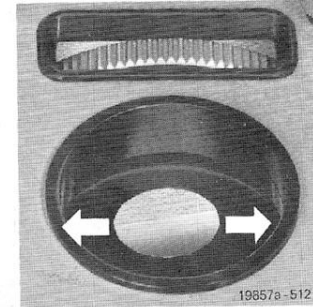
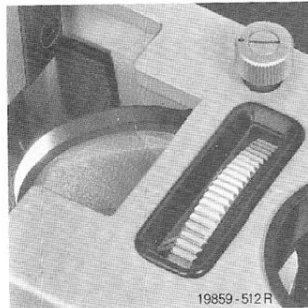
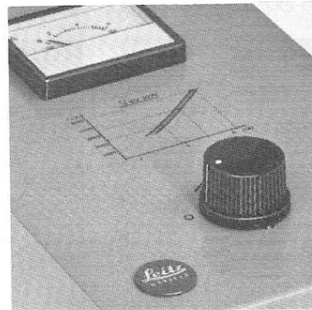


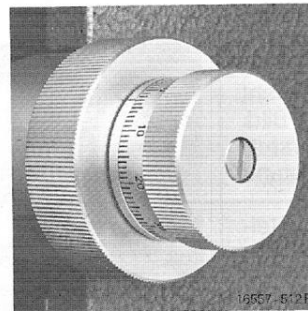
Abb. 23.1 bis 23.7



4. Etwaig vorhandene Klapplinse im Stativfuß einschalten. Die Linse bleibt bei allen Untersuchungen im Hell- und Dunkelfeld eingeklappt. Ausnahme: Objektiv 1:1.



5. Beleuchtung auf angenehme Helligkeit einregulieren. Zu helles Licht schadet dem Auge, besonders bei Dauerbeobachtung.

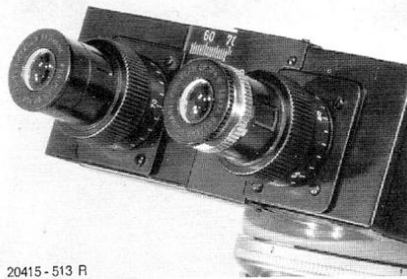


6. Präparat mit Grobtrieb und Feintrieb scharfstellen.

7. Bei Benutzung eines Binokulartubus S oder FSA sind vor dem Scharfstellen des Präparates noch der Tubus einzustellen und gegebenenfalls Korrekturen auf Fehlsichtigkeit vorzunehmen. Einzelheiten siehe nächstes Kapitel.

Einstellen des Binokulartubus S

Abb. 24



1. Abstand der beiden Okularrohre auf Augenweite einstellen: Die beiden Teilbilder im Mikroskop müssen gleichzeitig voll sichtbar sein und sich überdecken. Man sieht jetzt ein einziges, kreisrundes Bild.
2. Die beiden drehbaren Okularstutzen auf abgelesenen Augenabstand einstellen.
3. Bildschärfe mit Feintrieb nachstellen.
4. Verstellbare Augenlinse nachstellen, bis das Bild auch in diesem Okularrohr scharf ist.

Einstellen des FSA-Tubus mit zwei verstellbaren Okularen

Abb. 25

1. Abstand der beiden Okularrohre auf Augenweite einstellen: Die beiden Teilbilder im Mikroskop müssen gleichzeitig voll sichtbar sein und sich überdecken. Man sieht jetzt ein einziges, kreisrundes Bild.

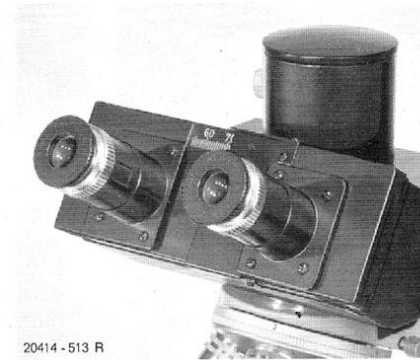
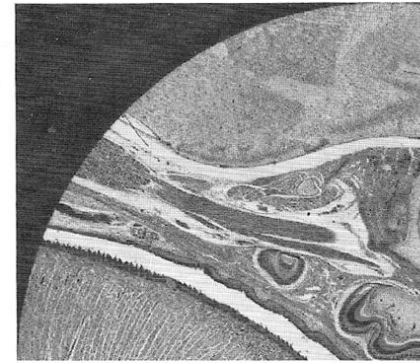
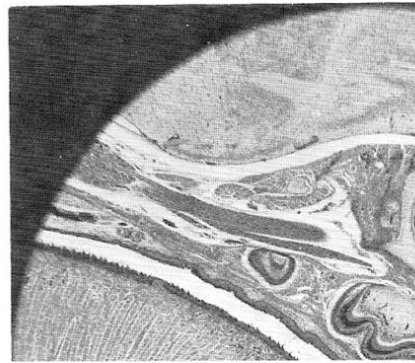


Abb. 26 a-b



2. Augenlinsen beider Okulare so lange verstellen, bis die Blendenränder bei beiden Okularen scharf erscheinen.
3. Bildschärfe mit Feintrieb nachstellen.

Zentrieren der Lampe

Lampe gemäß zugehöriger Mikroskop-Anleitung zentrieren. Die Zentrierung kann kontrolliert werden, indem man die mitgelieferte Kunststoff-Mattscheibe oder ein Blatt

Pergament etc. auf das Staubabschlußglas des Mikroskops legt und den Kollektor verstellt. Der Leuchtfleck darf dann nicht einseitig wandern.

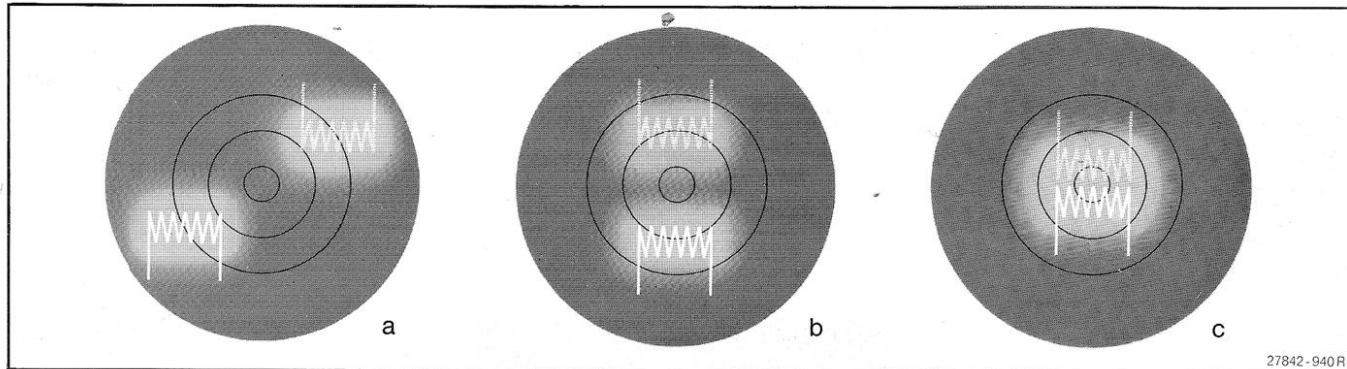


Abb. 27a-c
Zentrieren der Lampe am Beispiel der Halogen-Glühlampe 12V 100W.

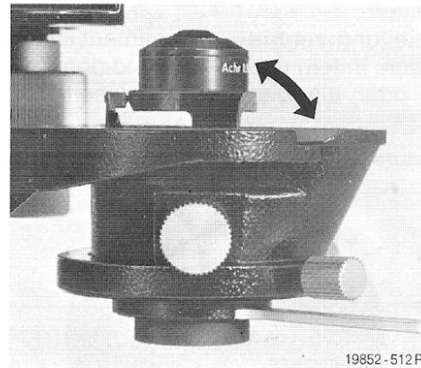
Abb. a
Wendel und Spiegelbild sind scharf eingestellt.

Abb. b
Wendel und Spiegelbild sind in die Mitte gerückt.

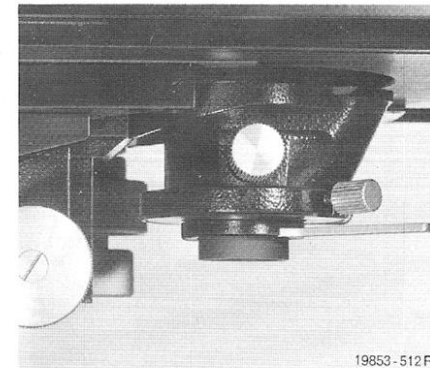
Abb. c
Wendel und Spiegelbild sind richtig zentriert.

Handhabung des Kondensors

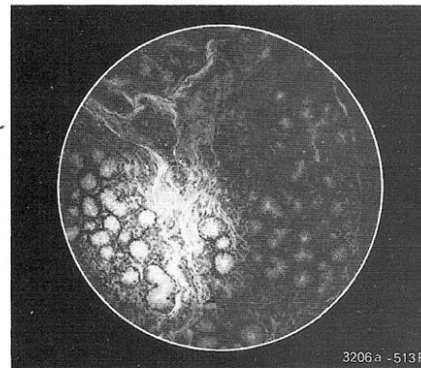
Abb. 28.1 bis 28.8



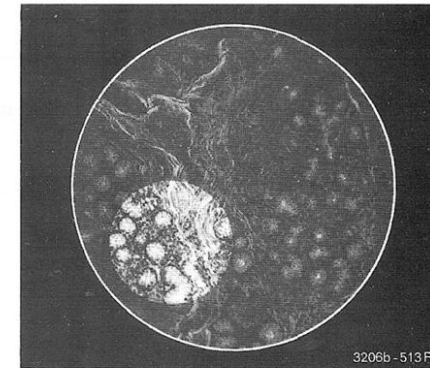
1. Kondensorknopf einklappen



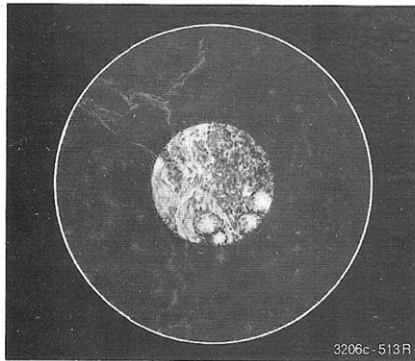
2. Kondensor in oberste Stellung bringen.



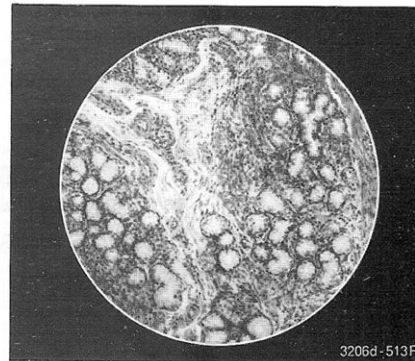
3. Lichtfeldblende schließen.



4. Lichtfeldblende mit der Höhenverstellung des Kondensors scharfstellen. Der farbige Saum, der bei höher korrigierten Kondensoren sichtbar wird, ist für die Bildqualität bedeutungslos. Ihn vollends auszukorrigieren, würde einen zusätzlichen, nicht gerechtfertigten Aufwand erfordern.



5. Leuchtfeldblende mit den beiden Zentrierschrauben des Kondensors in die Mitte des Sehfeldes bringen – zentrieren.



6. Leuchtfeldblende öffnen, bis sie gerade aus dem Sehfeld entschwindet.

7. Aperturblende entsprechend Objektiv und Objekt öffnen:

a) Bei sehr kontrastreichen Objekten Beleuchtungsapertur = Objektivapertur.

b) In allen anderen Fällen: Zunächst Beleuchtungsapertur = Objektivapertur.

Hat man bei dieser Einstellung alle Einzelheiten hinreichend erfaßt, so ist die Blende zu schließen, bis auch die kontrastarmen Strukturen hervortreten. 2/3-Öffnung soll im allgemeinen nicht unterschritten werden.

8. Ausleuchtung erforderlichenfalls durch Betätigen des Kollektors korrigieren. Das Sehfeld muß vollkommen gleichmäßig ausgeleuchtet sein.

Das richtige Deckglas bei Trockensystemen

Auch erfahrene Mikroskopiker sind immer wieder erstaunt, daß Schnittpräparate vom gleichen Objekt unter gleichen Bedingungen Bilder unterschiedlichen Kontrastes liefern können. Dabei sollte man ruhig einmal das Deckglas in Betracht ziehen.

Das Deckglas ist für Objektive mit einer Apertur über 0,40 in die optische Korrektur einbezogen, also unerläßlicher Bestandteil des abbildenden Systems. Dabei ist vorausgesetzt, daß seine Dicke 0,17 mm beträgt. Weicht die effektive Deckglasdicke von 0,17 mm ab, so muß man unter Umständen mit einer Kontrastminderung rechnen. Je höher die Objektivapertur, desto kleiner werden, wie die Tabelle zeigt, die zulässigen Abweichungen. So weit die Theorie.

Diese Norm gilt allerdings nur unter der Voraussetzung, daß das Objekt unmittelbar der Deckglas-Unterseite anliegt. In der Praxis befindet sich jedoch zwischen Objekt und Deckglas eine Schicht Einbettungsmedium unbekannter Dicke, die die Deckglasdicke effektiv erhöht. Das benutzte Deckglas wird also im allgemeinen entsprechend dünner als 0,17 mm sein müssen. Generell benutze man deshalb lieber Deckgläser zwischen 0,15 und 0,16 mm, gebrauchte nie zuviel Einbettungsmittel und beschwere ggf. die Deckgläser während des Trocknens. Für Paraffinschnitte von 5-7 μm , die wohl in der Mikroskopie am meisten berücksichtigt werden müssen, hat man Deckglaswerte von $0,17 \pm 0,00$ -0,035 mm mit einem Optimum von 0,155 mm ermittelt.

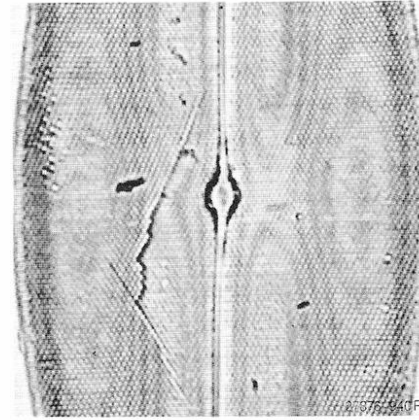
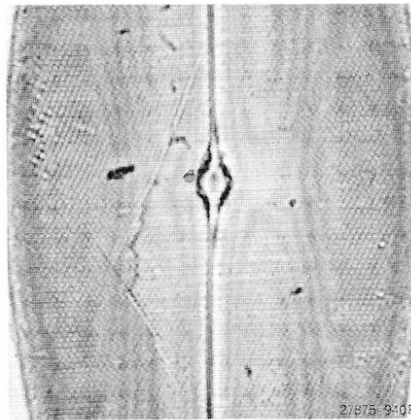
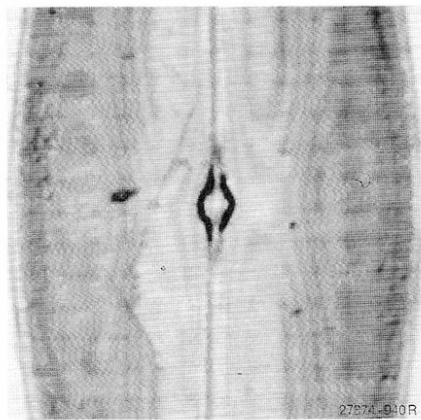


Abb. 30a bis 30c zu Seite 37
Die Bedeutung der Apertur für das Auflösungsvermögen.
Alle Aufnahmen haben die gleiche Endvergrößerung.

links: Apertur 0.40
mitte: Apertur 0.65
rechts: Apertur 0.75

Bei Trockenobjektiven mit einer Apertur über 0,75 ist die erforderliche Genauigkeit der effektiven Deckglasdicke kaum noch zu erreichen. Aus diesem Grunde versieht man Trockensysteme mit einer Apertur über 0,75 mit Korrektionsfassungen, die das Objektiv an die tatsächliche Objektbedeckung im Bereich von 0,12 bis 0,22 mm anzugleichen erlauben.

Objektive mit einer Apertur unter 0,40 können mit oder ohne Deckglas benutzt werden.

Abweichungen von der Deckglas-Brechzahl sind bei allen Trockenobjektiven nicht kritisch.

Apertur

Effektive Deckglasdicke

0,40

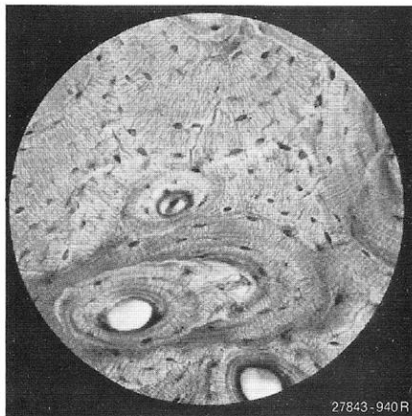
$0,17 \pm 0,09$

0,60

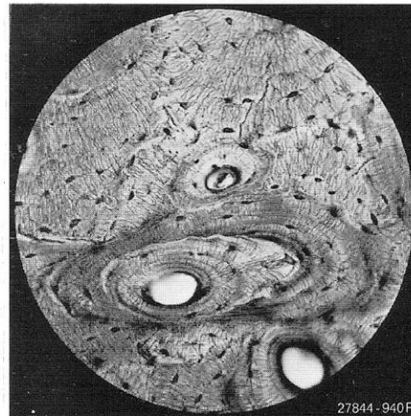
$0,17 \pm 0,013$

0,75

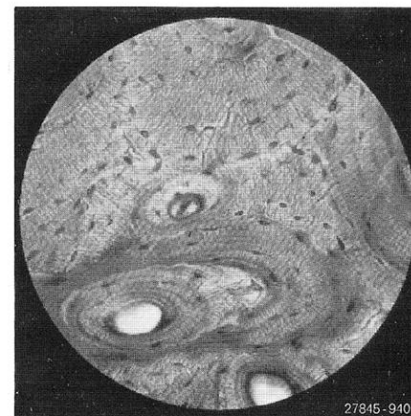
$0,17 \pm 0,004$



27843-940R



27844-940R



27845-940R

Abb. 31a bis 31c
Die Bedeutung des Deckglases bei Trockensystemen
mit hoher Apertur. Objektiv: PL APO 63/0.95.

links: Deckglas zu dünn; 0,14 mm
mitte: Deckglas richtig; 0,17 mm.
rechts: Deckglas zu dick; 0,20 mm.

abgestandener Immersionstropfen durch frisches Öl ergänzt, so bilden sich Schlieren, die die Bildqualität beeinträchtigen.

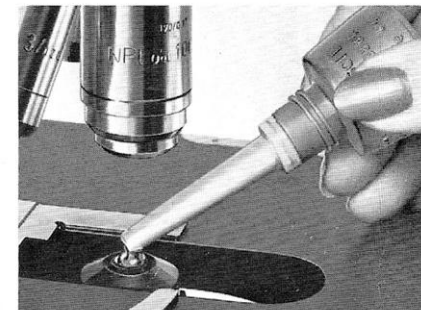
Streng genommen benötigt eine Ölimmersion mit ihrer hohen Apertur auch eine entsprechende Beleuchtungsapertur. Will man die volle Leistung dieser Systeme ganz nutzen, so muß die Beleuchtungsapertur sogar an die Objektivapertur heranreichen. Für die stark vergrößernden Ölimmersionen ist demnach bei höchsten Anforderungen ein Immersions-Kondensator mit ebenso großer Apertur zu verwenden. Der Gebrauch eines solchen Kondensators ist jedoch nur sinnvoll, wenn man zwischen Kondensator-Frontlinse und Objektträger-Unterseite Öl bringt, den Kondensator also auch immergiert. Man achte hier, wie auch bei dem Immersionsöl auf der Oberseite des Deckglases, auf Blasenfreiheit. Nach Herausnehmen des Okulars läßt sich dies in der Austrittspupille des Objektivs erkennen. Luftblasen sind von schwarzen Rändern umgeben. Zur besseren Kontrolle kann hier das Hilfsmikroskop, das bei Phasenkontrast Anwendung findet, in das Tubusrohr eingeschoben werden. Damit erkennt man auch die kleinsten Luftblasen.

Wenn das Immergieren mit Öl zu lästig ist, kann man entweder den Kondensator, aber auch nur ihn, mit Wasser immergieren oder von vornherein einen Trockenkondensator benutzen. Die Einbuße an Beleuchtungsapertur und damit an Auflösung ist in der Praxis meist nicht so schwerwiegend. Da Wasser aber rasch verdunstet, ist das Verfahren nur bei kurzzeitigen Arbeiten empfehlenswert.



23179-512 R

Abb. 34
Vorsichtig bringt man einen Tropfen Immersionsöl auf das Deckglas.



23178-512 R

Abb. 35
Zur vollen Nutzung der Beleuchtungsapertur eines Immersions-Kondensators muß auch der Kondensator immergiert werden.

Arbeiten mit schwachen Vergrößerungen

Hierunter sollen Vergrößerungen verstanden werden, bei denen Objektive mit einer Apertur unter 0,25 verwandt werden. Mit diesen Objektiven übersieht man besonders in Verbindung mit Großfeld-Okularen sehr große Objektfelder – im Extremfall mehr als 1 cm im Durchmesser – die natürlich vom Kondensator auch ausgeleuchtet werden müssen. Zu diesem Zweck sind unsere Systemkondensoren mit einem ausklappbaren Kondensorkopf ausgerüstet. Bei ausgeklapptem Kopf ist nur die Beleuchtungslinse im Unterteil wirksam, mit der sich die Felder aller schwachen Systeme bis hinunter zum Objektiv 2,5/0,08 voll ausleuchten lassen. Dabei wird man feststellen, daß die Leuchtfeldblende, die bei ausgeklapptem Kondensorkopf noch scharf war, jetzt unscharf abgebildet ist. Man muß also die Leuchtfeldblende zunächst durch Absenken des Kondensors scharfstellen und sie erst dann entsprechend öffnen. Nun ist das Köhlersche Beleuchtungs-



Abb. 36
Zentrierbarer Systemkondensator mit ausgeklapptem Kondensorkopf. Man erkennt die große Beleuchtungslinse im Unterteil, die für Objektive geringer Apertur benutzt wird.

prinzip bis zum Objektiv PI 2,5/0,08 streng verwirklicht. Die Aperturblende verliert bei Objektiven 4/0,14 und schwächer ihre Funktion; sie ist daher voll zu öffnen. Gleichmäßige Ausleuchtung des Bildfeldes erreicht man durch Nachstellen des Kollektors.

Das schwächste Objektiv PI 1/0,04 läßt sich auch mit unseren Systemkondensoren nicht mehr ausleuchten. Das nutzbare Feld kann hier im Extremfall ca. 28 mm, das sind fast 3 cm! im Durchmesser, betragen. Hierfür wurde ein besonderer Übersichtskondensator entwickelt, der einfach gegen den Systemkondensator ausgetauscht werden kann. Die Leuchtfeldblende verliert ihre Funktion, sie muß ganz geöffnet werden. Die Apertur wird mit der im Objektiv eingebauten Irisblende geregelt. Klapplinse bitte ausklappen!

Bei schwachen Objektiven ist es ganz besonders wichtig, den Binokulartubus und die verstellbaren Augenlinsen des Okulars exakt einzustellen.

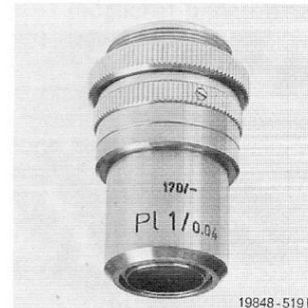


Abb. 37
Plan-Objektiv 1/0,04. Nur in Verbindung mit Übersichtskondensator verwendbar.

Mikroskopieren im Dunkelfeld

Für die Anwendung des Dunkelfeldmikroskops lassen sich keine strengen Richtlinien aufstellen. Vorwiegend wird man Dunkelfeld bei Objekten benutzen, deren Strukturen auf Änderungen des Brechungsindex beruhen. Zur Beobachtung eignen sich also:

Flächige Objekte mit regelmäßiger Struktur, wie Diatomeen, Radiolarien etc.

Linienartige Gebilde wie Geißeln, Fasern, Kristalle, Bakterien. Sie werden auch dann sichtbar, wenn ihre Dicke unterhalb des Auflösungsvermögens liegt.

Punktförmige Objekte, die an oder unter der Auflösungsgrenze des Objektivs liegen. Hier sieht man jedoch lediglich das Beugungsscheibchen des Objektes. Über die wahre Form solcher submikroskopischer Objekte gibt das Dunkelfeldbild keinen Aufschluß.

Gefärbte Objekte sind meist ungeeignet.

Man wird den spezifischen Anwendungsbereich des Dunkelfeldmikroskops besser verstehen, wenn man sich das Zustandekommen der Abbildung einmal vergegenwärtigt. Wir betrachten z.B. ein Objekt unter dem Mikroskop, dessen Brechungsindex sich an einer Kante sprunghaft ändert. An dieser Stelle wird das Licht durch Beugung in verschiedene Richtungen gestreut. Der Streuwinkel ist umso größer, je steiler die Änderung der Brechzahl ist. Von dem gestreuten Licht fällt – wie schon im theoretischen Teil beschrieben – ein Teil in das Objektiv, während von der Umgebung kein Streulicht ausgeht. Wir sehen also die Kante auf dunklem Untergrund hell aufleuchten. Im Hellfeld wäre diese Kante kaum sichtbar. Ähnlich verhält es sich an der Kante eines undurchsichtigen Körpers in durchsichtiger Umgebung. Hier ändern sich die optischen Werte besonders sprunghaft und das Licht wird demzufolge sehr stark gestreut. Solche Kanten leuchten dann intensiv hell auf.

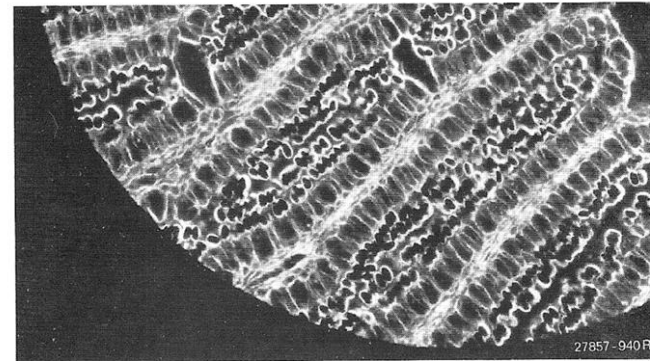
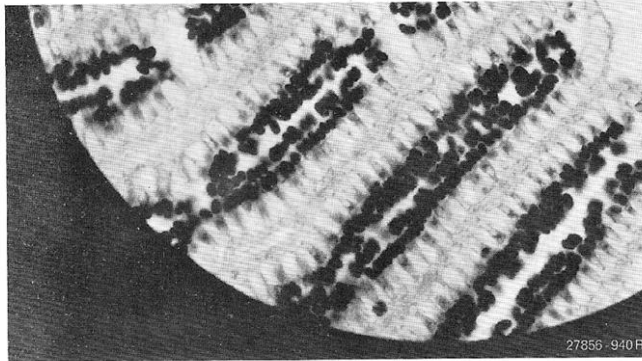


Abb. 38 a, b
Vergleich im Hellfeld und Dunkelfeld.
Man sieht die Objektkanten im Dunkelfeld hell aufleuchten.

Was benötigt man für die Dunkelfeldmikroskopie?

Grundsätzlich sind alle Leitz-Mikroskope für Dunkelfeld geeignet. Man benötigt lediglich Dunkelfeldkondensoren und geeignete Objektive, eventuell mit Einhängelblenden. Als Dunkelfeldkondensoren sind entweder Immersions-Dunkelfeldkondensoren D 1.20–1.40 für Immersionsobjektive und starke Trockensysteme oder Trocken-Dunkelfeldkondensoren D 0.80–0.95 lieferbar. Hierbei bezeichnet der erste Wert die innere Grenzapertur, der zweite die äußere. Die innere Grenzapertur ist stets auf dem Kondensator graviert. Sie bezeichnet die untere Aperturgrenze des Beleuchtungskegels.

Beide Dunkelfeldkondensoren sind zentrierbar, damit das beleuchtete Feld sich mit dem Sehfeld des Mikroskops deckt.

Durch Einstecken einer Ringblende können manche Hellfeldkondensoren auch für Arbeiten im Dunkelfeld eingesetzt werden.

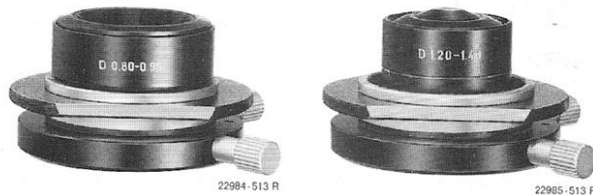


Abb. 39

Links: Trocken-Dunkelfeld-Kondensator D 0.80–0.95
Rechts: Immersions-Dunkelfeld-Kondensator D 1.20–1.40.

Bei den Objektiven ist zu beachten, daß ihre Apertur etwa um 0,1 kleiner sein soll als die innere Grenzapertur des Kondensators, da sonst kein Dunkelfeld zustandekommt.* Objektive mit zu hoher Apertur können, wenn ihre Bauweise dies zuläßt, mit Einhängelblenden benutzt werden. Besser ist es jedoch, Spezialobjektive für Dunkelfeld mit eingebauter Irisblende zu verwenden.

Einige Forderungen an Objektträger, Präparat und Deckglas

Objektträger, Deckglas und Kondensator müssen kratzerfrei, sehr gründlich gereinigt und staubfrei sein. Jeder Kratzer, jede Verunreinigung würde den Untergrund unerwünscht aufhellen. Gleichfalls ist die Frontlinse des Objektivs gut zu säubern.

Der Objektträger soll zwischen 0,9 und 1,1 mm dick sein. Ist er zu dick, liegt die Strahlenvereinigung im Objektträger, so daß sich ein einwandfreies Dunkelfeld nicht einstellen läßt.

Die Deckglasdicke von 0,17 ist bei starken Trockensystemen möglichst genau einzuhalten. Mit steigenden Aperturen werden Abweichungen davon immer kritischer.

Das Präparat darf nicht zu dick sein, andernfalls wird der Kontrast im Dunkelfeld vermindert und das Objekt zu sehr aufgehellt. Aus dem gleichen Grunde darf das Präparat auch nicht zu dicht sein bzw. zu viel lichtbeugende Teilchen enthalten.

Die Beleuchtung

Ein gutes Dunkelfeldbild erfordert insbesondere bei Objektiven höherer Vergrößerung eine lichtstarke Nieder-voltleuchte. Vom Lichtquellenbild – auch beim Dunkelfeld wird nach dem Köhlerschen Beleuchtungsprinzip mikro-

*) Zu schwache Objektive (kleiner als 10:1) haben ein sehr großes Feld, das vom Kondensator unter Umständen nicht ganz ausgeleuchtet werden kann.

skopiert – wird ja der zentrale Teil des Beleuchtungsbündels abgeblendet, so daß nur das außerhalb der inneren Kondensorgrenzapertur liegende ringförmige Büschel wirksam ist. Dieses Büschel allein ist für die Bestrahlungsstärke des Präparates maßgebend. Damit keine einseitige Beleuchtung auftritt, müssen Leuchte und Kondensor exakt zentriert werden.

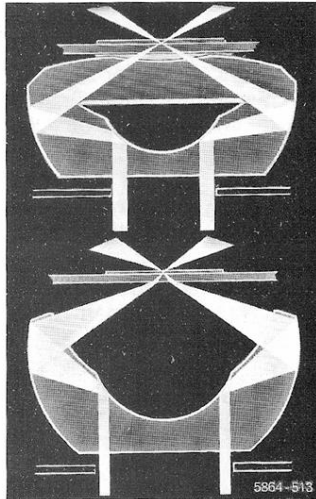


Abb. 40
Strahlengänge im Immersions- und
Trocken-Dunkelfeldkondensor.

Zentrieren von Lichtquelle und Dunkelfeld-Kondensor

1. Zentrierung der Lichtquelle überprüfen.
2. Dunkelfeldkondensor – in unserem Beispiel D 1.20 – einsetzen und in unterer Stellung belassen. Zentrierschrauben des Kondensors etwa in Mittelstellung.
3. Kondensoroberfläche mit Immersionsöl versehen. Dunkelfeldpräparat auflegen und Kondensor mit Zahn-

trieb unter gleichzeitiger seitlicher Beobachtung heben, bis der Öltropfen die Unterseite des Objektträgers benetzt. Dies wird kenntlich an einem kurzen Aufleuchten im Objektträger.

4. Objektiv 10/0.25 auf das Präparat scharfstellen. Im Sehfeld des Mikroskops erscheint das unscharfe Bild der Leuchtfeldblende.
5. Leuchtfeldblende mit Höhenverstellung des Kondensors scharfstellen.
6. Leuchtfeldblende mittels der beiden Schrauben am Kondensor zentrieren.
Nach Übergang zu stärkeren Vergrößerungen muß die Leuchtfeldblende nachzentriert und nach Vorschrift geöffnet werden.

Arbeiten mit Immersionsobjektiven

1. Einen Tropfen Immersionsöl auf das Deckglas bringen.
2. Ölimmersionsobjektiv am Revolver einschwenken.
3. Apertur mittels einer Einhängeblende oder der eingebauten Irisblende reduzieren.
4. Leuchtfeldblende nachzentrieren.

Präparate, die mit dem Dunkelfeldkondensor D 1.20 benutzt werden sollen, müssen zwischen Objektträger und Deckglas ein Einbettungsmedium enthalten, dessen Brechzahl höher als 1.20 ist. Hier genügt bei kurzzeitigem Arbeiten auch Wasser. Auf Blasenfreiheit ist zu achten.

Arbeiten mit dem Trocken-Dunkelfeldkondensor

Für Dunkelfelduntersuchungen mit Trockenobjektiven mittlerer Vergrößerung, insbesondere bei Reihenuntersuchungen, ist der einfacher zu handhabende Trocken-Dunkelfeldkondensor D 0.80 zu empfehlen. Die einzelnen Punkte für die Einstellung des Dunkelfeldbildes gelten für ihn sinngemäß, Immersionsöl wird hier natürlich nicht verwendet.

Mikroskopieren im Phasenkontrast

Das Phasenkontrastmikroskop ermöglicht die kontrastreiche Darstellung durchsichtiger Objekte, die das Licht beim Durchgang weder in Helligkeit noch in Farbe merklich ändern (Phasenobjekte). Es werden also Strukturelemente sichtbar, die unterschiedliche Brechungsindizes besitzen. In erster Linie sind es lebende oder fixierte, ungefärbte Objekte aus Biologie und Medizin. Gelegentlich wird das Phasenkontrastmikroskop auch bei gefärbten, kontrastarmen Präparaten angewendet.

An die Anwendung des Phasenkontrastmikroskops sind einige Bedingungen geknüpft: Phasenobjekte sollen dünn sein – 5 μm und dünner – und keine großen Brechungsunterschiede haben. Außerdem sollen die zu beobachtenden Objektdetails recht fein strukturiert sein.

Der Einfluß der Objektstärke

Denken wir uns ein dickeres Präparat im Phasenkontrastmikroskop so eingestellt, daß man die obere Schicht des Präparates scharf sieht. Zunächst werden einmal, wie auch bei dicken Hellfeldobjekten, die darunterliegenden Präparatschichten unscharf durchschimmern. Dazu kommen aber noch zwei dem Phasenkontrastverfahren eigentümliche Erscheinungen: Die tiefer liegenden Objektdetails erzeugen störende Phasenverschiebungen und außerdem infolge der ringförmigen Beleuchtungsapertur ringförmige Zerstreuungsfunktionen. Das Bild der scharf eingestellten oberen Schicht ist dann von diesen Zerstreuungsfunktionen überlagert. Phasenobjekte sollten deshalb möglichst dünn sein.

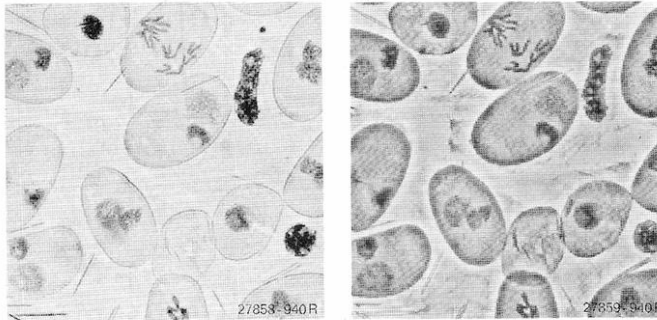


Abb. 41a, b
Vergleich Hellfeld, Phasenkontrast.
Pollenzellen, Tradescantia.
Objektiv Phaco NPI 25/0.65,
Abbildungsmaßstab 56:1.
Feine Einzelheiten treten erst im Phasenkontrast hervor.

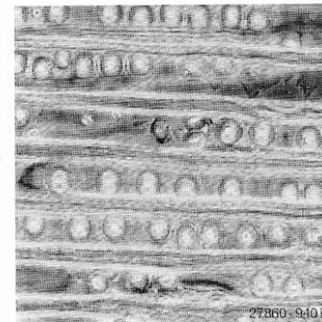


Abb. 42
Zu dickes Objekt (30 μm)
im Phasenkontrast.
Fichte radial, NPL 16/0.40,
Abbildungsmaßstab 150:1

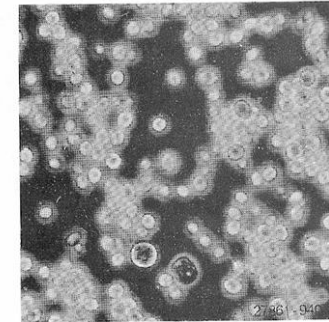


Abb. 43
Stark ausgeprägte Halo-Erscheinung
im Phasenkontrastverfahren.
Hefe, Objektiv NPL 40/0.65,
Abbildungsmaßstab 675:1.

Der Einfluß flächenhafter Objektdetails

Der Haloeffekt

Ein Nachteil der Phasenkontrastabbildung ist der Haloeffekt, eine lichthofartige Erscheinung um dunkle Bild-details sowie dunkle Säume um helle Details. Er kommt dadurch zustande, daß sich gebeugtes und direktes Licht in der Praxis nicht völlig trennen lassen. * Dieser Haloeffekt tritt besonders an flächenhaften Objektdetails auf. So ist z.B. der Rand eines höherbrechenden, flächigen Objektdetails bei positivem Phasenkontrast außen von einem hellen Lichthof, innen von einem dunklen Saum umgeben; bei negativem Phasenkontrast sind die Verhältnisse umgekehrt. Der innere Bereich erscheint in derselben Intensität wie die Umgebung.

Da die Grenzen zwischen hellem und dunklem Halo bei den meisten biologischen Objekten mit der Objektbegrenzung nicht identisch sind, gibt das Phasenkontrastmikroskop solche Objekte nicht ganz größengetreu wieder. Bei Messungen muß man mit einem Fehler von der Größe der Halobreite rechnen. Für exakte Messungen ist daher ein Interferenzmikroskop erforderlich.

Sehr fein strukturierte Objektdetails, die in der Größenordnung des lateralen Auflösungsvermögens liegen, zeigen weitgehend halofreie Abbildungen.

*) Hierauf beruht auch die im gleichen Abschnitt beschriebene Nivellierung der Intensität.

Der Einfluß des Einschlußmittels

Eine wichtige Rolle in der Phasenkontrastmikroskopie spielt auch das Einschlußmittel. Man kann durch geschickte Wahl desselben den Kontrast wesentlich beeinflussen. Für ungefärbtes biologisches Material benutzt man zweckmäßig physiologische Medien, für Dauerpräparate wählt man Medien mit einer Brechzahl kleiner als Kanadabalsam. Zum Abdichten der Deckgläser, soweit es sich nicht um Dauerpräparate handelt, ist reine, weiße Vaseline oder Paraffin geeignet.

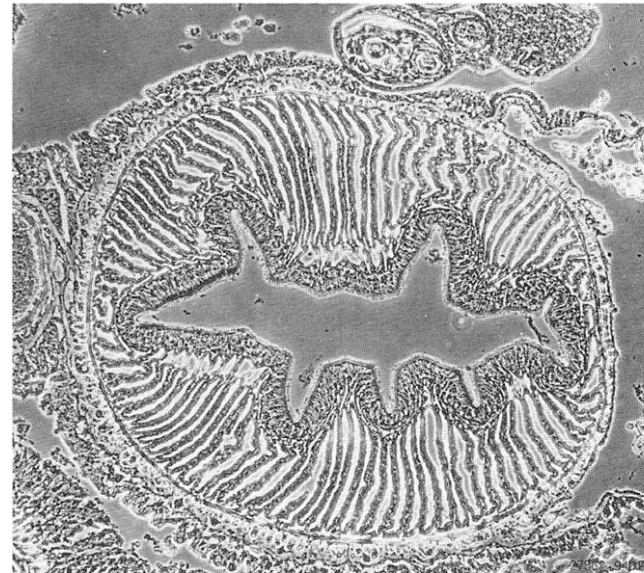


Abb. 44
Mikro-Aufnahme eines typischen Phasenobjektes. Ungefärbter Dünnschnitt eines Regenwurms. Objektiv Phaco NPL 10/0.25, Abbildungsmaßstab 100:1.

Längenmessungen unter dem Mikroskop

Bringt man in der Bildebene eines Okulars ein Glasplättchen mit einer Skala an (Okularmikrometer), so erscheint im Okular das Bild des Objektes und die Skalenteilung zugleich. Man könnte jetzt sofort die Größe eines mikroskopischen Objektes relativ in Skaleneinheiten angeben. Über die wahre Objektgröße sagt diese Messung allerdings nichts aus, selbst wenn die Abstände der Skalenteilung in mm bekannt sind. Man muß nämlich bedenken, daß das mikroskopische Bild von Objektiv, Tubuslinse und Okular bestimmt wird, während die Vergrößerung des Okularmikrometers nur vom Okular, meist sogar nur von der Augenlinse des Okulars, abhängt. Es muß daher durch Eichung festgelegt werden, welche Strecke im Objekt in μm oder mm bei einem bestimmten Objektiv gerade auf ein Intervall des Okularmikrometers abgebildet wird. Diesen Wert bezeichnet man als Mikrometerwert. Er ändert sich für jede Objektiv-Okular-Kombination und selbstverständlich auch, wenn ein anderes Tubuslinsensystem benutzt wird.

Als genau definierte Meßstrecke hierfür benutzt man ein Objektmikrometer. Objektmikrometer sind exakte Teilungen auf Glasplatten im Objektträgerformat; in der Regel sind 2 mm in 200 Teile geteilt, jedem Teilstrich entspricht also $1/100$ mm.

Stellt man das Mikroskop auf ein solches Objektmikrometer ein, so kann man schnell ermitteln, wieviele Teilstriche des Objektmikrometers sich mit einem Teilstrich des Okularmikrometers decken. * Diese Eichung ist umso genauer, je größer die Teilungsabschnitte sind, die man miteinander vergleicht. Treffen x Teile des Objektmikrometers auf y Teile des Okularmikrometers, so ist der Mikrometerwert für die benutzte optische Kombination = x/y , wobei x in der Maßeinheit des zur Eichung des benutzten Objektmikrometers (gewöhnlich $1/100$ mm) eingesetzt wird. Am einfachsten nimmt man 100 oder bei

*) Beim Fokussieren auf das Objektmikrometer wird man feststellen, daß die Größe des Zwischenbildes glücklicherweise unverändert bleibt. Die abbildenden Bündel haben nämlich objektseitig parallele Achsen, so daß beim Durchfokussieren das Bild zwar unscharf wird, sich jedoch in seiner Größe nicht ändert. Ausnahme: Objektiv 1/0.04. Dieses eignet sich nicht für diese Meßmethode.

schwächeren Objektiven 10 Intervalle der Okularmikrometerteilung für den Vergleich.

Beispiel Abb. 45 zeigt das Bild eines Objektmikrometers und Okularmikrometers unter dem Mikroskop. Die Teilung in der Mitte des Sehfeldes (Gravierung 0 - 10) ist die Teilung des Okulars, die Teilung rechts daneben der sichtbare Teil des Objektmikrometers. 100 Teilstriche des Okularmikrometers entsprechen 122 Teilstrichen = 1,220 mm des Objektmikrometers. Ein Teil des Okularmikrometers entspricht dann $0,0122$ mm im Objekt. Mikrometerwert = $12,2 \mu\text{m}$.

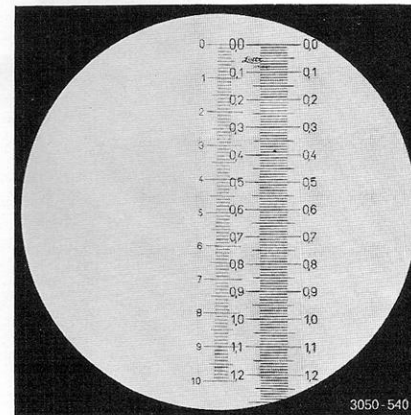


Abb. 45

Feststellen des Mikrometerwertes. Die Teilung in der Mitte des Sehfeldes (Gravierung 0-10) ist die feststehende Teilung des Okulars, die Teilung rechts daneben der sichtbare Teil des Bildes des Objektmikrometers. 100 Teilstriche des Objektmikrometers entsprechen 122 Teilstrichen = 1,220 mm des Objektmikrometers, 1 Teil des Okularmikrometers entspricht dann $0,0122$ mm im Objekt. Mikrometerwert = $12,2 \mu\text{m}$.

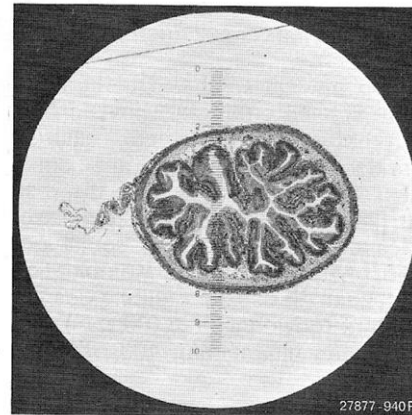
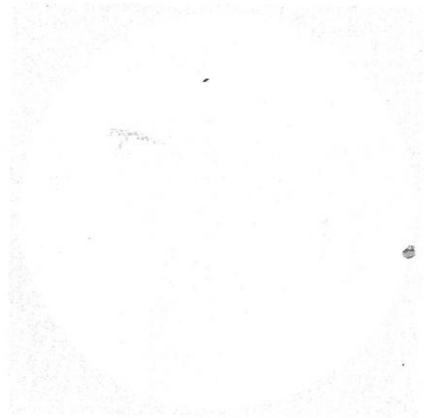
Einige praktische Hinweise

Gemessen werden kann monokular oder binokular. Bei Verwendung eines Binokulartubus halte man die Einstellung des Okularabstandes konstant, * da der Mikrometerwert auch hiervon abhängig ist (Ausnahme FSA-Tuben).

Das für die Messung benutzte Okular muß mit Strichplatte und verstellbarer Augenlinse zum Scharfstellen der Strichplatte ausgerüstet sein. Über die verschiedenen Strichplatten unterrichtet Druckschrift 512-99, Seiten 106-109. Am Binokulartubus benutze man das Meß-Okular gegebenenfalls mit dem besseren Auge.

Die zu messenden Details führe man in die Mitte des Sehfeldes. Hier ist der Verzeichnungsfehler der Objektive am geringsten; die Okularverzeichnung geht in die Messung nicht ein.

Das Auflösungsvermögen des Objektivs muß hinreichend groß sein, d.h. die Distanz zweier soeben noch aufgelöster Punkte muß wesentlich kleiner als das zu messende Objekt detail sein. Unter diesen Aspekten wähle man das für die Messung geeignete Objektiv aus.

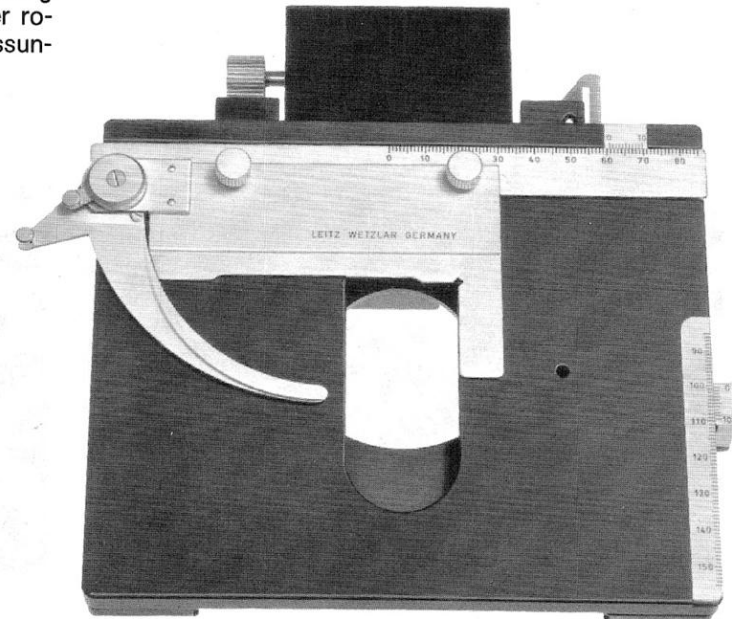


*) Bei Binokulartuben mit verstellbaren Okularstützen stelle man den Augenabstand sorgfältig an beiden Stützen ein.

Abb. 46
Messen eines Objektes. Das Objekt erstreckt sich über 60 Teilstriche im Okularmikrometer. 1 Teilstrich = $12,2 \mu\text{m}$ im Objekt.
60 Teilstriche = $732 \mu\text{m}$ im Objekt.

Messungen mit dem Schraubenmikrometer-Okular
Für feinste Messungen unter dem Mikroskop verwendet man das Schraubenmikrometer-Okular, mit dem eine weit höhere Meß- und Ablesegenauigkeit erreicht wird. Durch Drehen der seitlichen Mikrometerschraube dieses Okulars läßt sich eine Meßlinie über den gesamten Bereich der Okularteilung führen. Die Trommel der Mikrometerschraube ist in 100 Teile geteilt. Eine volle Umdrehung der Trommel bewegt die Meßlinie über ein Intervall der Okularteilung. Demnach entspricht ein Intervall der Trommelteilung dem hundertsten Teil eines Intervalls der Okularteilung. Über Einzelheiten der Messung unterrichtet Druckschrift 519-17. Infolge der präzisen und soliden Ausführung des Schraubenmikrometer-Okulars ist es auch einer robusten Beanspruchung bei technischen Werkstattmessungen gewachsen.

Messungen mit dem Kreuztisch oder Objektführer
Leitz-Kreuztische oder Objektführer sind in beiden Achsen in mm geteilt und mit Noniusablesung für 1/10 mm versehen. Man kann mit dieser Anordnung also in x- und y-Richtung messen, wobei auch größere Strecken der Messung zugänglich sind. Diagonalwerte können gegebenenfalls durch Rechnung ermittelt werden. Vorteilhaft ist hier die Verwendung eines Okulars mit Fadenkreuz, wobei die Fäden zu den Tischachsen orientiert sein müssen.



20480 - 513 R

Abb. 47
Objektstisch mit Teilungen und Nonien.
Einstellung: x-Achse 60,7 mm.
y-Achse 100,5 mm.

Mikrophotographie

Mikroskop, Beleuchtung und Optik

Jedes moderne Leitz-Mikroskop, das mit einem Tubus mit Photostützen ausgerüstet werden kann, ist für die Mikrophotographie geeignet. Die Beleuchtungseinrichtung ist bei den Stativen moderner Bauart fast immer eingebaut. Für die Schwarzweiß-Mikrophotographie sind Netzleuchten oder Niedervoltleuchten 6V 5W ausreichend. Für die Farb-Mikrophotographie muß das Stativ mindestens mit einer 6V 15W-Leuchte ausgerüstet sein.

Optimale Bildqualität setzt optimal korrigierte Objektive voraus. Überall dort also, wo es auf das Erkennen feinsten Strukturen ankommt, wird man Leitz-Plan-Apochromate wählen. Ihre Gesamtbilddefinition, Schärfe, Kontrast, chromatische Korrektur und Bildfeldebnung sind bestechend. Wo Plan-Apochromate zu aufwendig sind, können auch Fluorit-Systeme benutzt werden. Selbstverständlich können auch konventionelle Achromate oder Plan-Achromate mit gutem Erfolg in der mikrophotographischen Dokumentation, insbesondere auf Schwarzweiß-Film, eingesetzt werden.

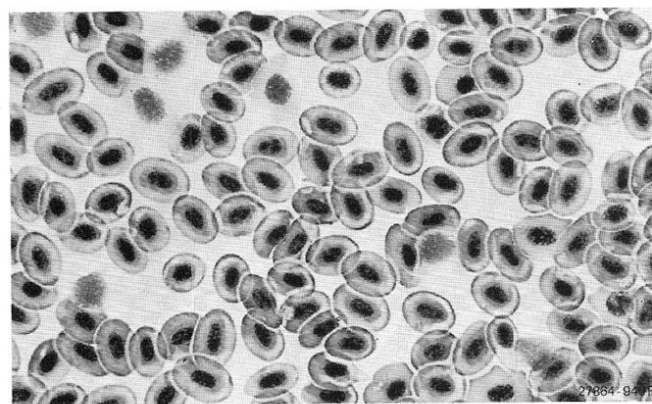
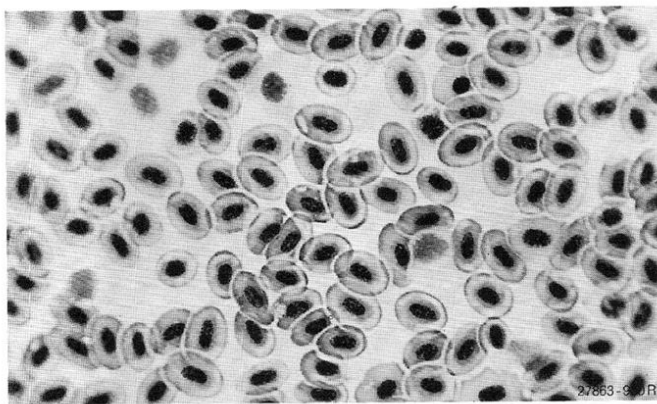


Abb. 48a, b

Einfluß der Bildfeldwölbung.

Links: Aufnahme mit Standard-Achromat 40/0.65.

Rechts: mit Plan-Apochromat 40/0.75.

Die Aufnahme erscheint hier randscharf über das ganze Bildformat.
Abbildungsmaßstab 950:1.

ordentlich empfindliche Möglichkeit der Schärfenkontrolle: Man setzt zunächst die Lupe auf die Klarglasscheibe und stellt sie auf das eingravierte Strichkreuz scharf ein. Dann wird das Präparat mit dem Feintrieb scharfgestellt. Um eine falsche Akkommodation des Auges auszuschließen, kontrolliere man, ob bei leicht seitlicher Bewegung des Kopfes über der Lupe das mikroskopische Bild und das Bild des Strichkreuzes sich etwa noch gegeneinander verschieben. Ist dies der Fall, so ist mit dem Feintrieb so lange zu korrigieren, bis diese Verschiebung nicht mehr auftritt.

3. Einstellfernrohr oder FSA-Tubus

Einstellfernrohr oder FSA-Tubus sind die beiden Einstellhilfen in der Kleinbild-Mikrophotographie.

a Einstellfernrohr

Verfügt der Mikroansatz über ein Einstellfernrohr, so stellt man zunächst am Fernrohrökular auf die Doppelkreise im Fernrohr scharf. Anschließend wird das Bild mit dem Feintrieb fokussiert. Die Fokussierung ist korrekt, wenn Doppelkreise und Bild gleichzeitig scharf erscheinen.

b FSA-Tubus

Bei Verwendung einer Photoeinrichtung ohne Einstellfernrohr wird über den FSA-Tubus scharfgestellt, der dafür mit einem verstellbaren Okular mit Strichplatte ausgerüstet sein muß. Photoseitig wird ein besonders abgestimmtes Okular benutzt.

1. Augenlinse des Okulars verstellen, bis Strichmarken und Formatbegrenzung im Okular scharf sind.
2. Bild mit Feintrieb fokussieren. Die Fokussierung ist korrekt, wenn Markierung und Bild gleichzeitig scharf erscheinen.
3. Augenlinse des zweiten Okulars verstellen, bis auch für dieses Auge das Bild scharf erscheint.

Gebrauch des Hilfsfernrohres

Um etwaige Fehlakkommodationen des Auges bei Benutzung des FSA-Tubus auszuschalten, empfiehlt es sich, bei sehr hohen Anforderungen und schwachen Vergrößerungen das für diese Zwecke lieferbare Hilfsfernrohr zu benutzen.

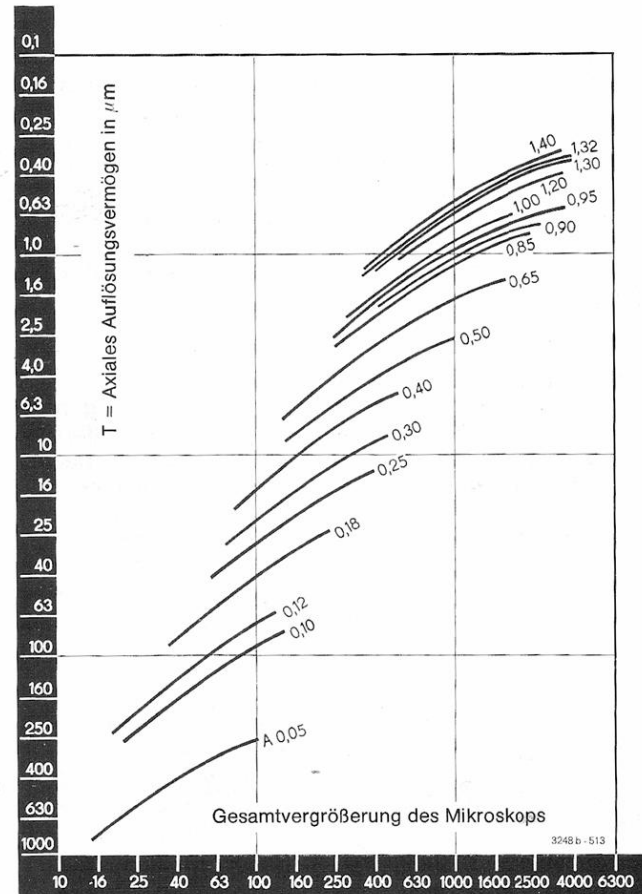


Abb. 53
Axiales Auflösungsvermögen in Abhängigkeit von der Gesamtvergrößerung für eine Reihe von Aperturen.

Welches Kameraformat?

Die Frage des richtigen Formates für die Mikrophotographie läßt sich objektiv beantworten, wenn man folgende Überlegungen anstellt:

Wir hatten im theoretischen Teil als förderliche Mindestvergrößerung M für einen Schwarzweiß-Feinkornfilm mit $\frac{1}{60}$ mm Zerstreuungskreis $M = 60 A$ hergeleitet. Wir wollen die sich daraus ergebenden Daten für eine Reihe von Objektiven tabellarisch zusammenstellen.

Objektive	Gesamtvergrößerung für $M = 60 A$	Sehfeldzahl	Objektfeld \emptyset	Bild $\emptyset =$ Gesamtvergrößerung \times Objektfeld \emptyset
6.3 /0.20	12:1	18	2,86 mm	34 mm
25 /0.50	30:1	18	0,72 mm	22 mm
40 /0.75	45:1	18	0,45 mm	20 mm
40 /0.95	57:1	18	0,45 mm	26 mm
Öl 100/1.30	78:1	18	0,18 mm	14 mm

Bei unseren Überlegungen interessieren zunächst die Werte der letzten Spalte. Sie geben an, wie groß das bei der Vergrößerung $M = 60A$ auf dem Film der Kleinbildkamera entworfene Bild ist, wobei das Okular Sehfeldzahl 18 hatte. Bei der Herleitung dieser theoretischen Größe wurde vorausgesetzt, daß der Zerstreuungskreis des Filmes ebenso groß wie das Beugungsscheibchen des Objektivs

ist. Die Informationsverluste durch Objektivbeugung und Filmkorn sind also gleich groß. Vergrößert man aber, wie es in der Praxis auch geschieht, über $M = 60 \times A$ hinaus, so hat das Filmkorn sehr bald keinen Einfluß mehr auf die Bildqualität. Das ist etwa bei Faktor 2, also bei $M = 120 \times A$ der Fall. Man kann dies mit den Rastern der Drucktechnik vergleichen. Während der Unterschied zwischen einem 20er und 70er Raster noch sehr deutlich ist, erbrächte ein 160er Raster, den es in Wirklichkeit nicht gibt, keinen weiteren Informationsgewinn mehr.

Vergleicht man die Werte der letzten Spalte mit einem Kleinbildformat, dessen Diagonale 43 mm beträgt, so erkennt man, daß das Format bei Sehfeldzahl 18 groß genug ist, um alle vom Objektiv gebotenen Informationen aufzunehmen.

In der Praxis benutzt man ein 10faches Okular und einen Kamerafaktor 0,32x, also eine dreimalige Nachvergrößerung des Zwischenbildes. Man arbeitet also bereits im Bereich $M = 75 \times A$ bis $180 \times A$. Hierbei wird auch das Kleinbildformat voll genutzt. Ähnlich liegen die Verhältnisse in der Kleinbild-Mikrophotographie mit dem Großfeld-Okular GW 6,3x und Sehfeldzahl 28. Soll die Sehfeldzahl 28 dagegen ganz genutzt werden, dann ist ein größeres Format unerlässlich.

Ähnlich günstig schneidet das Kleinbildformat bei hochauflösenden Farbfilmen ab. Dazu kommt noch der Vorteil, daß Kleinbildfilme sehr preiswert und rationell in der Anwendung sind. Wenn man also die Farbaufnahme für Projektionszwecke oder wissenschaftliche Publikationen mit drei- bis vierfacher Nachvergrößerung im Druck verwenden will, ist auch hier der Kleinbildfilm zu empfehlen. Bei höchsten Anforderungen und großen, z.B. ganzseitigen Abbildungen im Druck wird man zum Großformat greifen müssen.

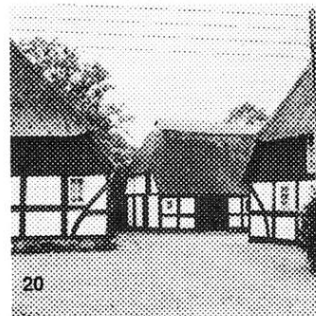


Abb. 49a, b
Einfluß des Filmkorns auf die Bildschärfe am Beispiel eines Druckrasters.

Oben: 20er Raster, d. h. $20 \cdot 20 = 400$ Punkte/cm².
Unten: 70er Raster, d. h. $70 \cdot 70 = 4900$ Punkte/cm².

Filme, Belichtungszeit und Filter

I. Schwarzweiß

In der Regel werden mikroskopische Präparate nicht speziell für Dokumentationszwecke hergestellt. Es wird daher häufig erforderlich sein, das Aufnahmematerial den vorhandenen Gegebenheiten anzupassen.

Schwarzweiß-Filme wird man verarbeiten, wenn: mehrere Kopien eines Mikrophotogramms hergestellt werden müssen,

bestimmte Objektdetails durch Veränderung des Beleuchtungslichtes mittels Farbfilter besonders hervorgehoben oder unterdrückt werden sollen, eine Steigerung oder Reduzierung des Gesamtkontrastes im Photogramm notwendig wird.

Auch ist das Schwarzweiß-Aufnahmematerial relativ unempfindlich gegen Fehlbelichtungen, da sein Belichtungsspielraum wesentlich größer als der des Colormaterials ist.

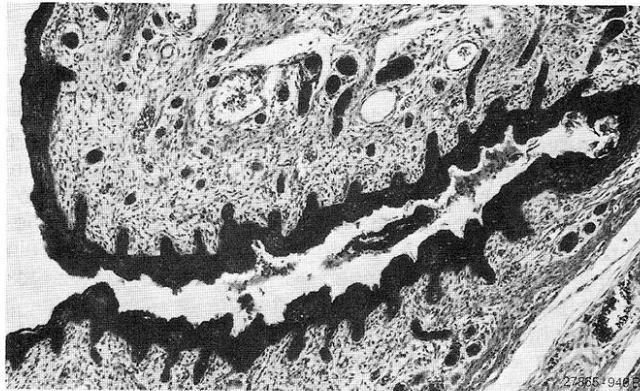


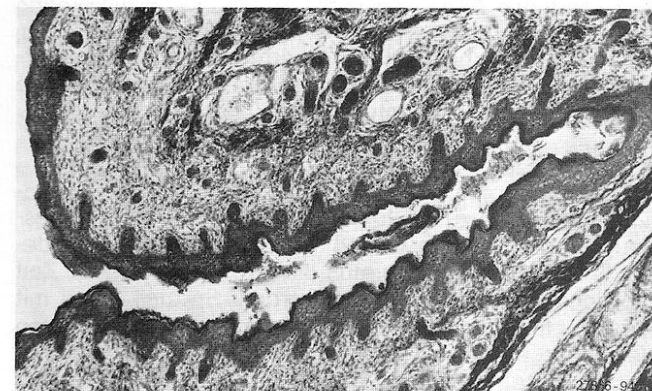
Abb. 50a, b
Aufnahmen vom gleichen Objektdetail.
Links: auf orthochromatischem Film,
rechts: auf panchromatischem Film.

Sensibilisierung

Jedes Aufnahmematerial ist für einen bestimmten Bereich des Lichtes sensibilisiert, d.h. die Emulsion ist für bestimmte Teile des Spektrums mehr oder minder empfindlich. Man unterscheidet in der Hauptsache zwei verschiedene Emulsionstypen: die orthochromatische und die panchromatische Emulsion. Während sich das unsensibilisierte Photomaterial (Diapositivfilm und Diapositivplatten) vom Ultraviolett bis etwa zum Blau-Grün erstreckt (230 bis 500 nm), ist der orthochromatische Film bis etwa 580 nm und der panchromatische Film bis etwa 700 nm empfindlich.

Orthochromatische Filme

Orthochromatisches Filmmaterial wird wegen seiner Unempfindlichkeit für Rot und der daraus resultierenden besseren Kontrollmöglichkeit bei der Entwicklung (Verarbei-



Die roten Randpartien haben im orthochromatischen Film keine Detailzeichnung mehr, sie erscheinen praktisch schwarz.
Im panchromatischen Film sind auch die roten Partien gut durchgezeichnet.

tung bei schwachem, rotem Dunkelkammerlicht) dann bevorzugt werden, wenn keine roten Farben in dem Aufnahmeobjekt vorhanden sind. Dies ist z. B. bei der Phasenkontrast-Mikroskopie und sehr häufig auch in der Metallographie der Fall.

Panchromatisches Material

In der Mehrzahl aller Fälle wird der panchromatische Film verwendet, durch den, besonders bei Anwendung eines Grünfilters, eine annähernd tonwertrichtige Farbwiedergabe des Aufnahmeobjektes erreicht wird. Das bedeutet, daß alle Grauwerte der einzelnen Farben mit dem Farbeempfinden des Auges annähernd übereinstimmen. Darüber hinaus läßt sich bei panchromatischer Emulsion die Grautonwiedergabe bestimmter Farben durch Farbfilter im Beleuchtungsstrahlengang verändern (siehe Kapitel Filter).

Dünnschichtfilme

Dünnschichtfilme verwendet man vorzugsweise wegen ihres geringen Diffusionslichthofes. Diese, meist niedrig empfindlichen Filme (10 bis 15 DIN), sind sehr feinkörnig, ergeben eine hohe Konturenschärfe und besitzen außerdem einen besonders bei der Hellfeld-Mikrophotographie erwünschten hohen Kontrastfaktor (Gamma).

Belichtungszeit

Soweit wir es nicht mit beweglichen oder lichtempfindlichen Objekten zu tun haben, unterliegt die Belichtungsdauer in der Schwarzweiß-Photographie keiner besonderen Forderung. Natürlich muß die jeweils gemessene Zeit möglichst exakt eingehalten werden. Speziell Filme mit niedriger Empfindlichkeit und höherer Gradation reagieren deutlicher auf Über- oder Unterbelichtungen. Wird zu kurz belichtet, so werden Details in den dunkleren Stellen des Präparats nicht mehr vom Film registriert, und man verliert dadurch einen wesentlichen Teil an Information. Wird dagegen zu lange belichtet, verflacht sich die Gradationskurve, und die Konturenschärfe läßt stark nach.

Gradation

Der Kontrastumfang des mikroskopischen Bildes ist, sehen wir von speziellen Verfahren ab, als gering anzusprechen. Dieser mangelnde Kontrast kann allein schon durch die Verwendung von Filmen mit steiler Gradation im Negativ erhöht werden. Zudem hat man noch die Möglichkeit, durch Variieren der Entwicklungsbedingungen (Entwicklungszeit, Entwicklerkonzentration) die Gradation des Negativmaterials zu beeinflussen. Längere Entwicklungszeiten oder stärkere Konzentrationen erhöhen, kürzere Zeiten und schwächere Konzentrationen verflachen die Gradation, d. h. der Film wird härter (kontrastreicher) bzw. weicher (kontrastärmer).

Filter

Jedes Filter läßt Licht seiner eigenen Farbe am besten durch und unterdrückt am meisten die Komplementärfarbe. Durch Filter läßt sich also der Kontrast einzelner Farben in weiten Grenzen beeinflussen. Eine besondere Stellung nimmt hier das in unserer Ausrüstung mitgelieferte Grünfilter ein.

Grünfilter

Achromatische Objektive sind im Bereich des Farbempfindlichkeitsmaximums des Auges korrigiert. Die Korrektionskurven für Rot, Grün und Blau haben einen annähernd gleichen Verlauf. Violett ist jedoch nicht vollständig in die Korrektion einbezogen, gerade hierauf sind aber die photographischen Schichten besonders empfindlich. Man benutzt daher für die photographische Aufnahme ein Grünfilter. Dadurch gelangen nur die Strahlen in das Objektiv, für die es optimal korrigiert ist.

Bei panchromatischen Filmen bewirken Grünfilter außerdem eine weitgehend tonwertrichtige Farbwiedergabe. Blau wird wegen der höheren Empfindlichkeit des Filmes in diesem Spektralbereich relativ dunkel wiedergegeben – Blau schwärzt also die photographische Emulsion intensiver. Durch das Grünfilter wird der Anteil des Blaus reduziert, es wird im Film heller. Auf dem positiven Papierbild erscheinen solche Partien dann dunkler.

Allgemeine Filterregel

Ganz allgemein gilt für das positive Papierbild folgende Regel: Gefärbte Objektstrukturen, die der Filterfarbe entsprechen, werden hell, die Komplementärfarbe wird dunkel wiedergegeben. Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die zu erwartende Farbwiedergabe im Positiv gegenüber der Aufnahme ohne Filter. Sie setzt panchromatisches Aufnahmematerial voraus.

Filterfarbe:	Farbwiedergabe:		
	heller	unverändert	dunkler
Rot	Rot	Orange	Blau, Grün, Gelb
Orange	Rot	Gelb	Blau, Grün
Gelb	Rot	Grün	Blau
Gelb-Grün	Grün, Gelb	Orange	Blau, Rot
Grün	Grün	Gelb	Blau, Rot, Orange
Blau	Blau	Grün	Gelb, Rot, Orange

Geringfügige Abweichungen können durch unterschiedliche Filterdicke, andersartige spektrale Zusammensetzung der Lichtquelle oder die spezifisch spektrale Empfindlichkeit des Negativmaterials entstehen.

Ein Filtervergleich, der über die Wirkungsweise der einzelnen Filter Aufschluß gibt, befindet sich auf Seite 97.

II. Farbe

In vielen Fällen wird man in der Mikrophotographie die Farbaufnahme dem Schwarzweißbild vorziehen.

Umkehrfilme, Negativfilme

Am besten eignet sich für Farbaufnahmen der Color-Umkehrfilm, der ein farbiges Diapositiv liefert. Bei Color-Aufnahmen auf Negativfilm denke man immer daran, daß im nachfolgenden Positivprozeß Ausfilterungen erforderlich sind, die zu mehr oder minder starken Farbabweichungen führen können. Es ist daher unumgänglich, vom gleichen Objekt auch Dias anzufertigen, die dann im Fachlabor als Vorlage für das farbiges Papierbild dienen. Man kann natürlich auch vom Diapositiv farbiges Papierbilder ziehen.

Farbtemperatur

Color-Umkehrfilme werden entsprechend der Bedeutung der Farbtemperatur des Lichtes in zwei Ausführungen geliefert: Als Tageslichtfarbfilm für eine Farbtemperatur von 5500°K und als Kunstlichtfilm, je nach Hersteller, für Farbtemperaturen zwischen 3100°K bis 3400°K . Jetzt noch einige Worte zur Farbtemperatur. Bei einem schwarzen Strahler hängt die spektrale Energieverteilung und damit die Lichtfarbe unmittelbar von der Temperatur T (wahre Temperatur, gemessen in $^{\circ}\text{K}$) ab. Für alle anderen Strahler ist die Beziehung zwischen Licht, Farbe und Strahlertemperatur nicht so eindeutig. Man kann aber auch hier unter Hinzuziehung des Farbdreiecks ermitteln, bei welcher Temperatur ein schwarzer Strahler farbgleich mit dem betrachteten Strahler ist. Diese Temperatur, die von der wahren Temperatur abweicht, wird als Farbtemperatur T_F bezeichnet. Bei metallischen Strahlern ist die Farbtemperatur T_F stets höher als die wahre Temperatur.

Belichtungszeit und Schwarzschildeffekt

Colorfilme sind nur für ein bestimmtes Belichtungsintervall neutral abgestimmt. Bei Kunstlichtmaterialien liegt der neutrale Bereich meist bei längeren Zeiten (Agfachrome 50 L, Kleinbild, 1/30 Sekunde), bei Tageslichtma-

terial bei kürzeren Zeiten (Agfachrome 50 S, Kleinbild, 1/125 Sekunde). Stärkere Abweichungen (Faktor 10 bis 20x sind noch ohne merklichen Einfluß) ergeben infolge des Schwarzschildeffektes Farbverschiebungen. Man beachte die Angaben der verschiedenen Hersteller.

In den meisten Fällen ist es möglich, mit Hilfe von Reguliertransformatoren die Farbtemperaturen der Lampe der des Kunstlicht-Farbfilmes anzupassen. Einzelheiten siehe nachfolgende Tabelle. Man achte jedoch stets auf einwandfreie Lampen. Nach längerem Gebrauch treten Schwärzungen des Glaskolbens auf, die sich nachteilig auf die Farbtemperatur des Lichtes auswirken.

Neutral-Graufilter

Sind die ermittelten Belichtungszeiten kürzer als es der Verschluss der Kamera zuläßt, so muß die Lichtintensität mittels Neutral-Graufilter herabgesetzt werden. Eine Veränderung der Stromstärke würde auch die Farbtemperatur des Lichtes verändern.

Konversionsfilter

Ist die für einen Film erforderliche Farbtemperatur mit der Mikroskopierlampe nicht zu erreichen, so müssen Konversionsfilter benutzt werden. Sie verändern die Farbtemperatur des Lichtes um einen bestimmten Wert. Je nach Filter kann man die Farbtemperatur von Tageslichtfilmen oder von Kunstlichtfilmen erreichen. Letzteres ist z. B. erforderlich, wenn man Xenon-Hochdrucklampen benutzt und mit Kunstlichtfarbfilm photographieren will. Die gebräuchlichsten Konversionsfilter und ihre Verwendung sind in der untenstehenden Tabelle angegeben.

Konversionsfilter	Farbtemperaturänderung	
	von	auf
CB6 und	2800° K	3400° K
CB6	2600° K	3100° K
CB 12	3100° K	5500° K
CB 16,5	2800° K	5500° K
CR 1,5	6000° K	5500° K
CR 12	6000° K	3100° K

Mikroblitz

Die spektrale Emission des Mikroblitzes kommt der des Tageslichtes gleich. Aus diesem Grund werden bei Blitzaufnahmen Tageslichtfarbfilme benutzt.

Fluoreszenz

Ähnliche Verhältnisse liegen auch bei Aufnahmen im Fluoreszenzlicht vor. Auch hier ist die Verwendung von Tageslicht-Farbfilmen angezeigt.

Die Mikroaufnahme

Präparate

Wichtigste Voraussetzungen für eine gute Mikroaufnahme sind ein entsprechendes Präparat, einwandfreie Objektträger und Deckgläser. Man beachte dies bereits bei der Vorbereitung des Materials. Soweit Schnitte Verwendung finden, sollten sie dünn sein. Allerdings färben sich dünne Schnitte weniger kräftig an, außerdem sind sie meist schwieriger herzustellen. Oftmals muß hier ein Kompromiß geschlossen werden. Das Einbettungsmedium darf nur in dünner Schicht das Objekt einschließen, es muß blasenfrei sein.

Einstellen der Beleuchtung

Auf eine sorgfältige Einstellung der Beleuchtung nach dem Köhlerschen Beleuchtungsprinzip ist besonders zu achten. Photographische Emulsionen reagieren bedeutend empfindlicher als das Auge auf eine ungleichmäßige Ausleuchtung. Bei Farbaufnahmen muß vor Ermittlung der Belichtungszeit und vor der Aufnahme die Lampe auf die Farbtemperatur des Filmes gebracht werden.

Wichtig ist bei Farbaufnahmen auch die Höheneinstellung des Kondensors. Jeder Kondensor hat am Rand der Leuchtfeldblende Farbsäume. Man sollte den Kondensor

deshalb in der Höhe so einstellen, daß die Farben am Blendenrand im Gleichgewicht sind, d.h. es sollte keine Farbe überwiegen.

Einstellen des mikroskopischen Bildes

Die für die Aufnahme wichtigsten Strukturen sollten in Bildmitte orientiert werden. Durch Drehen des Objektes oder der Kamera läßt sich das Negativformat optimal nutzen. Hierauf stelle man die Schärfe ein. Werden Planobjektive benutzt, dann ist das Bild auch über das ganze Aufnahmeformat scharf. Bei den in dieser Druckschrift beschriebenen mikrophotographischen Einrichtungen in Teil III bestehen vier Möglichkeiten für die Bildeinstellung:

1. Die Mattscheibe

Ihre durch das Korn der Oberfläche bedingte Streufähigkeit ermöglicht, die Schärfe über das gesamte Bildformat exakt einzustellen. Allerdings können feine Details durch das Mattscheibenkorn beeinträchtigt werden. Bei Abbildungsmaßstäben über 200:1 verwendet man daher gern

2. Die Klarglasscheibe

Sie wird in Verbindung mit einer Lupe zum Scharfeinstellen auf das Luftbild benutzt. Damit hat man bei den geringen Tiefenschärfen der höheren Vergrößerungen eine außer-

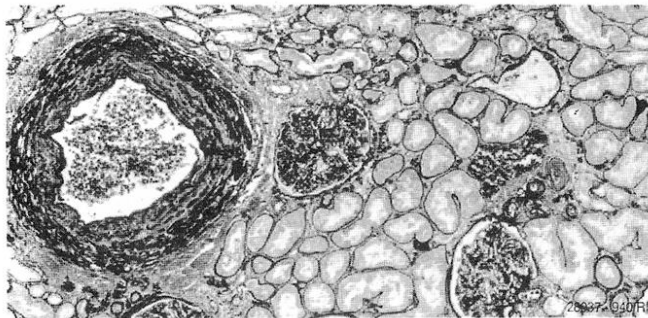


Abb. 51
Nur einwandfreie Dünnschnitte ermöglichen die optimale Nutzung des Mikroskops.

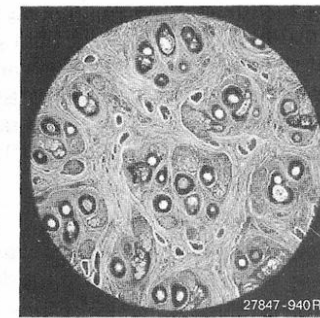
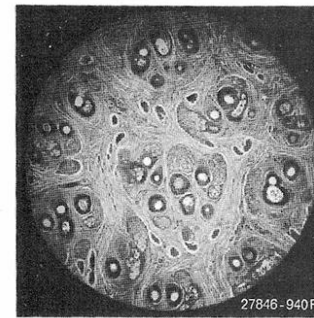


Abb. 52
Links: ungleichmäßige Ausleuchtung,
rechts: gleichmäßig ausgeleuchtetes Sehfeld.

1. Fernrohr über das Mikroskop-Okular halten und Augenlinse desselben so lange verstellen, bis man die beiden Doppelkreise scharf sieht.

2. Mikroskopisches Bild mit dem Feintrieb fokussieren, bis es im Fernrohr gleichzeitig mit den Markierungen scharf erscheint.

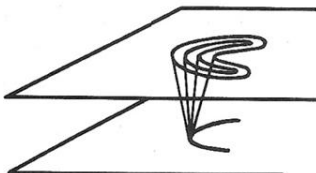
Tiefenschärfe

Grundsätzlich ist im Mikroskop die scharf abgebildete Objektschicht relativ dünn. Als Faustregel kann man sich merken, daß sie bei einem Objektiv mit der Apertur 0.25 und der Gesamtvergrößerung $V = 100$ ca. $25 \mu\text{m}$, bei Ölimersionen meist nur noch $1 \mu\text{m}$ und weniger beträgt. Genaue Werte entnehme man bitte der Tabelle.

Will man die Tiefenschärfe erhöhen, dann kann dies durch Abblenden der Beleuchtungsapertur geschehen. Das hat allerdings zur Folge, daß die Auflösung geringer wird. Ist die Tiefenschärfe vorrangig, kann die Beleuchtungsapertur auch um mehr als 30% verringert werden. Es sollte dabei allerdings visuell kontrolliert werden, wie weit man dies zu Lasten der Auflösung tun darf.

Will man nichts an Auflösung opfern, dann bleibt nur noch die Möglichkeit, schwächere Vergrößerungen und sehr feinkörnige Filme zu verwenden.

Bei Kleinbildkameras ist durch den Kamerafaktor 0,32x eine für viele Fälle ausreichende Tiefenschärfe von vorn herein gegeben.



27878-512 R

Abb. 54
Erhöhung der Tiefenschärfe durch Abblenden der Apertur: Schlanke Lichtkegel erzeugen kleinere Streuhöfe.

Man sollte jedoch von Anfang an stets daran denken, durch präparative Maßnahmen die Tiefenausdehnung des Objektes genügend einzuschränken. Bei hohen Aperturen hilft das auch nur bedingt. Hier muß man einfach auf maximale Auflösung größerer Tiefen verzichten.

Bestimmen der Vergrößerung

Bekanntlich ist die Gesamtvergrößerung eines Mikroskops $V_{\text{Mikroskop}} = M_{\text{Objektiv}} \times V_{\text{Okular}} \times \text{Tubusfaktor}$.

In dieser Vergrößerung kann das Bild auch in der Bezugssehweite von 25 cm auf der Mattscheibe einer Balgenkamera aufgefangen werden. Weicht die Balgenlänge von diesem Betrag ab, so ist die Mikroskopvergrößerung mit dem Faktor $\frac{\text{Balgenlänge in cm}}{25 \text{ cm}}$ zu multiplizieren.

Für den Abbildungsmaßstab gilt dann

$$M_{\text{Balgenkamera}} = V_{\text{Mikroskop}} \times \frac{\text{Balgenlänge in cm}}{25 \text{ cm}}$$

Für die in ihrem Auszug festliegenden Kleinbildkameras ist der Kamerafaktor graviert. Er beträgt bei unseren Einrichtungen 0.32x.

Also gilt hier

$$M_{\text{Kleinbildkamera}} = V_{\text{Mikroskop}} \times 0.32$$

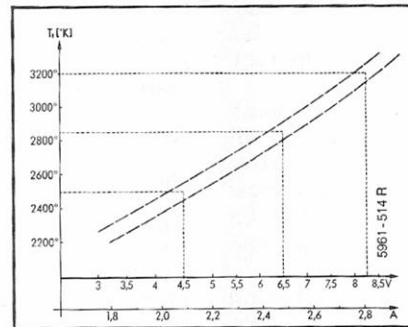
Im allgemeinen reicht diese einfache Berechnung der Vergrößerung aus. Sollen Aufnahmen für Größenbestimmungen benutzt werden, dann ist eine zweite Aufnahme mit einem Objektmikrometer zu erstellen. Bei Verwendung einer Balgenkamera kann auch ein Okularmikrometer gleichzeitig mit dem Präparat photographiert werden. Eine andere Möglichkeit besteht darin, das Bild des Objektmikrometers auf der Mattscheibe auszumessen und die Vergrößerung dann später mit einem Maßstabstrich in das Negativ zu übertragen. Man zieht einfach einen schwarzen Maßstabstrich in eine bildunwichtige Stelle des Negativs und schreibt die dazugehörige Strecke dazu.

Zum Beispiel: |-----| 100 μm .

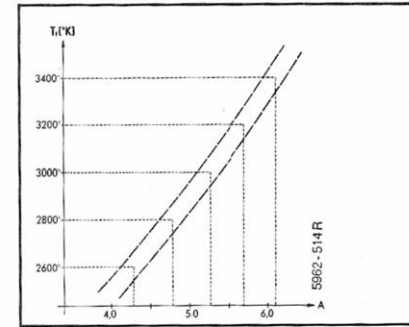
Lampen für die Mikrophotographie

Typ	Betriebsspannung V	Leistung W	mittlere Leuchtdichte sb	Regelung der Helligkeit	Farbtemperatur K	Verwendung in der Mikrophotographie
Niedervoltlampe 30W	6	30	2000	Trafo	bis 3 400	SW und Kunstlicht-Colorfilm
Niedervoltlampe 60W	12	60	2700	Trafo	bis 3 400	SW und Kunstlicht-Colorfilm
Halogen-Glühlampe 50W	12	50		Trafo	bis 3 400	SW und Kunstlicht-Colorfilm
Halogen-Glühlampe 100W	12	100	3500	Trafo	bis 3 400	SW und Kunstlicht-Colorfilm
Xe-Lampe 150W	20	150	7000	Graufilter	6 000	SW und Tageslicht-Colorfilm
Hg-Lampen von 50 - 200W					Nur für Fluoreszenz	SW und Tageslicht-Colorfilm

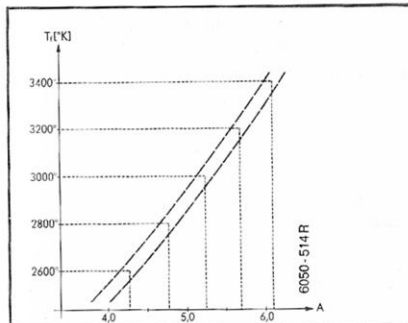
Abb. 55a bis e
Abhängigkeit der Farbtemperatur von der Strombelastung bei verschiedenen Niedervolt-Leuchten.



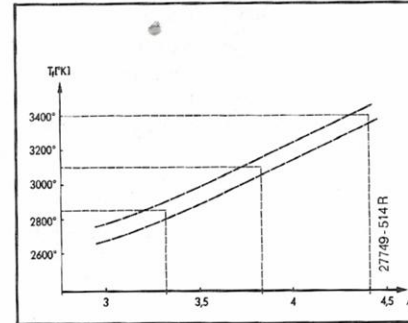
a) Niedervolt-Leuchte 6 V 15 W.



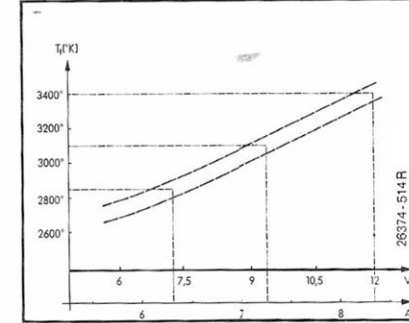
b) Niedervolt-Leuchte 6 V 30 W.



c) Niedervolt-Leuchte 12 V 60 W.



d) Halogen-Glühlampe 12 V 50 W.



e) Halogen-Glühlampe 12 V 100 W.

Die häufigsten Fehler beim Mikroskopieren

Grundsätzlich vergewissere man sich zu Beginn des Mikroskopierens:

Ist die Beleuchtung in Ordnung?

Lampe zentriert, Leuchtfeldblende und Aperturblende in der richtigen Stellung, keine Filter, Mattscheiben etc. im Strahlengang, die nicht hineingehören?

Ist der Objektivrevolver eingerastet?

Ist der Binokulartubus auf die richtige Augenweite und sind die verstellbaren Augenlinsen der Okulare eingestellt?

Ist die Optik sauber?

1. Ungleichmäßige Ausleuchtung

Sie kann durch verschiedene Fehler bedingt sein. Zunächst überprüfe man,

ob Revolver und Kondensor ganz eingeschoben sind, das Objektiv eingerastet ist,

ein eventueller Filterhalter vignettiert,

der Bedienungshebel zum Strahlenteiler des FSA-Tubus in der richtigen Stellung ist,

und die Lampe fest in der Fassung sitzt.

Danach kontrolliere man die Lampenzentrierung, die Stellung des Kollektors und die der Klapplinse im Stativfuß. Letztere muß immer eingeschaltet sein. Ausnahme Objektiv 1:1.

Sollte die Ausleuchtung noch immer nicht zufriedenstellen, überprüfe man Zentrierung und Höhenverstellung des Kondensors und ob der Kondensorkopf je nach benutztem Objektiv ein- bzw. ausgeklappt ist.

2. Flaue Bilder durch beschädigte oder verschmutzte Objektive

Defekte Objektive liefern entweder gar keine Bilder oder diese sind flau oder verschieben sich beim Durchfokussieren. Beschädigt ist dann oft die Frontlinse, obwohl die Federfassungen ein hohes Maß an Schutz bieten. Solche Objektive müssen ins Werk oder zur Vertretung. Do it yourself-Reparaturen verschlimmern meist das Übel.

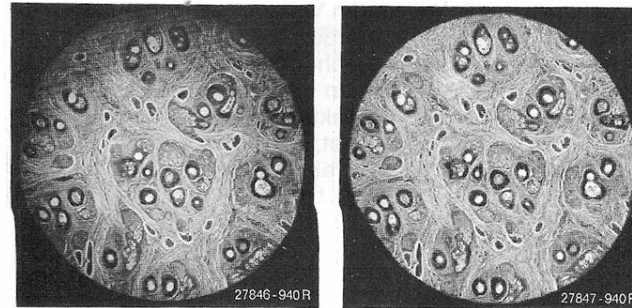


Abb. 56
Links: ungleichmäßige Ausleuchtung,
rechts: gleichmäßig ausgeleuchtetes Sehfeld.

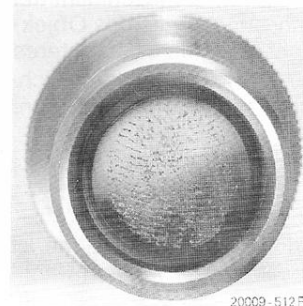


Abb. 57
Fingerabdrücke auf hochwertiger
Optik machen das Bild hoffnungs-
los flau.

Häufiger dagegen sieht man verschmutzte Frontlinsen. Daran sollte man immer denken, wenn das Bild kontrastarm ist. Kontrolliert wird am besten mit einer Lupe. Staub entferne man mit einem weichen Pinsel, das gilt auch für die anderen Außenflächen der Objektivlinsen. Haftende Verschmutzungen entferne man mit destilliertem Wasser, Xylol oder Benzin. Gelegentlich reinige man auch die Augenlinsen der Okulare. Sie werden meist von den Wimpern mit einem feinen Film bedeckt.

3. Unscharfe Flecken im mikroskopischen Bild

Unscharfe Flecken, die beim Verschieben des Präparates nicht mitwandern, werden durch Staub etc. auf Linsen und sonstigen optischen Flächen verursacht. Den genauen Ort erkennt man, wenn man nacheinander Okular, Kondensor, Umlenkspiegel, Kollektor, Filter usw. verdreht oder bewegt und dabei beobachtet, ob und wie sich die Flecken mitbewegen. Bei einiger Erfahrung kann man dann feststellen, wo sich der Staub befindet. Man reinige auch hier mit einem Pinsel oder einem weichen Lappen.

4. Flaue Bilder bei Trockenobjektiven hoher Apertur

Bei Verwendung von Trockensystemen hoher Apertur kann das Bild manchmal zur Kontrastarmut neigen. Hier wurde entweder das Deckglas vergessen, ein zu dickes oder dünnes Deckglas benutzt, mit zuviel Einschlußmittel gearbeitet oder die Korrektionsfassung – falls das Objektiv eine solche besitzt – nicht richtig eingestellt. Letzteres kommt einem zu dicken oder zu dünnen Deckglas gleich. Bitte auch die Stellung der Leuchtfeldblende überprüfen. Diese darf nur bis zum Sehfeldrand geöffnet sein.

5. Flaue Bilder oder Schlieren bei Ölimmersionen

Meist wurde das Öl vergessen. Eine andere Ursache ist die: Wenn man zu einer Ölimmersion, die etwa über Nacht gestanden hat, frisches Öl dazugibt, um die Beobachtung

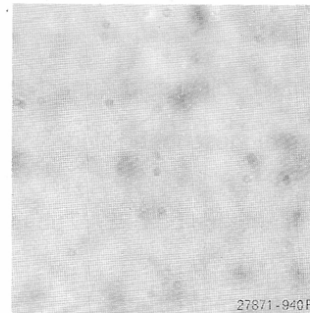


Abb. 58
Staub auf optischen Flächen.

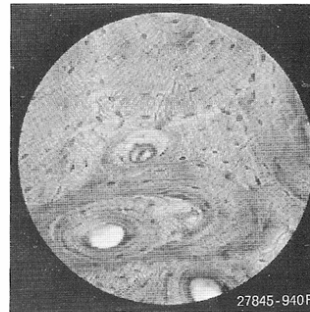


Abb. 59
Flaues Bild.

fortzusetzen, können sich im Öl schädliche Schlieren bilden. Es kann jedoch auch vorkommen, daß die Frontlinse durch ältere Ölrückstände verunreinigt ist, oder daß Luftblasen im Öl sind. Außerdem achte man bei hochaperturigen Immersionsobjektiven auf vorschriftsmäßiges Immersionsöl und Deckgläser von ungefähr 0,17 mm Dicke. Da auch die Brechzahl nicht abweichen darf, hüte man sich, das Deckglas durch andere Materialien zu ersetzen. Schließlich sollte die Raumtemperatur nicht allzusehr von 22 bis 23° C abweichen. Bei 15° oder 35° C kann die Bildqualität schon merklich beeinträchtigt sein.

6. Unnatürlicher Kontrast durch falsch eingestellte Aperturblende

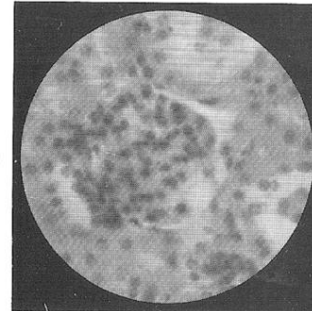
Bei Objektivwechsel wird häufig vergessen, die Aperturblende nachzustellen. Die Folge ist eine zu weit geöffnete oder geschlossene Aperturblende. Das kann zu flauen oder zu stark kontrastierten Bildern mit entsprechend verminderter Auflösung führen. Man achte daher immer auf die richtige Stellung von Apertur- und Leuchtfeldblende. Nie regele man mit der Aperturblende die Helligkeit!

7. Präparat läßt sich nicht scharfstellen

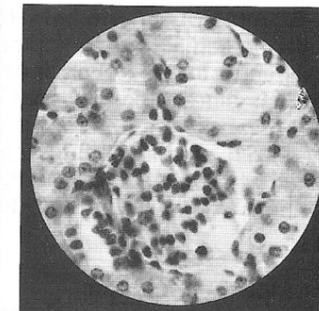
Läßt sich das Präparat gar nicht oder nur unzureichend scharfstellen, so wurde bestimmt der Objektträger mit dem Deckglas nach unten auf den Objektisch gelegt. Das kann bei unbeschrifteten Präparaten nur zu leicht vorkommen.

8. Mangel an feineren Details infolge Überschreiten der förderlichen Vergrößerung

Zu hohe Nachvergrößerungen, z.B. mit stärksten Okularen, können zu leeren Vergrößerungen führen. Dem Bild fehlt dann jedes feine Detail. Man bleibe daher bei den üblichen Mikroskopierarbeiten stets im Bereich der förderlichen Vergrößerung von 500 A bis 1000 A. Übrigens: Der Tubusfaktor geht auch in die Nachvergrößerung ein.

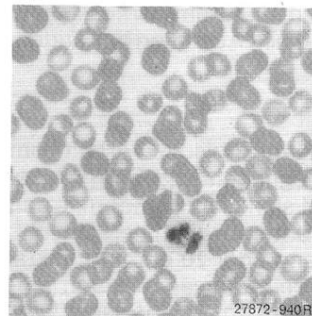


27867-940 R

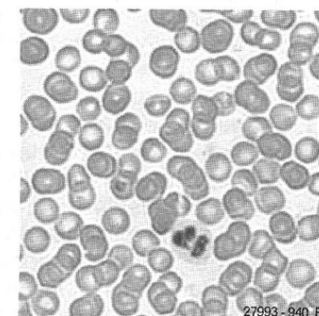


27868-940 R

Abb. 60a, b
Mikro-Aufnahme mit einer Ölimmersion;
links: ohne Immersionsöl, rechts: mit Immersionsöl.

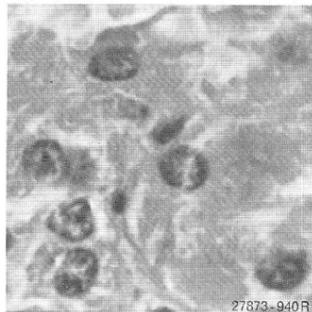


27872-940 R



27993-940 R

Abb. 61a, b
Links: flaes Bild durch zu weit geöffnete Aperturblende, rechts: Beugungssäume bei zu eng geschlossener Aperturblende.



27873-940 R

Abb. 62
Leere Vergrößerung durch starkes Überschreiten der förderlichen Vergrößerung.

9. Extreme Unschärfe bei Objektivwechsel

Gelegentlich kann es vorkommen, daß Objektive nicht vollständig in den Revolver eingeschraubt sind. Das macht sich als eine starke Unschärfe beim Wechsel des Objektivs bemerkbar. Außerdem stimmt die Parfokalität nicht mehr, d.h. ein in Nähe des Zentrums befindliches Objekt-detail wird beim Objektivwechsel nicht mehr im Zentrum, sondern irgendwo entfernt davon abgebildet.

10. Mouches volantes

Dieses sogenannte „Mückensehen“ stört bei starken Vergrößerungen. Es handelt sich um eine entoptische Erscheinung, die also durch anatomische Gegebenheiten des Auges bedingt ist, jedoch subjektiv im Außenraum lokalisiert wird. Sie wird verursacht durch feine Glas-körpertrübungen oder Schlieren der Kammerflüssigkeit, die die Netzhaut verschatten. Oft hilft Ausruhen der Augen.

11. Ungeeignete Präparate

Oftmals hängt der Erfolg der mikroskopischen Arbeit vom Präparat ab. Wer es an Überlegungen und Sorgfalt bei der Präparation fehlen läßt, darf sich nicht wundern, wenn später die mikroskopische Untersuchung enttäuscht. Schlecht geschnittene, zerrissene oder zu dicke Objekte, Überfärbungen, nicht einwandfreie Entwässerungen führen mit Sicherheit zu enttäuschenden Ergebnissen. Wer z.B. in Luft eingeschlossene Diatomeen im Dunkelfeld mit Immersionskondensor untersuchen will, vergißt die Totalreflexion an der Glasfläche des Objektträgers. Er sieht buchstäblich ins Leere. Solche Beispiele kann man bei-nahe beliebig fortsetzen.

Abb. 63



III Gerätetechnischer Teil

Abb. 64 a-f
Das Leitz-Mikroskop-Programm

Schul-, Kurs- und
Amateurmikroskop
Leitz HM-LUX 3



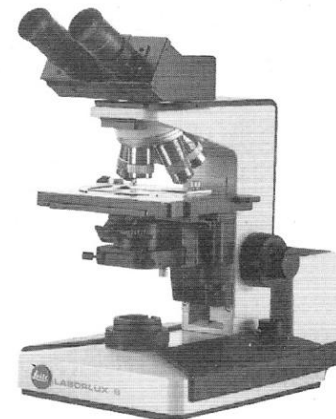
Ret.-Nr. 24083 - 512

Laboratoriums-
mikroskop
Leitz BIOMED



Ret.-Nr. 24080 - 512

Laboratoriumsmikroskop
Leitz LABORLUX S



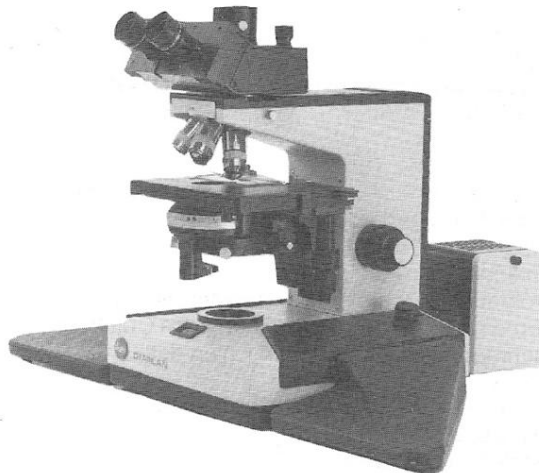
Ret.-Nr. 24079 - 512

Allgemeine Hinweise

Der gerätetechnische Teil beschreibt Aufbau und Funktion eines typischen Leitz-Durchlicht-Mikroskops und das standardmäßige Zubehör. Des weiteren sind eine Reihe von Ergänzungseinrichtungen für die Mikroskopie aufgeführt; eine kleine Auswahl von Sondergeräten bildet den Abschluß. Neben einer Fülle von technischen Einzelheiten wird dem Leser eine er-

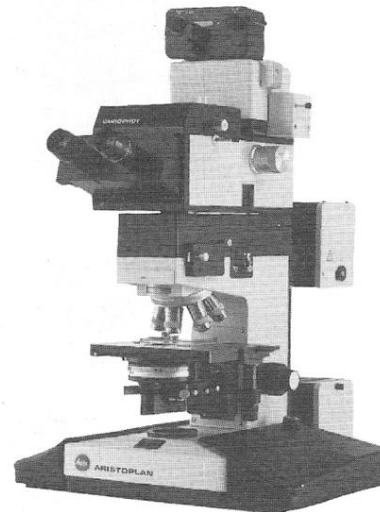
ste Übersicht über das Leitz-Bausteinsystem für die wissenschaftliche und technische Mikroskopie geboten. Weiteres Informationsmaterial steht mit unseren Druckschriften, Sonderdrucken und den Leitz Mitteilungen für Wissenschaft und Technik zur Verfügung.

Mikroskop für Wissenschaft
und Diagnostik
Leitz DIAPLAN



Ret.-Nr. 22709 - 512

Forschungsmikroskop
Leitz ARISTOPLAN



Ret.-Nr. 21385 - 512

Aufbau des Mikroskops

So verschieden die einzelnen Mikroskope auch hinsichtlich ihrer Anwendung sein mögen, ihre wesentlichen Bestandteile sind immer:

Stativ mit Objektisch

Mikroskoptubus

Objektivträger

Optik, bestehend aus Objektiven und Okularen

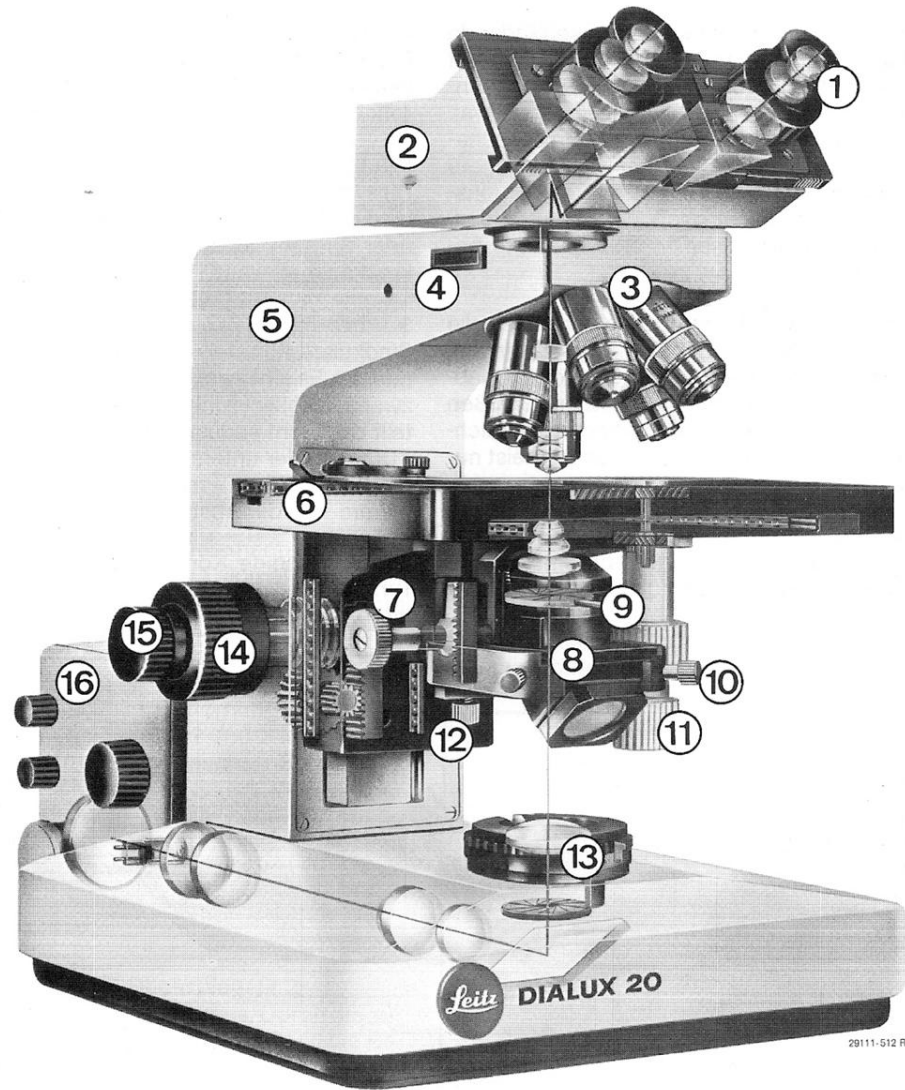
Beleuchtung.

Aufbau und Funktion der einzelnen Bauelemente eines Durchlichtstatives sind in den nachfolgenden Kapiteln beschrieben.

Abb. 65

Bauelemente eines Mikroskops

- 1 Okulare PERIPLAN GF
- 2 Binokulartubus S
- 3 5-facher Revolver mit Objektiven NPL FLUOTAR
- 4 Filterschlitz für Lichtfilter
- 5 Stativ
- 6 Großer Kreuztisch Nr. 78
- 7 Rändelknopf zur Höhenverstellung des Kondensors
- 8 Achromatischer Standardkondensor SK
- 9 Einstellhebel zum Öffnen und Schließen der Aperturblende
- 10 Rändelschrauben für die Kondensorzentrierung
- 11 Triebknöpfe für die Kreuzverschiebung des Objektes
- 12 Rändelschraube für den Höhenanschlag des Kondensors
- 13 Rändel zum Einstellen der Leuchtfeldblende
- 14 Grobeinstellung des Bildes
- 15 Feineinstellung des Bildes
- 16 Lampenhaus 102 Z



Mikroskoptuben

Bei älteren Stativen war der Mikroskoptubus das verbindende Rohr zwischen Objektiv und Okular. Die Objektive waren dort entweder direkt oder mittels Revolver mit dem Tubus verbunden, wobei der Revolver ein fester Bestandteil des Tubus war. Der Tubus hatte eine genau festgelegte Länge, die als mechanische Tubuslänge definiert wurde. Diese Länge, die von Anschraubfläche des Objektivs bis zum oberen Tubusrand, konnte vom Benutzer leicht nachgemessen werden, wenn sich im Tubusrohr weder Linsen noch Prismen etc. befanden.

Bei modernen Stativen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Objektivträger nicht mehr starr mit dem Tubus zu verbinden, da man heute zweckmäßigerweise Tuben und Revolver unabhängig voneinander wechseln möchte. Alle modernen großen Leitz-Stativ bieten diese Freizügigkeit der Wechselmöglichkeit beider Bauelemente. Bei kleineren Stativen ist meist nur der Tubus wechselbar.

Alle Leitz-Stativ haben auswechselbare Tuben. Sie sind um 360° drehbar; die Tubusaufgabe ist hart verchromt, so daß auch nach langjährigem Gebrauch der Tubus noch einwandfrei justiert ist.

O-Tubus

Dieser einfachste Tubus ist ein gerades Rohr. Er dient zum Aufsetzen einer photographischen Einrichtung mit Einstellfernrohr oder eines Projektionsaufsatzes.

P-Tubus

Dies ist ein monokularer, unter 45° geneigter Schrägtubus. Er wird entweder für einfache Kursausstattungen gebraucht oder für sehr lichtschwache Objekte in der Fluoreszenzmikroskopie verwandt.

S-Tuben

Binokulartuben stellen das Optimum für visuelle Beobachtungen dar. Es gibt zwei Versionen des binokularen Tubus S, und zwar mit Einblickwinkeln von 30° und 45° . Sein Prismensystem teilt das Licht verlustlos in die beiden Okularrohre auf. Zum Ausgleich der unterschiedlichen Augenweite bei den einzelnen Beobachtern – man rechnet mit Werten zwischen 55 und 75 mm – ist der Abstand beider Okularrohre verstellbar.

Die notwendige Kompensation der dadurch veränderten Tubuslänge kann an den beiden Okularrohren vorgenommen werden. Sie sind mit Werten von 55 bis 75 mm graviert.

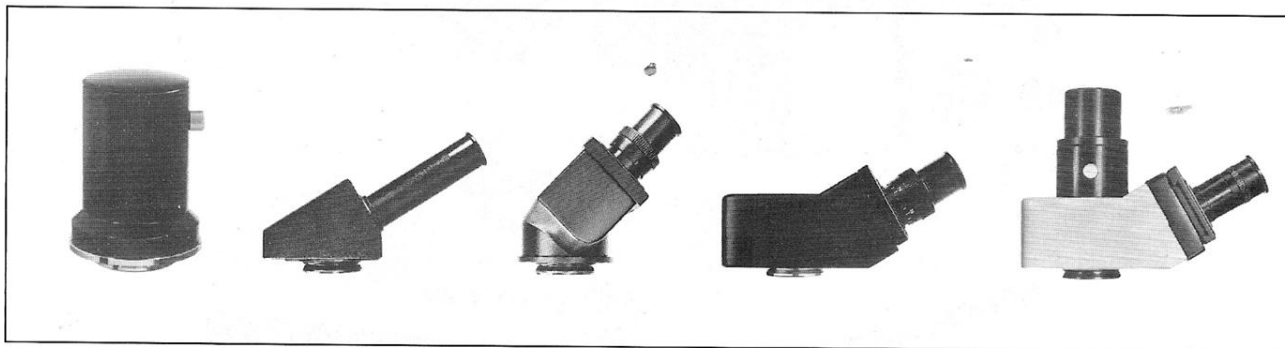


Abb. 66 Geradertubus O

Monokularer
Schrägtubus P

Binokulartubus S
45° 30°

Binokularer
Phototubus FSA

FSA-Tubus

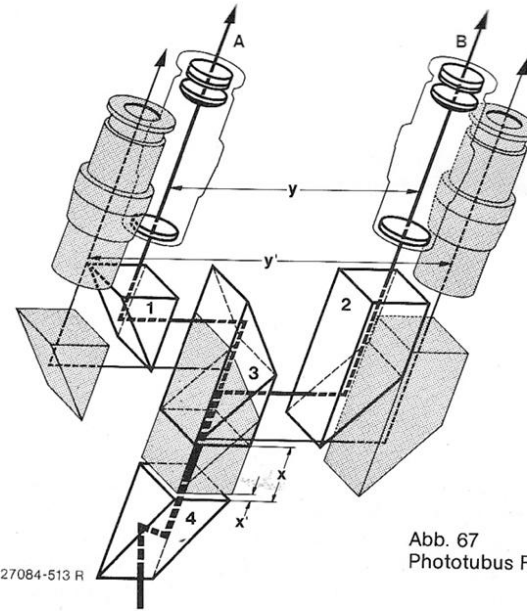
LEITZ-FSA-Tuben sind eine Kombination von Binokular-tubus und Photostutzen. Sie sind schaltbar für verlustlose Strahlenteilung zu 20 % visuell und 80 % Photographie oder 100 % visuell. Außerdem enthalten sie einen selbsttätigen Tubuslängenausgleich. Dadurch ist für jeden Augenabstand von 55 bis 75 mm das Bild sowohl in der Filmebene der Kamera als auch im visuellen Einblick scharf (nicht bei Balgenkameras), vorausgesetzt, daß auf der visuellen Seite ein Okular mit verstellbarer Augenlinse und Strichplatte benutzt wird.

Funktion des FSA-Tubus

Die Zeichnung zeigt die optischen Bauelemente des FSA-Tubus. Die beiden Okulare A und B sind einmal in engster Stellung und einmal in weitester Stellung gezeichnet. In der engsten Stellung sei y die Entfernung der Prismen 1 und 2 und x der Abstand der Prismen 3 und 4. Beim Verändern des Okularpaares in die weiteste Stellung werden die Prismen 1 und 2 auf die Entfernung y' auseinandergezogen und der Prismensatz 1, 2 und 3 in Richtung 4 abgesenkt. Die neue Entfernung zwischen 3 und 4 ist dann x' . Die Entfernung x' ist so definiert, daß die optische Weglänge von Prisma 4 bis Zwischenbildebene genau so groß ist wie in der engsten Stellung. Das gilt für jede beliebige Augenweite von 55 bis 75 mm.

Binokularer Phototubus FSA mit Rückspiegelung

Dieser Tubus hat alle Vorzüge des FSA-Tubus. Durch die zusätzlich eingebaute Rückspiegel-Einrichtung werden die Begrenzungsmarken der verschiedenen Aufnahmeformate als Lichtlinien dem mikroskopischen Bild optisch überlagert.

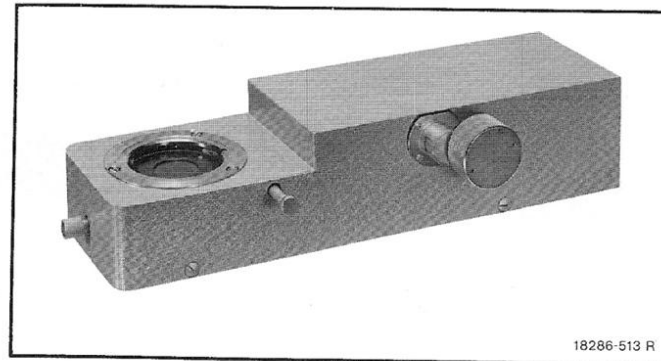


27084-513 R

Abb. 67
Phototubus FSA – Funktion.

Variotubus

Der Variotubus wird als Bauteil zwischen Stativ und Tuben eingeriegelt. Er erlaubt, den Tubusfaktor stufenlos im Bereich von $1x$ bis $3,2x$ zu variieren. Das mikroskopische Bild muß zunächst mit Hilfe eines Strichplatten-Okulars exakt eingestellt werden, es bleibt dann im ganzen Variobereich scharf. Der Variotubus ist besonders empfehlenswert für Photographie oder Kinematographie.



18286-513 R

Abb. 68
Variotubus zum LEITZ ORTHOPLAN

Tubus-Linsensysteme und Objektivrevolver

Konstruktive oder optische Gründe zwingen den Konstrukteur oft, von der vorgeschriebenen mechanischen Tubuslänge abzugehen. Um bei schwachen Objektiven den Abgleich zu wahren und bei starken die Abbildungsgüte nicht zu mindern, wird das Zwischenbild durch ein Tubus-Linsensystem verlagert. Das Objektiv wird also in der für seine Leistung optimalen Weise genutzt und die Bildverlagerung erst nachträglich durch ein hochkorrigiertes System, das Tubus-Linsensystem, vorgenommen. Je nach den angestrebten konstruktiven oder abbildungstechnischen Vorteilen werden Tubus-Linsensysteme mit den Faktoren 0,8x, 1x oder 1,25x benutzt. Bei den modernen Stativen ist das Tubus-Linsensystem ein Bestandteil des Objektivträgers. Es wird mit diesem dann auch zwangsläufig gewechselt.

Objektivrevolver mit Randlagerung und Innenrastung.
Der Objektivrevolver ist am Rand kugelgelagert 1. Die Zentrierung erfolgt mittels Zylinderlager 2 (wartungsfreie Sinterlager). Mittels Druckfedern 3 wird das Unterteil des Revolvers über Kugeln federnd in die Randaufgabe gedrückt. Die Rastung erfolgt durch eine Rastfeder 4, die sehr präzise in die jeweiligen Rastnocken 5 einrastet.

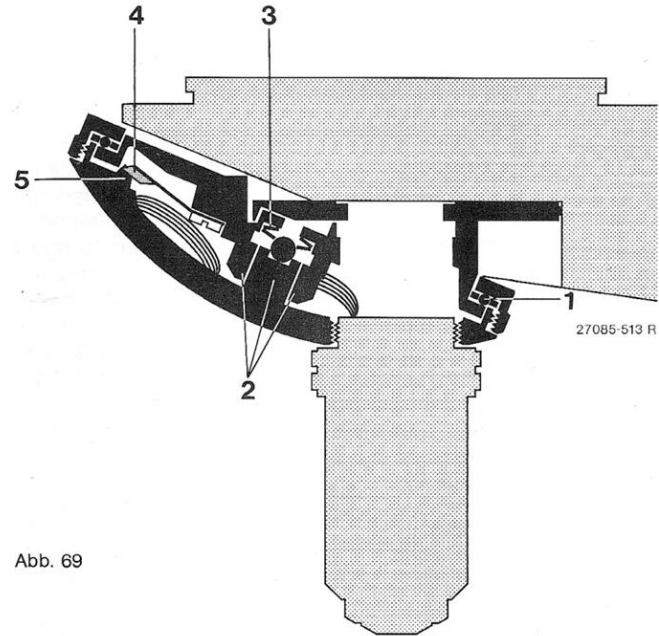


Abb. 69

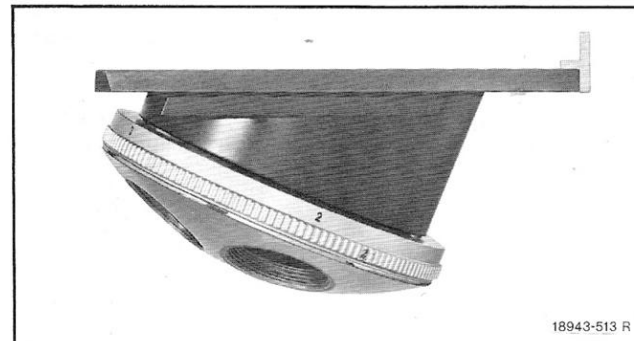


Abb. 70
Objektivrevolver zum Mikroskop LEITZ ORTHOPLAN

Objekttische

Die Auflagefläche des Objekttisches ist sehr genau senkrecht zur optischen Achse justiert. Zum Fokussieren des mikroskopischen Bildes kann der Tisch mittels Grob- oder Feinverstellung vertikal verstellt werden. Der Tubus bleibt dadurch stets in gleicher Höhenlage. Die Höhenverstellung läuft in Kugelbahnen. Bei größeren Stativen ist der Objekttisch wechselbar, bei mittleren und kleinen Stativen wird der Tisch im Werk fest montiert. An der Unterseite sind eine Schlittenführung oder eine Schiebehülse für die Aufnahme des Kondensors vorhanden.

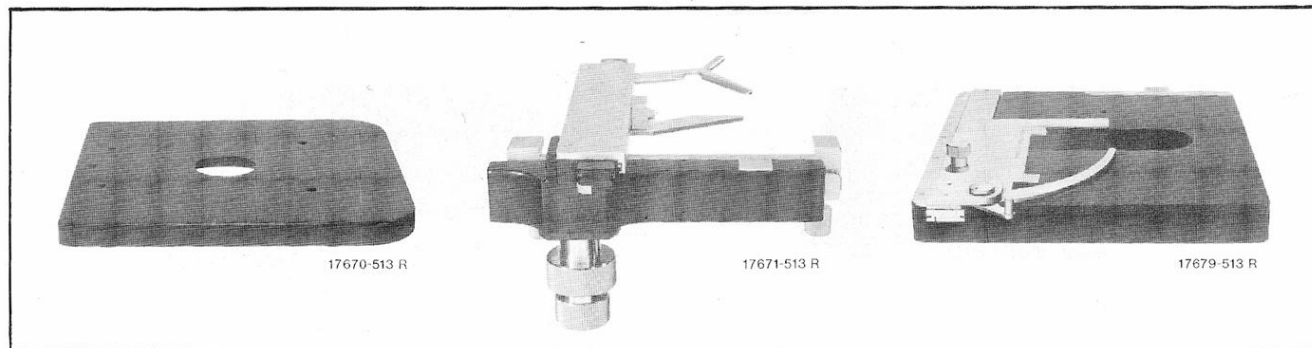
Je nach Ausführung unterscheidet man folgende Objekttische:

Einfache viereckige Objekttische

Diese sind rechteckig. Das Präparat kann von Hand oder mittels eines ansetzbaren Objektführers verschoben werden. Im einfachsten Fall wird es mit Tischklemmen festgehalten.

Kreuztische

Das Präparat wird hier in x- und y-Richtung verschoben, und zwar in y-Richtung durch die Tischplatte, in x-Richtung durch einen in der Tischplatte eingebauten Objektführer. Skalen und Nonien sind für beide Koordinaten vorhanden, so daß einmal festgelegte Details im Präparat stets wiedergefunden werden können.



Viereckiger
Objekttisch

Ansetzbarer
Objektführer dazu

Großer, eingebauter Kreuztisch
mit Teilungen und Nonien.

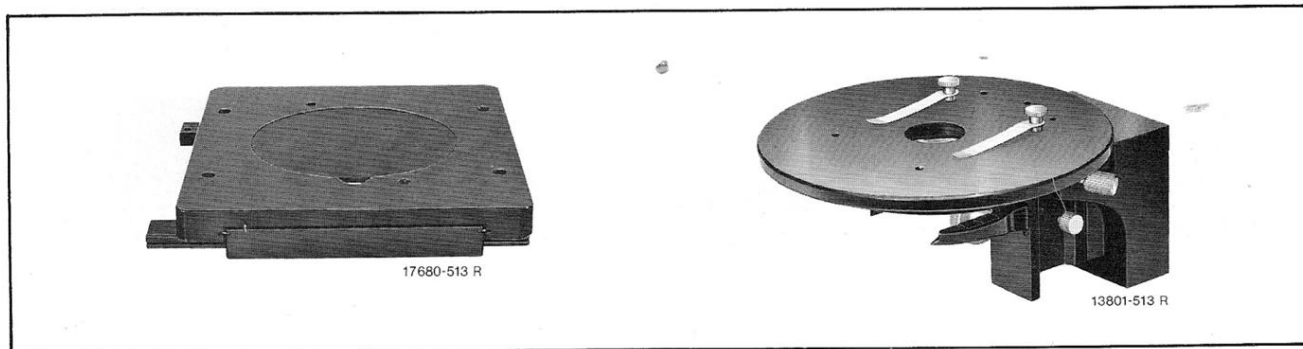
Abb. 71a-c

Gleittische

Der Gleittisch besteht aus einer beweglichen und einer festen Platte, die gut planparallel zueinander eingeschliffen sind. Die obere Platte kann in jeder beliebigen Richtung verschoben werden. Durch Schmiermittel geeigneter Konsistenz innerhalb beider Platten sind auch feine Verschiebungen von Hand möglich.

Drehtische

Hier wird das Präparat um eine parallel zur optischen Achse liegende Achse um 360° gedreht. Die Drehung kann bei großen Tischen an einer Skala abgelesen werden. Damit Drehachse und optische Achse zusammenfallen, sind bei einigen Objektivrevolvern die Objektive zentrierbar. Die großen Präzisions-Drehtische für die Polarisationsmikroskopie laufen auf Kugellagern; sie können in bestimmten Winkeln eingerastet und festgeklemmt werden.



Gleittisch

Einfacher Drehtisch

Abb. 72a-b

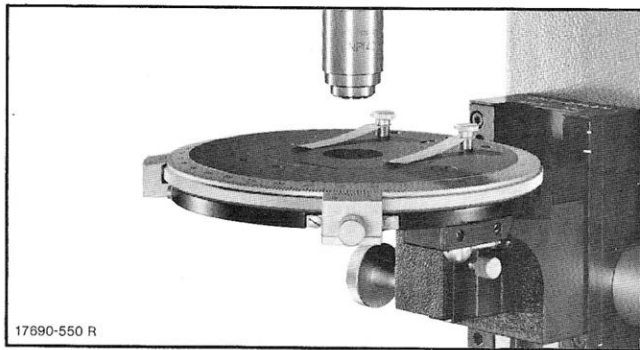


Abb. 73 Kugelgelagerter Drehtisch mit Gradeinteilung, Nonius und Arretiervorrichtung für die Polarisationsmikroskopie.

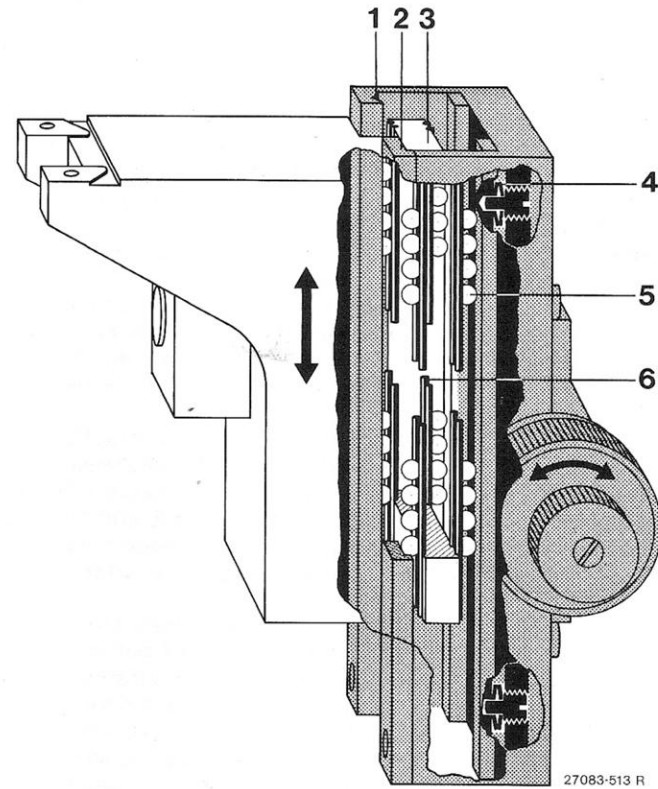


Abb. 74

Spielfreie Präzisions-Tischbewegung. Die Darstellung zeigt die nahezu reibungsfreie Tischbewegung. Sie ist eine Kombination von Kugel- und Stahlnadelführungen in prismatischer Grundanordnung. Man sieht die Kugeln 5 mit den gehärteten Stahlnadelbahnen 6. Vom Betrachter aus ist die hintere Führungsbahn 1 prismatisch, die vordere 2 eben. Beide Führungsbahnen sind starr. Die prismatische Führung bestimmt den Ablauf, die ebene die seitliche Fixierung. Die Führungsbahn 3 ist beweglich. Diese bewegliche Führungsbahn wird durch eine Federleiste 4 über die Kugeln gegen die festen Führungen 1 und 2 gedrückt. Damit ist eine konstante Anlage gewährleistet; ein Totgang wird durch die Federung vermieden.

Grob- und Feineinstellung

Die Grob- und Feineinstellung dient zum Scharfstellen des mikroskopischen Bildes. Grundsätzlich wirkt bei allen neuen Leitz-Stativen der Triebmechanismus auf den Objektisch, so daß die Einblickhöhe der Tuben stets konstant bleibt. Auch wird der Mechanismus dadurch nicht unnötigen Belastungen durch schwere Ergänzungseinrichtungen auf den Tubus ausgesetzt.

Von einer guten Grob- und Feineinstellung ist zu fordern, daß der tote Gang sowie das Nachwirken der Mikrometerschraube extrem gering sind. Außerdem soll der Mechanismus unempfindlich gegen atmosphärische Einflüsse und wartungsfrei sein.

Der konstruktive Aufbau ist je nach Stativtyp verschieden. Mittlere und große Stative sind mit koaxialer Zweiknopfbedienung ausgestattet. Grob- und Feineinstellung werden mit getrennten Knöpfen bedient. Bei den Spitzenmodellen wird für den Triebmechanismus ein Planetengetriebe benutzt. Hier beträgt der Feinverstellbereich ca. 40 μm .

Kleinere Stative haben eine Einknopfbedienung. Grob- und Feineinstellung werden am gleichen Knopf betätigt. Der Knopf wirkt als Feineinstellung, sobald die Drehrichtung geändert wird. Nach etwa $1/3$ Umdrehung des Knopfes ist das Ende der Feinbewegung erreicht. Beim Weiterdrehen wirkt der Knopf wieder als Grobtrieb. Die Abbildungen rechts zeigen die Funktion eines Planetengetriebes und der Einknopfbedienung.

Die Trommeln der Feineinstellungen sind bei großen Instrumenten in 100 Teile, bei mittleren in 150 Teile geteilt. Jedem Intervall entspricht eine Höhenverstellung des Objektisches von etwa $1 \mu\text{m}$ bzw. $2 \mu\text{m}$.

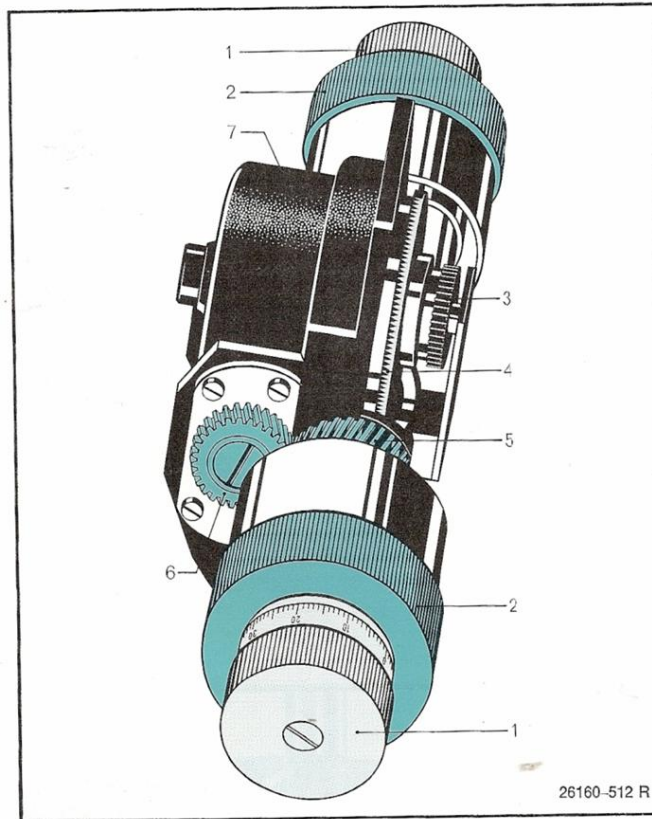


Abb. 75
Planetengetriebe für die Grob- und Feineinstellung.
Die dunkelblauen Elemente gehören zur Grobbewegung, die hellblauen zur Feinbewegung. 1 Feineinstellknopf, 2 Grobeinstellknopf, 3 Endzahnrad, 4 großes Schneckenrad, 5 und 6 schrägverzahnnte Räderpaare, 7 Gehäuse.

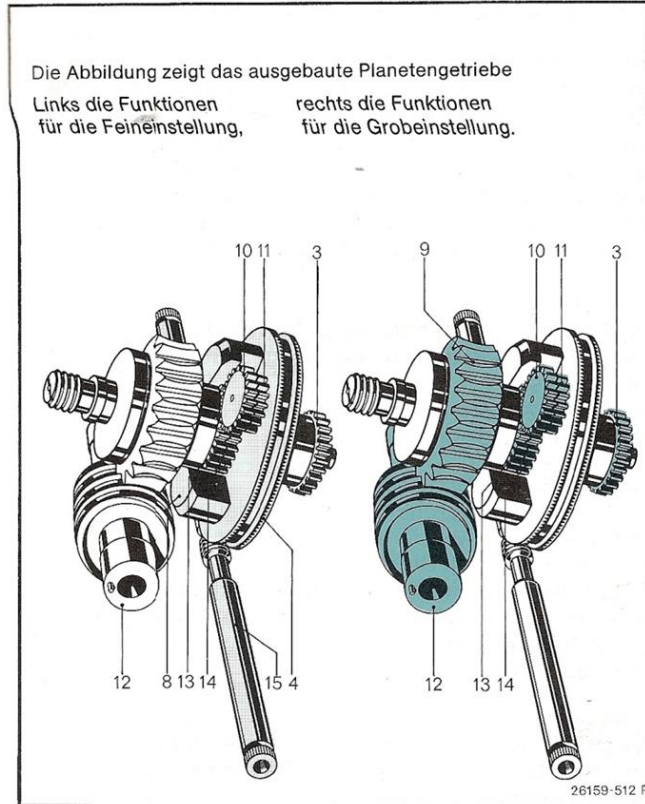


Abb. 76

Feineinstellung: hellblau

Die hellblaue Schnecke 15 treibt das große Schneckenrad 4, dieses über die Planetenräder 10, 11, 13, 14 das Endzahnrad 3. Die beiden Zahnräder 10, 11 laufen wie zwei Planeten um die inneren Zahnräder 13, 14.

Grobeinstellung: dunkelblau

Die Schnecke 12 treibt das Schneckenrad 9, dieses über die vier Zahnräder 10, 11, 13 und 14 das Endzahnrad 3. Die Planetenräder wirken jetzt als reine Übertragungsglieder, ähnlich dem Vorgelege einer Drehbank.

Einknopfbedienung

Diese Einknopfbedienung wurde speziell für unsere Schul- und Kursmikroskope entwickelt. Sie ermöglicht bei einfacher Handhabung ein einwandfreies Fokussieren selbst bei stärksten Vergrößerungen und ist absolut wartungsfrei.

Funktion: Die Schnecke S ist innerhalb eines kleinen Bereiches verschiebbar auf der Achse A angeordnet. Achse A und Triebknopf T sind fest verbunden. An der Achse A befindet sich der Mitnehmerstift H. Sobald dieser Mitnehmerstift einen der Anschläge K berührt, wird die Schnecke S direkt gedreht. Diese Bewegung wird unmittelbar auf das Schneckenrad B und von hier über Zahnrad C auf die Zahnstange D übertragen. Der Triebknopf T wirkt also infolge der direkten Übersetzung als Grobtrieb. Ändert man die Drehrichtung, so wird infolge eines Mechanismus, bestehend aus schiefer Ebene und Kugel, die Schnecke S um einen sehr kleinen Betrag parallel zur Achse verschoben. Dadurch werden das Schneckenrad B und das Zahnrad C um einen geringfügigen Betrag gedreht und die Zahnstange D um einen kleinen Betrag gehoben oder gesenkt. Triebknopf T wirkt jetzt als Feintrieb. Er behält diese Funktion bei, so lange sich der Mitnehmerstift H frei innerhalb der beiden Anschläge K bewegt.

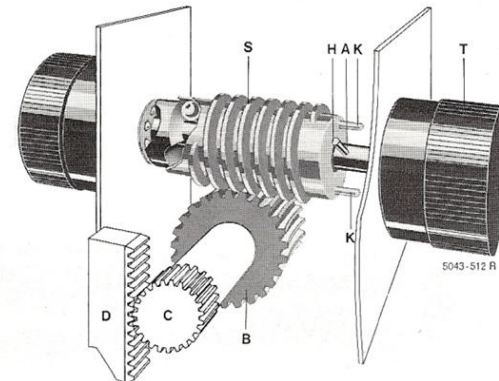


Abb. 77

Einknopfbedienung

Beleuchtungseinrichtungen

Zur Beleuchtungseinrichtung zählen die Leuchte, der Kondensator und die Beleuchtungsführung im Stativ. Man unterscheidet je nach Bauart:

1. Stativgebundene Einbau-Beleuchtungen
2. Auswechselbare, nicht stativgebundene Lampenhäuser
3. Stativleuchten

Bei den Einbau-Beleuchtungen ist die Lichtführung im Mikroskop integriert, die dazugehörige Leuchte sitzt entweder außen am Stativ oder im Stativfuß.

1. Stativgebundene Einbau-Beleuchtungen.

Niedervolt-Leuchte 6V 10W Halogen

Diese Lichtquelle ist für visuelle Arbeiten mit dem Mikroskop LEITZ LABORLUX® 11 im Hellfeld, Dunkelfeld und Phasenkontrast sowie für die Mikrophotographie geeignet. Die Lampe und der Einstelltransformator für den Anschluß an 110V bis 240V 50/60Hz sind in den Fuß des Mikroskops eingebaut. Zum Wechseln der Lampe muß das Mikroskop gekippt und die Bodenplatte geöffnet werden.

Halogen-Glühlampe 6V 20W

Sie ist im Stativfuß des Mikroskops LEITZ DIALUX 20 EB eingebaut und wird über den ebenfalls eingebauten Transformator angeschlossen.

Für visuelle Arbeiten mit dem Mikroskop im Hellfeld, Dunkelfeld, Phasen- und Interferenzkontrast.

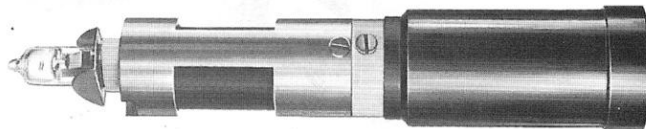
Niedervolt-Leuchte 6V 5W

Sie gehört zur empfohlenen Standardausrüstung des Mikroskops LEITZ HM-LUX 3 und ist wie der Transformator im Stativfuß eingebaut. Die 6V 5W Lampe ist vorzentriert und kann mit wenigen Handgriffen ausgewechselt werden. Wegen ihrer kleinen Wendel entspricht die Lichtausgabe der 6V 5W Glühlampe derjenigen einer Halogenlampe doppelter Intensität.

Netzleuchte 15W

Das LEITZ LABORLUX 11 ist in verschiedenen Ausführungen lieferbar, die sich auch in den Beleuchtungseinrichtungen voneinander unterscheiden.

Die eingebaute Niedervolt-Leuchte 15V ist für den direkten Anschluß an ein 220 V bzw. 110 V-Stromnetz vorgesehen.



Ret.-Nr. 22962-514

Abb. 78 Einbauleuchte 6V 20W
mit Fassung (zum LEITZ DIALUX 20 EB)

Niedervolt-Leuchte 6V 15W

Die Leuchte 6V 15W gehört zur Standardbeleuchtung des Mikroskops LEITZ DIAVERT. Sie kann gegen das Lampenhaus 50 ausgetauscht werden. Die Leuchte kann zentrierbare und vorzentrierte Lampen aufnehmen. Bei vorzentrierten Lampen ist die Zentriermöglichkeit unwirksam. Kollektor und Wärmeschutzfilter sind in der Leuchte eingebaut.

Lampenhaus 20

Das Lampenhaus 20 zum Mikroskop LEITZ LABORLUX K ist mit der lichtstarken Niedervolt-Leuchte 6V 20W-Halogen bestückt. Die Leuchte ist vorzentriert, deshalb jederzeit einsatzbereit und schnell auswechselbar. Der Netzstrom wird mit einem separaten Schalter unterbrochen.

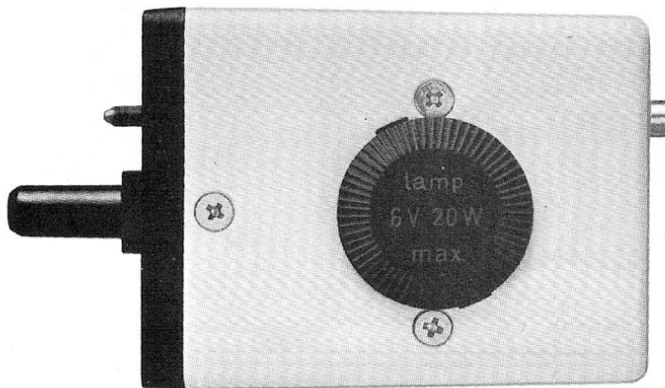


Abb. 79
Lampenhaus 20 zum Mikroskop
LEITZ LABORLUX K

2. Nicht stativgebundene Lampenhäuser

Die Lampenhäuser sind in Form und Ausführung den Stativen angepaßt. Sie können ausgewechselt werden. Der Anschluß erfolgt entweder direkt oder durch Adapter bzw. Spiegelhaus. Je nach Lampenhaus können die verschiedenartigsten Lampen verwandt werden. Die Lampen sind zum Teil zentrierbar, die Kollektoren verstellbar. Filter werden in die Filteraufnahme des Lampenhauses eingelegt. Ein auswechselbares Wärmeschutzfilter sitzt zwischen Filterwechsellvorrichtung und Kollektor.

Lampenhaus 20

Dies ist unser kleinstes, nicht stativgebundenes Lampenhaus. Es ist für Halogen-Lampen 6 V 20 W geeignet.

Anwendung: Zur Beobachtung und zur Mikrophotographie im Hellfeld und Phasenkontrast.

Lampenhaus 103

Dieses Lampenhaus ist für eine Halogen-Lampe 12 V 100 W geeignet und ist nicht zentrierbar. Daher empfiehlt es sich, dieses Lampenhaus nur für visuelle Zwecke einzusetzen.

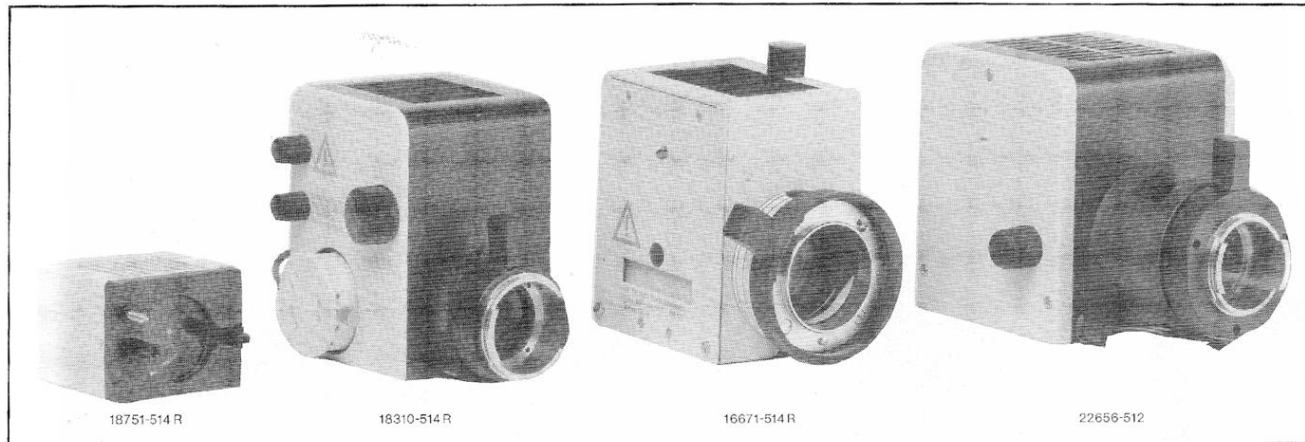
Lampenhaus 100Z und 103Z

Diese Lampenhäuser besitzen eine Zentriermöglichkeit für Lampe und Reflektor. Sie sind geeignet für Hochdruck-Gasentladungslampen bis 100 W Halogen-Glühlampen 12 V 100 W-Niedervolt-Leuchten können als Wechselbeleuchtung über ein Spiegelhaus angeschlossen werden.

Anwendung:

Visuelle und photographische Zwecke auf Schwarzweiß- und Colorfilm.

Fluoreszenzmikroskopie



Lampenhaus 20

Lampenhaus 103Z

Lampenhaus 100Z

Lampenhaus 103

Abb. 80a-d

Lampenhaus 250 und 252

Dieses große Lampenhaus ist mit universeller Zentriermöglichkeit für Lampe und Reflektor versehen. Es kann Hochdruck-Gasentladungslampen bis 250 W aufnehmen. Niedervolt-Leuchten können als Wechselbeleuchtung über ein Spiegelhaus angeschlossen werden.

Anwendung:

Visuelle und photographische Zwecke.

Mikroaufnahmen unter tageslichtähnlicher Beleuchtung.
Forschungs- und Routineuntersuchungen in der Fluoreszenzmikroskopie, Metallographie, Mikroprojektion.

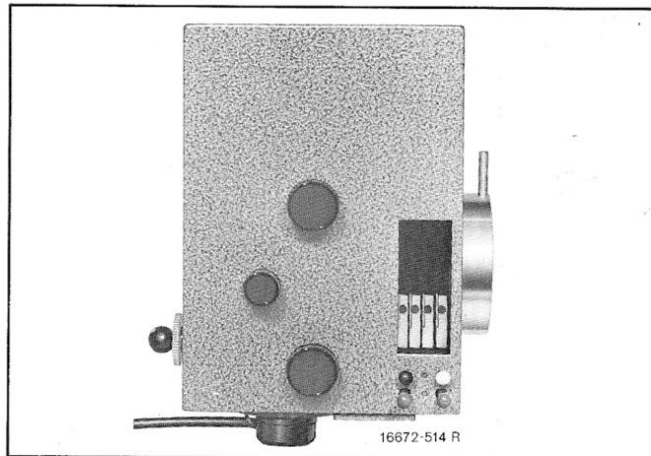


Abb. 81

Lampenhaus 250

Lampenhaus 500

Das Lampenhaus 500 ist die größte Beleuchtungseinheit und nur mit einem Spiegelhaus benutzbar. Es ist mit universeller Zentriermöglichkeit für Lampe und Reflektor und vielseitiger Filterwechsellmöglichkeit ausgestattet. Verwendbar sind alle luftgekühlten Gasentladungslampen bis 500 W. Niedervolt-Leuchten können als Wechselbeleuchtung über ein Spiegelhaus angeschlossen werden.

Anwendung:

Visuelle und photographische Zwecke, Fluoreszenzmikroskopie, Metallographie, Mikroprojektion.

Spezialleuchten sind in den Druckschriften der jeweiligen Sondereinrichtungen behandelt.

3. Stativleuchten

Leitz-Stativleuchten sind Kombinationen unserer Niedervoltleuchten bzw. Lampenhäuser mit zwei eigens dafür entwickelten Stativen. Sie sind bestens für allgemeine Beleuchtungsaufgaben im Labor, für die Stereomikroskopie etc. geeignet.

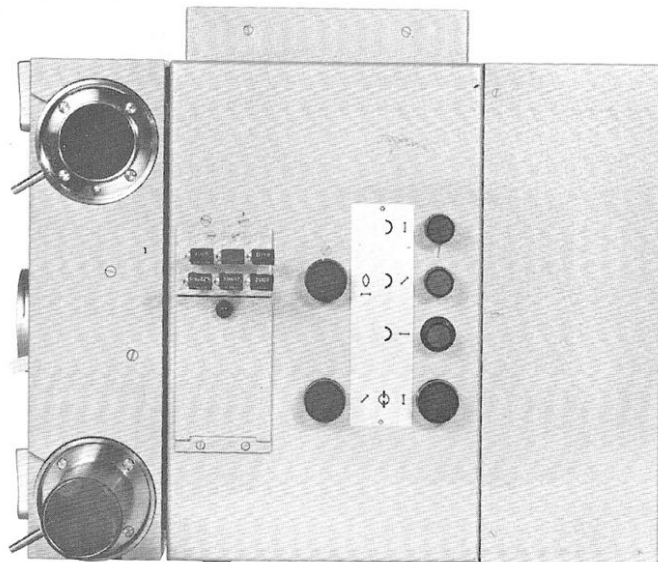


Abb. 83 Lampenhaus 500 mit Spiegelhaus 500

18653-514 R

Großes Stativ für Lampenhaus 100 Z und 250.
Entsprechend kräftig dimensionierter Fuß und stabile Säule.
Höhe 400 mm. Leuchte um 360° in der Vertikalen drehbar.

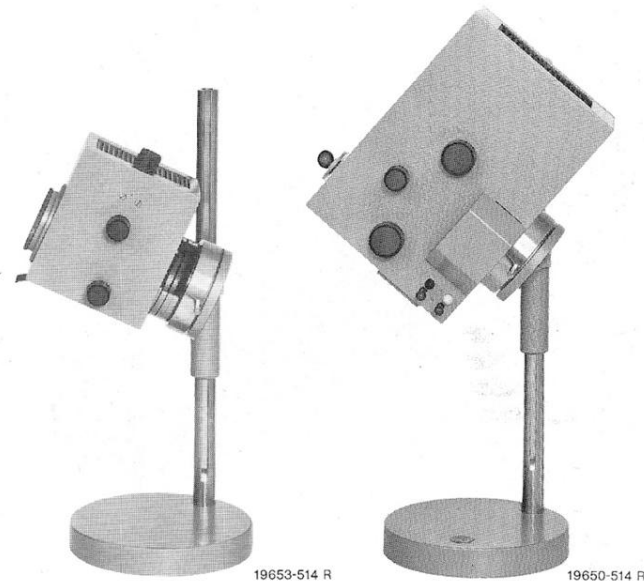
Stativleuchte 100 W

Hierzu gehören das große Stativ und das Lampenhaus 100 Z.

Zum Lampenhaus 100 Z können Halogen-Glühlampen 100 W,
Spektrallampen, Hg-Lampen 50 W und 100 W sowie Xe-Lam-
pen 75 W benutzt werden.

Stativleuchte 250 W

Sie besteht aus dem großen Stativ und dem Lampenhaus
250. Das Lampenhaus ist mit verstellbarem, zweilinsigem
Kollektor, Filtermagazin für 4 Filter und zentrierbarem
Spiegel ausgerüstet. Die Lampen sind in Höhe und Seite
justierbar. Es können Gasentladungslampen bis 250 W
benutzt werden.



Stativleuchte 100 W

Stativleuchte 250 W. Abb. 84a-d

Optik des Mikroskops

Beim Mikroskop unterscheidet man beleuchtende und abbildende Optik. Zur Beleuchtungsoptik gehören Kondensoren und Opakilluminatoren, die Beleuchtungsführung, wie Kollektor, Spiegel etc. Zur Abbildungsoptik zählen Objektive, Okulare und Tubuslinsensysteme. Hinzu kommen Deckgläser und Filter.

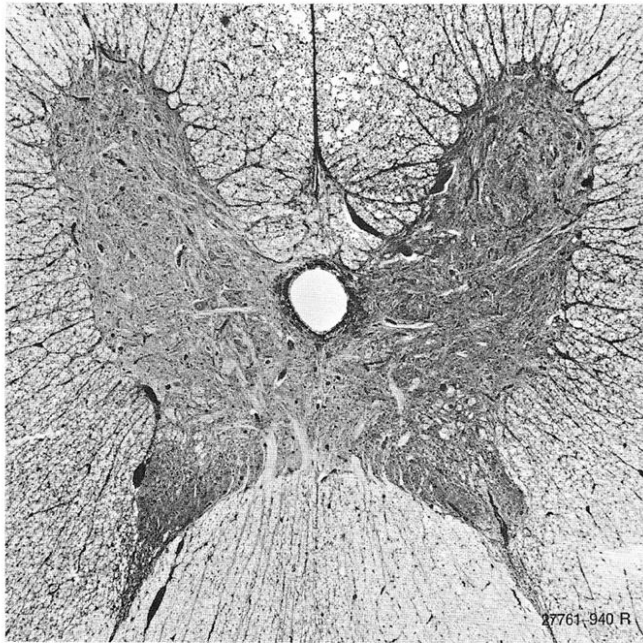


Abb. 85 Rückenmark, Mensch.
Durchlicht-Hellfeld.

Objektive

Im allgemeinen werden Objektive nach ihrem Korrektionszustand klassifiziert, wobei die Korrektion der Farbfehler und der Bildfeldwölbung in den Vordergrund tritt. Man unterscheidet also

Achromate

Fluoritsysteme und

Apochromate

Dazu kommen EF- (= Ebenes Feld) und Plan-Objektive, bei denen die Bildfeldwölbung korrigiert ist. Auch hier klassifiziert man nach Korrektion des Farbfehlers, so daß man z. B. von Plan-Achromaten oder Plan-Apochromaten spricht.

Achromate sind Objektive, bei denen die Schnittweiten von zwei Farben, meist Rot und Blau, zusammengelegt sind. Sie sind also im Bereich des Farbempfindlichkeitsmaximums des menschlichen Auges gut korrigiert.

Bei Fluoritsystemen ist das sekundäre Spektrum bereits teilweise beseitigt (angenäherte Korrektion von drei Farben). Bei Apochromaten ist die völlige Vereinigung für drei Spektralfarben erreicht.

Der Korrektionszustand, soweit es sich nicht um Achromate handelt, ist den Objektiven aufgraviert, desgleichen die Bezeichnung „PL“ oder „NPL“ für Plan-Objektive. Sie sind besonders für die Mikrophotographie geeignet.

Abb. 86

Planobjektive
der Serie NPL FLUOTAR



Weiterhin stehen auf den Objektivfassungen folgende Gravuren:

Maßstabzahl,

Apertur,

Tubuslänge

und Deckglasdicke.

Die Gravur der Deckglasdicke kann bei schwachen Systemen entfallen. Immersionssysteme sind zusätzlich durch einen schwarzen Ring gekennzeichnet.

Beispiel für eine vollständige Gravur:

160/0.17

PL APO OEL 100/1.32

Dabei bedeuten:

160 die Tubuslänge in mm

0.17 die vorgeschriebene Deckglasdicke in mm

PL Plan-Objektiv

APO Apochromat

OEL Ölimmersion

100 Abbildungsmaßstab

1.32 numerische Apertur (n. A.)

Abgleichlänge

Man versteht darunter bei unbedeckten Objekten die Entfernung Anschraubfläche des Objektivs bis Oberseite Objekt. Bei bedeckten Objekten reicht die Abgleichlänge bis zu dem durch die Objektbedeckung angehobenen Bild. Sie beträgt bei allen modernen Leitz-Objektiven 45 mm.

Leitz-Objektive gleicher Abgleichlänge können also am Revolver ohne wesentliche Änderung der Scharfeinstellung umgeschlagen werden.

Die Leitz Mikroskope HM-LUX 3, LABORLUX 11, LABORLUX 12 und DIALUX 20 sind für Tubuslänge 160 mm, die Leitz-Mikroskope ORTHOLUX 2 und ORTHOPLAN sind für Tubuslänge 170 mm konzipiert. Bei Objektiven mit einer Maßstabzahl von weniger als 16:1 muß unbedingt die Tubuslänge beachtet werden, da sonst die Objektive nicht mehr parfokal sind. Bei Maßstabzahlen über 16:1 können Objektive für Tubuslänge 160 mm an Mikroskopen der Tubuslänge 170 mm und umgekehrt verwendet werden.

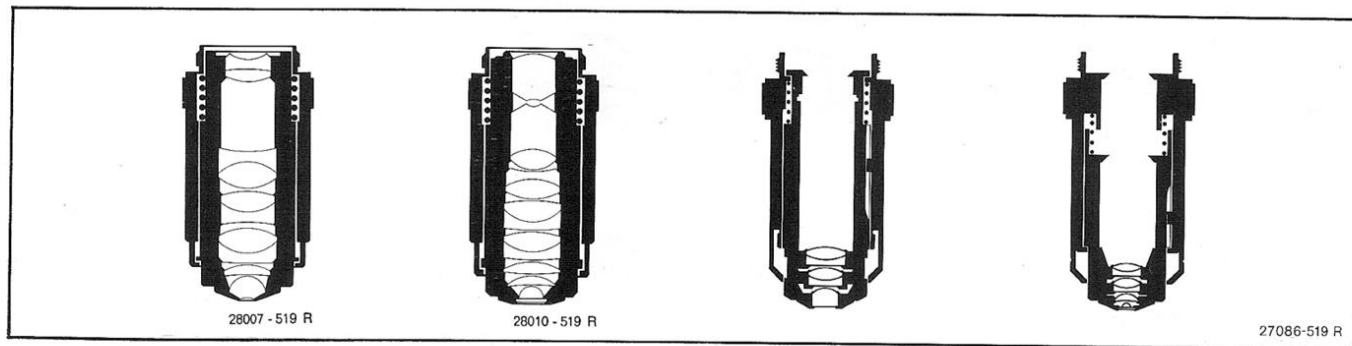


Abb. 87a-d Aufbau von Plan-Apochromaten und Achromaten

PL APO 40/0.75

PL APO OEL 100/1.32

40/0.65

OEL 100/1.30

Okulare

Mit dem Okular wird das vom Objektiv entworfene Zwischenbild betrachtet. Dabei wirkt das Okular exakt als Lupe. Zur Bezeichnung der Vergrößerung wird also das x-Zeichen graviert, z. B. 10x. Man unterscheidet verschiedene Typen.

PERIPLAN-Okulare

Mit ihnen werden der Astigmatismus und der besonders zum Rand auftretende Farbvergrößerungsfehler der Objektivs kompensiert und dem Auge ein über das ganze Feld farbsaumfreies Bild geboten. Die Okulare sind für Achromate, Fluoritsysteme und Apochromate geeignet. Für Objektivs mit geebnetem Feld sind die folgenden Okulare zweckmäßiger.

PERIPLAN-Großfeld-Okulare GF

Sie sind eine Weiterentwicklung in Richtung größerer Felder. Der Bildwinkel übersteigt bei den stärksten Vergrößerungen 50° . Sie sind für alle höher korrigierten Systeme einschließlich Plan-Objektivs geeignet, selbstverständlich auch für Achromate.

Alle diese Okulare haben den genormten Durchmesser 23,2 mm.

PERIPLAN-Großfeld-Okulare GW, 30 mm Ø

Diese Okulare sind speziell für das Großfeld-Mikroskop LEITZ ORTHOPLAN bestimmt. Sie haben 30 mm Durchmesser. Die Bildwinkel sind bereits bei den schwachen Vergrößerungen sehr groß.



Abb. 88a-d PERIPLAN-Großfeld-Okular
GF 23,2 mm Ø

PERIPLAN-Großfeld-Okulare
GW 30 mm Ø

PERIPLAN,
Brillenträger-Okular GW

Brillenträger-Okulare

Brillenträger-Okulare ermöglichen durch ihre weite Pupillenlage das Mikroskopieren mit Brille. Ihre Pupillenabstände betragen etwa 20 mm. Sie sind vom PERIPLAN-Typ, entweder GF für 23,2 mm oder GW für 30 mm Durchmesser.

Objektträger

Für Objektträger benutzt man farblose Plangläser, etwa 1,1 mm stark. Sie können bekantet oder unbekantet sein. Gebräuchliches Format ist 76 mm x 26 mm. Bei Dunkelfeld und Phasenkontrast achte man besonders auf kratzerfreie Objektträger. Lebende Objekte werden in Hohlgeschliffobjektträgern untersucht.

Deckgläser

Das Deckglas ist Bestandteil des abbildenden Systems, das für 0,17 mm Deckglasdicke korrigiert ist. Die Dicke ist bei Trokensystemen ab 0.40 Apertur umso genauer einzuhalten, je größer die Ansprüche und je höher die Apertur ist. Gebräuchliche Formate:

18 mm x 18 mm, 24 mm x 24 mm und 24 mm x 32 mm.

Kondensoren

Der Kondensator hat die Aufgabe, das Objektfeld mit den gewünschten Beleuchtungsaperturen auszuleuchten. Außerdem soll durch ihn die Leuchtfeldblende in das Objekt abgebildet werden. Für jede Beleuchtungsart muß im allgemeinen ein besonderer Kondensator benutzt werden, so daß man im Durchlicht Kondensoren für Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast und Fluoreszenz unterscheidet.



Abb. 89
System-Kondensator mit Unterteil und 6 Kondensorköpfen.

Kondensoren für Hellfeld

Leitz Hellfeld-Kondensoren der Reihe 600 bestehen aus einem einheitlichen Unterteil mit Beleuchtungslinse für schwache Vergrößerungen, der Aperturblende sowie auswechselbaren Kondensorköpfen verschiedener Korrektur, Schnittweite und Apertur. Der Kondensorkopf ist ausklappbar für den Gebrauch schwacher Objektive. Die Kondensoren sind mit Schlittenwechslung versehen und durch Zahntrieb in der Höhe verstellbar. Sie sind für eine im Stativ eingebaute Leuchtfeldblende gerechnet. Man unterscheidet Trocken- und Immersions-Kondensoren.

Die Apertur der Trocken-Kondensoren beträgt 0,90. Diese Apertur reicht für alle mikroskopischen Untersuchungen mit Trockensystemen und meistens auch mit Immersions-systemen aus. Nur in besonderen Fällen wird es erforderlich sein, die volle Öffnung eines Immersions-Objektivs auszuleuchten.

Hinsichtlich der optischen Korrektur sind die Anforderungen bei weitem nicht so hoch, wie man sie bei Objektiven gewöhnt ist. Beim einfachsten Typ, dem asphärischen Kondensator, nimmt man gewisse Farbfehler in Kauf. Unter Verwendung einer asphärischen Linse erreicht man jedoch eine ausreichende aplanatische Korrektur.

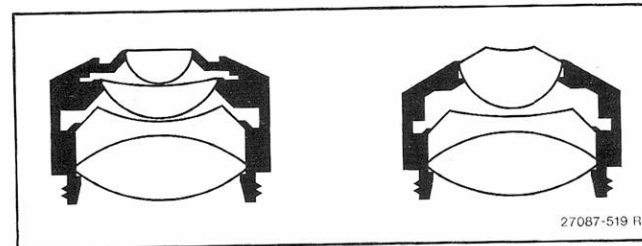


Abb. 90
Querschnitt durch zwei Kondensorköpfe: 003 und 002

Achromatische Kondensoren sind entsprechend höher korrigiert. Bei ihnen sind Farbfehler weitgehend beseitigt. Sie werden vorteilhaft mit höher korrigierten Objektiven, wie Fluoritsystemen und Apochromaten, benutzt, deren Vorteile dann erst voll zur Geltung kommen. Die aplanatische Korrektur ist höher als bei den asphärischen Kondensoren.

Kondensoren mit größeren Aperturen als 0.90 werden als Immersionskondensoren gerechnet. Man erreicht hier Aperturen bis 1,40. Sie sind achromatisch-aplanatisch korrigiert, am optischen Aufbau ist daher eine größere Zahl von Linsen beteiligt. Wegen dieses hohen Aufwandes sind sie dementsprechend teuer; sie werden vornehmlich für hochkorrigierte Ölimmersionen verwendet.

Für Untersuchungen in Kulturkammern, für sehr dicke Objekte oder für Mikromanipulatoren stehen Kondensorköpfe mit großen Schnittweiten zur Verfügung. Die Leuchtblende wird hierbei in einer entsprechenden Entfernung oberhalb der Tischfläche abgebildet. Es können Abstände von 4 bis 20 mm realisiert werden.

Alle diese Hellfeld-Kondensoren sind Systemkondensoren, die aus einem gemeinsamen Unterteil und gegeneinander austauschbaren Köpfen bestehen, so daß sich nach Belieben der jeweils gewünschte Kondensortyp mit einem Minimum an Aufwand verwirklichen läßt.

Übersichts-Kondensator

Er wird bei Leitz-Stativen nur in Verbindung mit dem Objektiv PL 1/0.04 benutzt. Das große Feld dieses Objektivs würde von den üblichen Kondensoren nicht ausgeleuchtet werden. Der Kondensator besitzt keine Aperturblende, sie ist im Objektiv selbst eingebaut.



19666-513 R

Abb. 91
Übersichts-Kondensator zum Objektiv PL 1/0.04.

Kondensoren SK und UK zum LEITZ DIALUX 20

Beiden Kondensortypen sind folgende Eigenschaften gemein:

Die „Köhler'sche Beleuchtung“ bleibt, einmal exakt eingestellt, beim Vergrößerungswechsel für alle Objektive (einschließlich des PL 1,6:1) ohne Höhenverstellung des Kondensors erhalten.

Für Dunkelfeld-Beobachtungen wird nur der Hellfeld-Kondensorkopf ausgetauscht; ein spezieller Dunkelfeldkondensorkopf ist damit nicht mehr erforderlich.

Die Zentriervorrichtung zum Ausrichten auf die optische Achse des Mikroskops ist in die Schwalbenschwanzgabel der Kondensoraufnahme eingebaut.

Die Leuchtfeldblende ist in den Stativfuß eingebaut und nach allen Richtungen verschiebbar, um eine schnelle und sehr genaue Feinkorrektur ihrer Stellung zum Kondensorkopf zu ermöglichen. Mit dem gleichen Handgriff ist ihr Durchmesser durch Drehen der Schiebefassung einstellbar.

Der achromatische Kondensorkopf für Hellfeldbeleuchtung hat die numerische Apertur 0.90. Sie erlaubt die uneingeschränkte Nutzung des Auflösungsvermögens der Trocken-Objektive NPL FLUOTAR und ist auch für alle Routine-Untersuchungen mit dem Immersionsobjektiv 100/1.32 OEL völlig ausreichend.

Für Untersuchungen an sehr feinen Strukturen und für mikrophotographische Aufnahmen, bei denen höchste Ansprüche an das Auflösungsvermögen des optischen Systems gestellt werden, steht der Immersions-Kondensorkopf, n.A. 1.32, zur Verfügung.

Für Dunkelfeld-Untersuchungen und die Fluoreszenz-Beobachtung bei Durchlichtanregung werden Dunkelfeld-Kondensorköpfe der num. Aperturen 0.80–0.95 oder 1.19–1.44 eingesetzt.

Der Austausch der einzelnen Kondensorköpfe untereinander geschieht schnell und mühelos am Wechselgewinde des ausklappbaren Kondensorkopf-Frontteils.

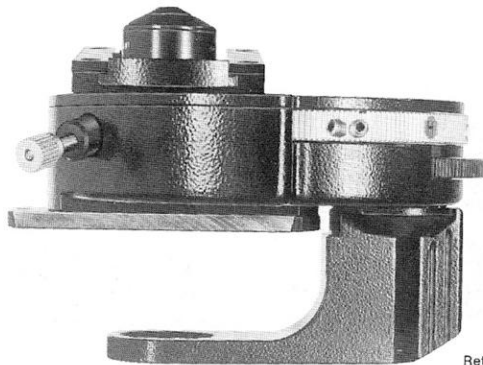
Für Beobachtungen von Objekten in flüssigem Milieu, deren Beleuchtung durch den Boden von Laborgefäßen (Petrischalen) oder Zählkammern erfolgen muß, sind Kondensorköpfe mit langen Schnittweiten verfügbar.

Abb. 92
Standardkondensorkopf SK



Der Universalkondensator UK ist vorwiegend für Arbeiten vorgesehen, bei denen ein Wechsel der optischen Beleuchtungs- und Kontrastverfahren erforderlich ist, um die im Präparat enthaltene Information so vollständig wie möglich zu nutzen. Der Kondensator UK besitzt alle Eigenschaften der Standardausführung SK. Er ist jedoch zusätzlich zur Aufnahme eines Lichtringrevolvers für die **Phasenkontrastbeleuchtung**, bzw. eines Prismenrevolvers für **Interferenzkontrast** eingerichtet. Diese Revolverscheiben sind jederzeit vom Benutzer untereinander austauschbar. Ebenso können die Lichtringe für die Phasenkontrastbeleuchtung individuell eingesetzt werden. Damit ist z. B. die Kombination normaler Hellfeld-Objektive mit Phasenkontrast-Optik in einer optischen Ausrüstung und der augenblickliche Wechsel von einem zum anderen Beobachtungsverfahren möglich.

Abb. 93
Universalkondensator UK



Ret.-Nr. 22655-513

Kondensoren für LEITZ HM-LUX 3, LABORLUX 11 und LABORLUX 12

Kondensoren für Schiebehülsen

Die Kondensoren sind auswechselbar und in der Schiebehülse vertikal verstellbar. Eine Sicherheitsarretierung verhindert ihr unbeabsichtigtes Lösen und Herausnehmen.

Kondensator Nr. 55

Der zweilinsige Kondensator Nr. 55 gehört zur Standard-Ausrüstung der Mikroskope LEITZ HM-LUX 3 und LABORLUX 11, n. A. 0.90. Er ist so berechnet und abgestimmt, daß er von der schwächsten bis zur stärksten Vergrößerung alle Objektfelder homogen ausleuchtet, ohne eine zusätzliche Frontlinse ein- oder ausschalten zu müssen. Seine Irisblende dient zur optimalen Einstellung von Bildkontrast und Tiefenschärfe (axiale Auflösung).

Höchste lichtmikroskopische Leistung kann mit einem Ölimmersions-Objektiv und durch Verwendung der Immersionskappe n.A. 1.25 OEL für den Kondensator erreicht werden.

Für die Mikroskopie im Dunkelfeld mit den Objektiven 10:1, 25:1 und 40:1 wird eine Einsteckblende geliefert.

Beobachtungen im Phasenkontrast können mit entsprechenden Objektiven und Einsteckblenden zum Hellfeldkondensator durchgeführt werden.

Es stehen drei Blenden mit den Lichtringen 1, 2 und 3 zur Verfügung.

Dunkelfeld-Kondensator Nr. 89

Für spezielle Arbeiten im Dunkelfeld ist der Trocken-Dunkelfeldkondensator Nr. 89 D 0.80 vorgesehen und zwar für Objektive bis zu einer numerischen Apertur von 0.70.

Kondensoren für Schlittenwechslung

Sie sind auswechselbar und durch Zahntrieb in der Höhe einstellbar.

Kondensator LK

Er ist für die Mikroskope LEITZ LABORLUX 11 und LABORLUX 12 vorgesehen. Zu diesem Kondensator sind wechselbare, ein- und ausklappbare Kondensorköpfe zur homogenen Ausleuchtung aller Objektivaperturen lieferbar.

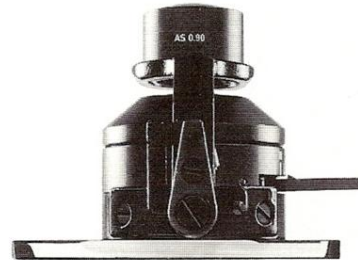
Zur Untersuchung an feinsten Strukturen mit dem Immersionsobjektiv 100/1.32 OEL, bei denen höchste Ansprüche an das Auflösungsvermögen des optischen Systems gestellt werden, steht der Immersions-Kondensorkopf APL OEL 1.32 zur Verfügung.

Für Dunkelfeldbeleuchtung können die Kondensorköpfe D 0.80–0.95 S 1.1 oder D 1.19–1.44 OEL S 1.1 eingeschraubt werden.

Für Phasenkontrastbeleuchtung kann der Kondensator LK mit Einsteckblenden mit Lichtring 1 oder 2 ausgestattet werden.

Abb. 94 a–b
Kondensator LK mit Einsteckblende

Ret.-Nr. 24 132–513



Ret.-Nr. 24 149–519



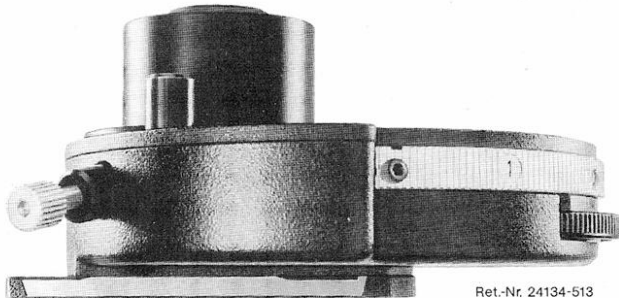
Universalkondensator UKL

mit festem Kondensorkopf für: Phasenkontrast – Hellfeld – Dunkelfeld, A 0.90.

Die eingebauten Lichtringe 1, 2, 3 für Phasenkontrast und die Zentralblende für Dunkelfeld sind zentrierbar.

Dieser Kondensator ist besonders für Arbeiten vorgesehen, bei denen ein schneller Wechsel der Beleuchtungsverfahren erforderlich ist, um alle im Objekt vorhandenen Informationen sichtbar zu machen.

Abb. 95
Universalkondensator UKL



Ret.-Nr. 24134-513

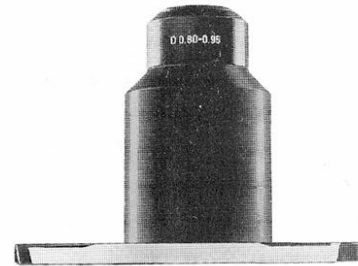
Dunkelfeldkondensoren

Mit wenigen Handgriffen ist das Mikroskop für die Dunkelfeld-Untersuchung umgerüstet. Es stehen zwei Kondensoren zur Auswahl:

Trocken-Dunkelfeldkondensator Nr. 94 D 0.80–0.95 S 1.1 für Objektiv bis 40:1.

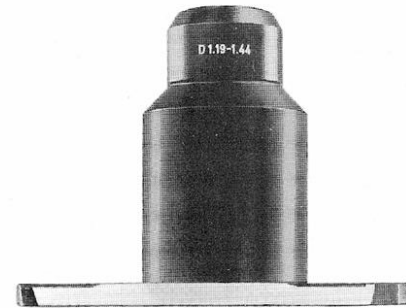
Immersions-Dunkelfeldkondensator Nr. 92 D 1.19–1.44 OEL S 1.1 für Objektiv ab einer Apertur von 0.85.

Abb. 96
Dunkelfeldkondensator Nr. 94
D 0.80–0.95



Ret.-Nr. 24130-513

Abb. 97
Dunkelfeldkondensator Nr. 92
D 1.19–1.44 OEL



Ret.-Nr. 24131-513

Filter

In der Mikroskopie werden vorzugsweise Absorptionsfilter oder Interferenzfilter benutzt. Absorptionsfilter sind gefärbte oder farblose Gläser, die für bestimmte Spektralbereiche mehr oder minder durchlässig sind. Die Übergänge von Durchlässigkeit zur Absorption bzw. umgekehrt sind stetig, es gibt also keine Filter mit Sprungstellen. Sehr steil verlaufen die Übergänge bei den Kantenfiltern. Doch gibt es diese Steilkante nur zum kurzwelligen Ende des Spektrums.

Bei Interferenzfiltern beruht die Filterwirkung nicht auf Absorption, sondern auf Interferenz der an den Grenzflächen der dünnen Schichten reflektierten Wellen. Die Dünnschichten werden im Hochvakuum auf Glas oder Quarzgläser aufgedampft. Man unterscheidet hier die großen Gruppen Interferenzlinienfilter und Interferenzbandfilter.

Ordnet man die Filter in der Mikroskopie nach ihrer Anwendung, so werden dort vorzugsweise folgende Filtertypen benutzt:

Kontrastfilter
Wärmeschutzfilter
UV-Sperrfilter
Konversionsfilter
Graufilter.

Die Durchlässigkeit wird durch Kurven dargestellt. Im allgemeinen trägt man den Transmissionsgrad in Abhängigkeit von der Lichtwellenlänge auf.

Kontrastfilter (Selektionsfilter)

Durch geeignete Filter können bei gefärbten mikroskopischen Präparaten bestimmte Objektdetails durch Kontraststeigerung herausgehoben oder unterdrückt werden. Man benutzt hierzu:

1. Farbfilter
2. Interferenz-Verlaufsfilter.

Die spektrale Durchlässigkeit dieses langgestreckten Filters reicht vom langwelligen Rot über das ganze sichtbare Spektrum bis zum kurzwelligen Violett; jeder Abschnitt kann als Monochromatfilter verwendet werden. Hauptanwendungsgebiet ist die Mikrophotometrie.

Wärmeschutzfilter (Selektionsfilter)

Wärmestrahlung ist auf die Dauer für jedes mikroskopische Präparat schädlich. Man muß sie daher aus der Lichtquelle ausfiltern. Hierfür werden teils beschichtete, teils unbeschichtete Glasfilter benutzt.

2 mm KG1 für Glühlampen
Calflex B1/K2 für Gasentladungslampen mit größerem UV-Anteil.

UV-absorbierende Filter (Selektionsfilter)

Ein hoher UV-Anteil im Emissionsspektrum ist sowohl für das Auge als auch für das Präparat schädlich. Man verwendet die Kantenfilter

K 380 Für Gasentladungslampen mit hohem UV-Anteil.
K 420

Filter für die Fluoreszenzmikroskopie und Polarisationsmikroskopie siehe Sonderlisten.

Konversionsfilter

Sie werden vorwiegend für die Mikrophotographie auf Tageslicht-Colorfilmen benutzt und sollen die Farbtemperatur der Glühlampe der des Farbfilmes anpassen.

CB 6 bewirkt Konversion von 2800° auf 3400° K bzw. 2600° auf 3100° K.

CB 12 bewirkt Konversion von 3400° K in Tageslicht
CB 16,5 bewirkt Konversion von 2850° K in Tageslicht

Graufilter

Graufilter sind teils in Masse gefärbte Glasfilter, teils Reflexionsfilter, teils Kombinationen von beiden. Sie bewirken eine absolut gleichmäßige Lichtschwächung. Vorsicht bei Kombinationen von Reflexionsfiltern. Es entstehen unerwünschte Reflexionen.

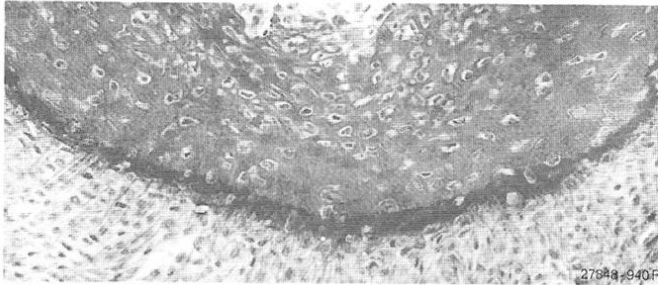
Für visuelle Zwecke werden 2 Graufilter mit der Durchlässigkeit 5% bzw. 2% geliefert. Sie sind für das Mikroskopieren mit Gasentladungslampen gedacht.

Für mikrophotographische Zwecke steht ein Satz Graufilter zur Verfügung. Hiermit ist es möglich, das Licht in Stufen nahezu beliebig weit zu schwächen.

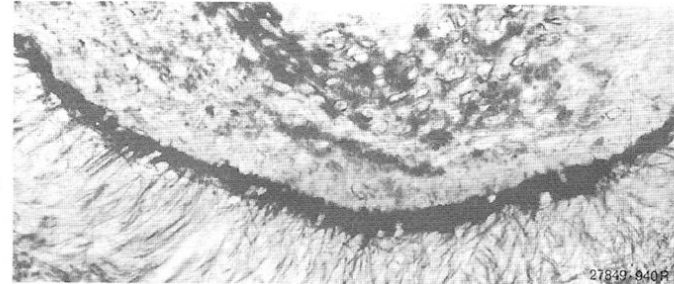
Filtervergleich

Aufnahmen eines histologischen Schnittes ohne und mit verschiedenen Filtern.

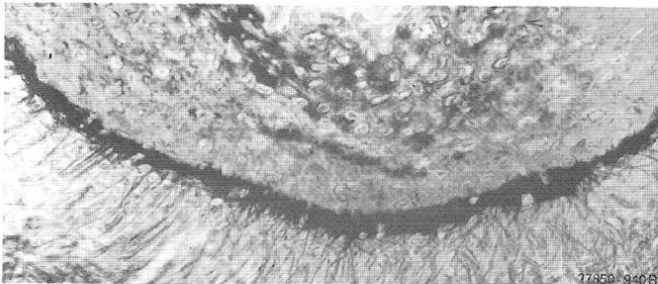
Abb. 98



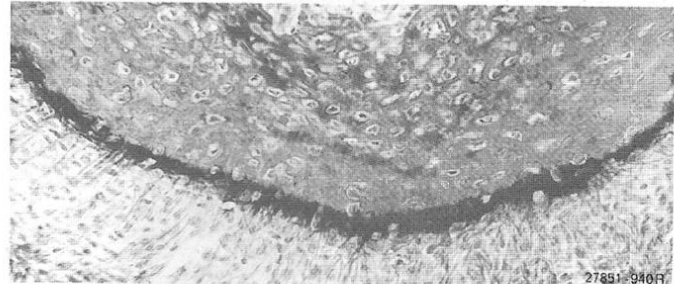
1. **Ohne Filter.** Die Farben werden mit ihrem äquivalenten Grauwert wiedergegeben. Die Wiedergabe hängt nur von der Sensibilisierung des Films ab.



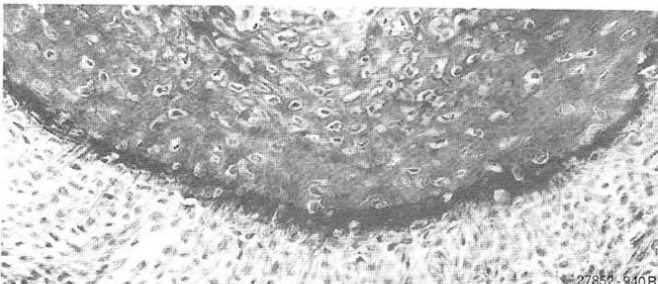
2. **Rotfilter.** Die geschlossenen roten Partien erscheinen durchweg stark aufgehellt, desgleichen die roten Zellkerne. Blau wird dagegen sehr dunkel wiedergegeben.



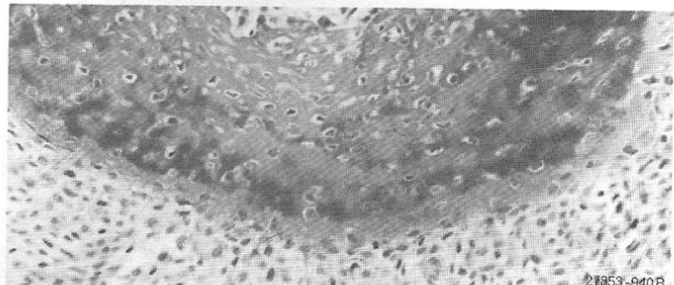
3. **Orangefilter.** Die roten Partien treten nicht mehr so hell in Erscheinung; blau wird dagegen noch sehr dunkel wiedergegeben.



4. **Gelbfilter.** Rot tritt immer deutlicher hervor. Die blauen Partien sind dazu recht gut kontrastiert.

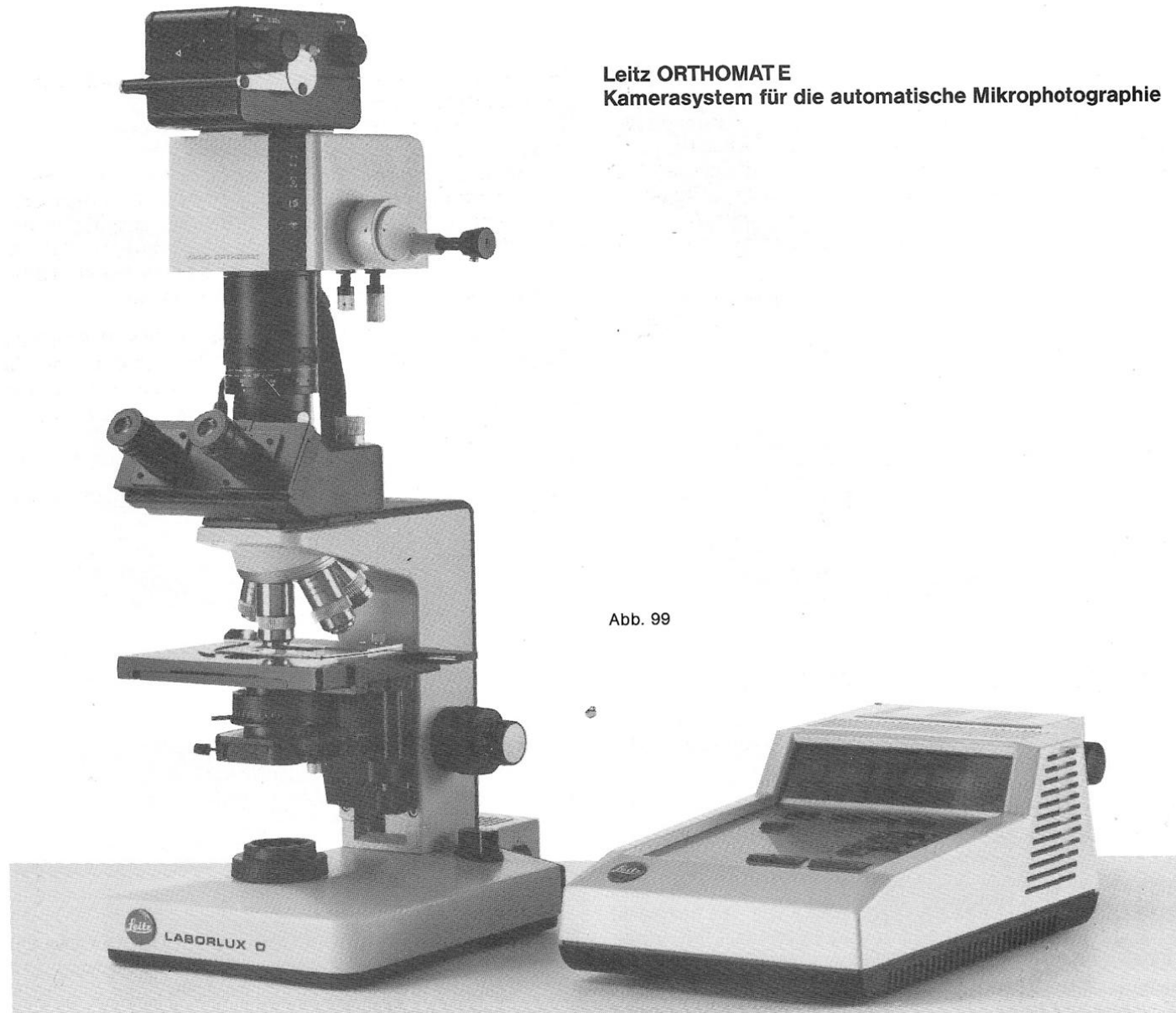


5. **Grünfilter.** Die roten Partien sind jetzt optimal zu erkennen. Das Blau ist aufgehellt und steht zum Rot in optimalem Kontrast.



6. **Blaufilter.** Hier sind die blauen Strukturen völlig unterdrückt. Sie sind vom Rot praktisch nicht zu trennen.

Einrichtungen für die Mikrophotographie



Leitz ORTHOMATE
Kamerasystem für die automatische Mikrophotographie

Abb. 99

Wie ihr Vorgänger, der Leitz VARIO-ORTHOMAT 2, ist die neue Photoautomatik eine Aufsatzkamera.

Deshalb kann man den Leitz ORTHOMAT E an allen modernen Leitz-Mikroskopen mit wechselbarem Tubus benutzen.

Dadurch wird jedes dieser Instrumente zum vollwertigen Photomikroskop mit allen Vorteilen der bewährten Leitz-Modulbauweise. Diese sind besonders in größeren Laboratorien von Bedeutung, in denen mehrere Leitz-Mikroskope im Gebrauch sind:

- wo immer das Kamera-System benötigt wird, es ist sofort einsatzbereit;
- im Falle einer notwendigen Überprüfung des Mikroskops oder der Kamera durch den Kundendienst, kann der eine oder der andere Teil der Ausrüstung weiter benutzt werden.
- Selbstverständlich sind an dem zum Leitz ORTHOMATE gehörenden speziellen Beobachtungs- und Phototubus auch bereits früher bezogene Kamera-Aufsätze von Leitz und Wild verwendbar.

Unterschiedliche Kamera-Aufsätze ermöglichen die Nutzung aller gebräuchlichen Aufnahmeformate von 24 mm x 36 mm bis 9 cm x 12 cm (4" x 5"). *)

Entsprechend den im mikroskopischen Bild vorliegenden Licht- und Kontrastverhältnissen kann die Messung der Belichtungszeit entweder integrierend über das ganze im jeweiligen Format befindliche Feld oder, durch den ortsvariablen Meßfleck, an jedem beliebigen Detail vorgenommen werden. Darüber hinaus sind die folgenden Funktionen des Leitz ORTHOMATE voll automatisiert:

die Messung der Belichtungszeit
der Verschuß

der Filmtransport bei Filmen 24 mm x 36 mm

die Anpassung der Belichtungszeit an das jeweilige Aufnahmeformat

die Anpassung der Formatbegrenzung an die Vergrößerung des Aufnahme-Okulars

die Kompensation des Schwarzschild-Effektes

die Lichtfalle gegen Fremdlichteinfluß

Aufnahmen in vorwählbaren Zeitabständen.

Das Einstellen des Bildes erfolgt an einem speziellen binokularen Phototubus (FSA) mit Rückspiegeleinrichtung für die Begrenzungsmarken der verschiedenen Formate, so daß die Wahl des Bildausschnittes und die Schärfeneinstellung die mikroskopische Beobachtung nicht unterbrechen.

Zwischen 9 DIN bis 38 DIN und 6 ASA bis 5000 ASA ist jede Filmempfindlichkeit einstellbar. Der als Meßelement dienende Photovervielfacher gewährleistet exakte Belichtung auch bei schwierigen Lichtverhältnissen (Dunkelfeld, Fluoreszenz).

*) Auch die Kamera-Aufsätze des WILD-MPS-Systems können hier verwendet werden.

Abb. 100
WILD MPS



Mikrophotographie für moderne Dokumentation

Die aktuelle Methode zur authentischen Dokumentation in Wissenschaft und Technik ist die Mikrophotographie. Die verschiedenen Wild-Mikrophotosysteme lassen sich universell für Aufnahmen mit Leitz-Mikroskopen und Wild-Stereomikroskopen einsetzen. Die Kamerakörper werden mit monokularen oder trinokularen Phototuben auf die Instrumente aufgesetzt. Mit den austauschbaren Kameraaufsätzen können alle gebräuchlichen Filmmaterialien und Formate genutzt werden: Kleinbildfilm 24 mm x 36 mm, Packfilm 3 1/4 in x 4 1/4 in, Platten- und Rollfilm 6 cm x 9 cm, 4,5 cm x 6 cm, 6 cm x 6 cm, Planfilm 4 in x 5 in, 9 cm x 12 cm, Polaroid-Packfilm 3 1/4 in x 4 1/4 in und Polaroid Planfilm 4 in x 5 in, 9 cm x 12 cm.

Photoautomat WILD MPS 55/51

Der Photoautomat WILD MPS 55/51 bietet ein Höchstmaß an Komfort, Flexibilität und Wirtschaftlichkeit durch vollautomatische Belichtung und individuelle Beeinflußbarkeit der photographischen Aufnahme.

Die individuelle Vorwahl gestattet den Einsatz vielfältigster Mikroskopkopier-, Beleuchtungs- und Aufnahmemethoden. Variable Faktoren wie Filmempfindlichkeit von 5 bis 43 DIN/2,5 bis 16.000 ASA, Dunkelfeld, Kamerafaktor, Schwarzschild und Kompensation der Belichtungszeit werden vom Photoautomat berücksichtigt. Mehrfachbelichtung, permanente Anzeige der Belichtungszeit und des Ablaufes der Belichtung sind die Besonderheit dieses Systems der Spitzenklasse.

Semiphotomat WILD MPS 15/11

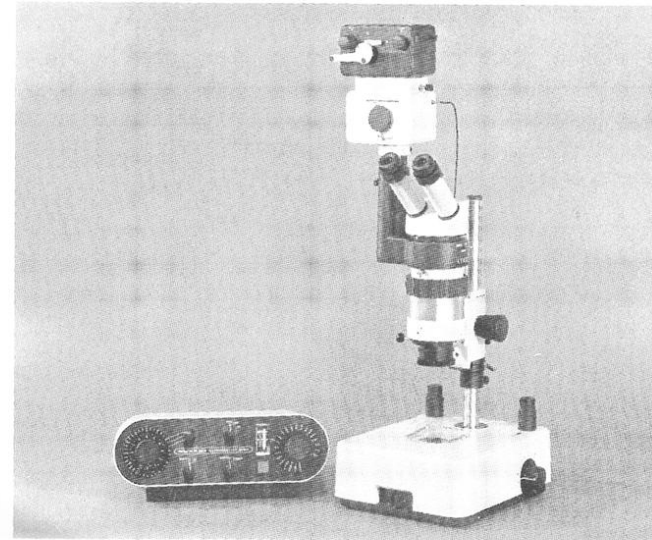
Die Mikrokamera WILD MPS 11 ist eine äußerst einfach zu bedienende Ausrüstung, die ohne Belichtungsmesser bei der Sofortbildphotographie und bei Belichtungen unter gleichen Aufnahmebedingungen hervorragende Dienste leistet.

Die Mikrokamera MPS 11 kann mit dem Semiphotomat WILD MPS 15 zu einem leistungsfähigen System ausgebaut werden. Der Semiphotomat ermittelt die Belichtungszeit, die auf Inte-

gralmessung mit Mittenbetonung basiert, mit Berücksichtigung der variablen Faktoren wie Schwarzschild, Filmmaterial, Kamerafaktor, Dunkelfeld, individueller Belichtungsfaktor. Die erforderliche Belichtungszeit ist bis zu 4 Stunden ablesbar und wird am mechanischen Verschluß der Kamera manuell eingestellt und ausgelöst.

Die Wild-Mikrophotosysteme sind in detaillierten Prospekten beschrieben. Wertvolle Anregungen enthält die Broschüre „Praktische Makro- und Mikrophotographie“.

Abb. 101



Einrichtungen für Zeichnen, Diskussion und Projektion

Zeichnen

Bei den Zeicheneinrichtungen für die Mikroskopie unterscheidet man zwei Gerätetypen:

Geräte, die

- a) nach dem Projektionsprinzip und
- b) nach dem Mischbildverfahren arbeiten.

Beim Projektionszeichnen wird das mikroskopische Bild mittels eines Spiegels über dem Okular auf eine Zeichenfläche projiziert und dort nachgezeichnet. Man benötigt deshalb starke Lichtquellen und muß auch manchmal den Raum abdunkeln. Das Projektionsbild selbst ist sehr kontrastreich.

Für das Zeichnen nach dem Mischbildverfahren kann man die Leitz-Zeicheneinrichtung oder einen Zeichenaufsatz verwenden. In beiden Fällen wird das mikroskopische Bild und das des Zeichenblattes durch Spiegel und Teilerwürfel übereinander gespiegelt. Der Benutzer sieht beim Einblick in das Okular beide Bilder und den Zeichenstift gleichzeitig und hat die Konturen nur nachzuzeichnen. Der Kontrast tendiert dabei nach weich. Als Lichtquellen sind die normalen, im Stativ eingebauten Leuchten völlig ausreichend.

Die Zeicheneinrichtung bietet variable Vergrößerung des Zeichenbildes und den Vorzug monokularer oder binokularer Tuben; beim Zeichenaufsatz hat das Zeichenbild dagegen eine feste Vergrößerung und die Betrachtungsweise ist auf monokular beschränkt.



Abb. 102

Zeicheneinrichtung für Mischbildverfahren

Diskussion

Hierfür sind Einrichtungen entwickelt worden, welche zwei oder mehreren Beobachtern die gleichzeitige Betrachtung des mikroskopischen Bildes erlauben.

Diskussions-Einrichtung für 3 Personen

Bei der Leitz-Diskussions-Einrichtung wird eine Brücke mit drei Tuben auf das Stativ gesetzt. Die Beobachter sehen das Bild, wie sie es im Mikroskop gewohnt sind. Sie können es auch sofort photographieren. In jedem Fall genügen die normalen Mikroskopierleuchten.

Diskussions-Einrichtung für 7 Personen

Durch Aufeinandersetzen von drei Diskussionseinrichtungen mit den entsprechenden Tuben können insgesamt 7 Personen gleichzeitig das mikroskopische Bild betrachten.

Asymmetrischer Diskussionstubus

Seine Ausladung kann wahlweise nach links oder rechts vom Mikroskop erfolgen. Eine verstellbare mechanische Abstützung gestattet die individuelle Anpassung an die jeweilige Stativgröße.

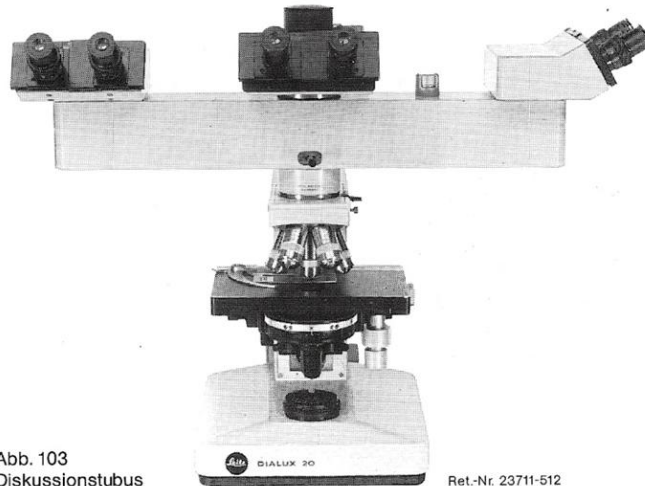
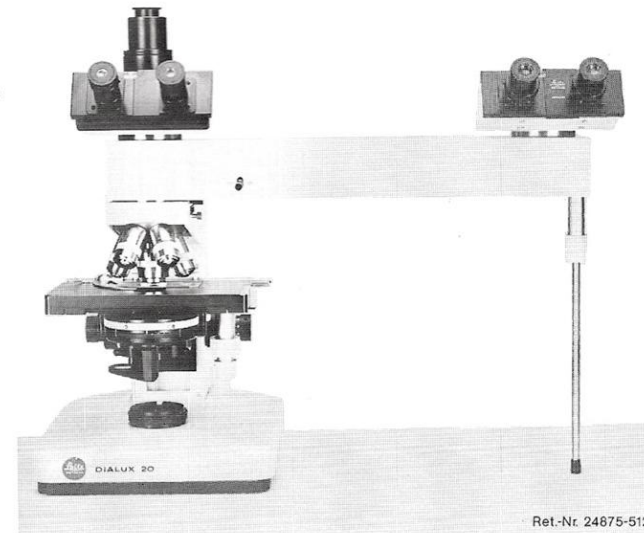


Abb. 103
Diskussionstubus

Ret.-Nr. 23711-512

Abb. 104



Ret.-Nr. 24875-512

Projektionsmikroskop LEITZ Neo-PROMAR

Der LEITZ Neo-PROMAR dient der Projektion mikroskopischer Präparate im durchfallenden Licht.

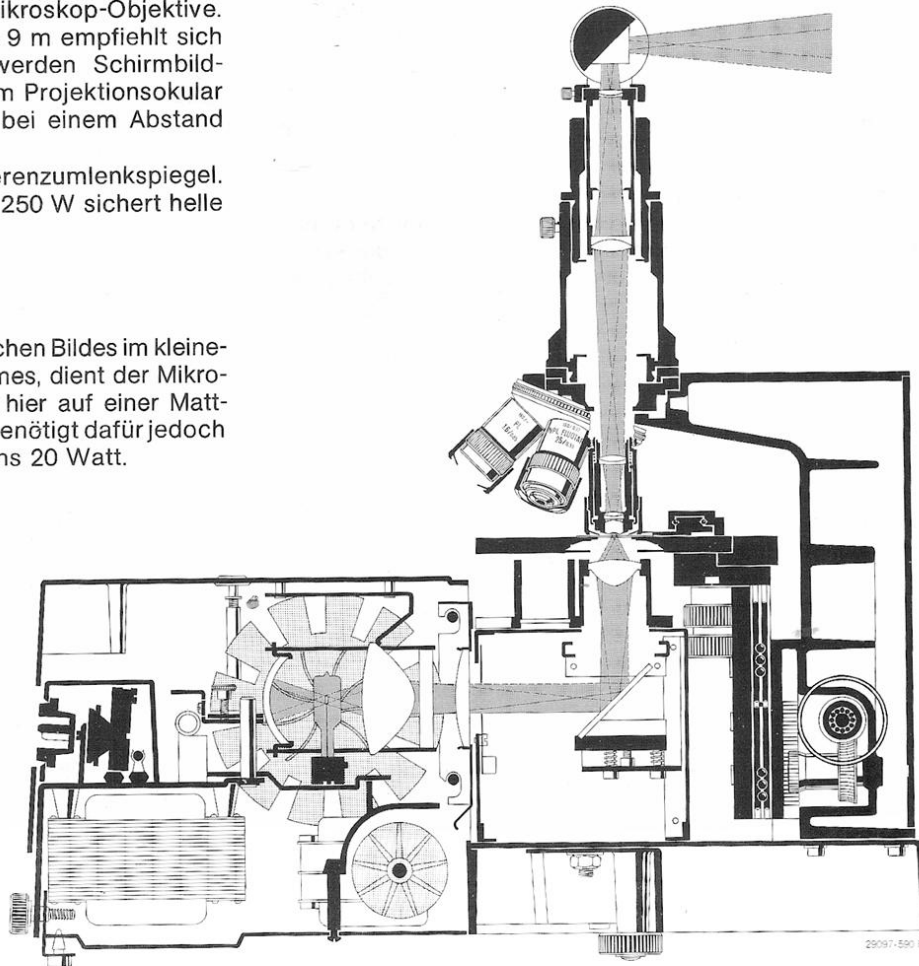
Sein Vergrößerungsbereich ist in vier Stufen einstellbar. Maximaler Abbildungsmaßstab ist 3000:1 bei voller Nutzung des Auflösungsvermögens der Mikroskop-Objektive. Für Projektionsentfernungen bis etwa 9 m empfiehlt sich das Projektionsokular 2,5x. Damit werden Schirmbild-durchmesser bis 2 m erreicht. Mit dem Projektionsokular 4x ergibt sich die gleiche Bildgröße bei einem Abstand von ca. 5,7 m.

Präparatschutz durch Kaltlichtinterferenzumlenkspiegel. Die Halogen-Glühlampenbeleuchtung 250 W sichert helle und kontrastreiche Bilder.

Projektionsaufsatz

Für die Demonstration des mikroskopischen Bildes im kleineren Kreis, ohne Abdunkelung des Raumes, dient der Mikro-Projektionsaufsatz. Das Bild erscheint hier auf einer Mattscheibe (155 mm Durchmesser). Man benötigt dafür jedoch Niedervolt-Lichtquellen von mindestens 20 Watt.

Abb. 105
Schnitt durch das Projektionsmikroskop
LEITZ Neo-PROMAR mit Strahlengang



Sondergeräte und weitere Mikroskope

Umgekehrtes Durchlicht-Mikroskop LEITZ LABOVERT

Das LABOVERT ist ein umgekehrtes Mikroskop mit den Merkmalen eines modernen, aufrechten Leitz-Mikroskopes. Deshalb bietet es alle ergonomischen Vorzüge, die man von diesem gewöhnt ist.

Somit ist das LABOVERT das Mikroskop der Wahl für die Beobachtung und Kontrolle von immunologischen Reaktionen in Mikrotiterplatten oder Mikrotiterplatten, z. B. HLA, Zell- oder Gewebewachstum in Petri-Schalen, Kulturflaschen, Gewebekulturplatten u. ä. in der Biotechnik, Genetik oder Gentechnik, Plankton und anderer Kleinlebewesen in Planktonkammern oder anderen Laborgefäßen, pharmakologischen Prozessen, chemischen Reaktionen, Trinkwasser oder Schmutzwasser, Bestandteilen verunreinigter Luft, Nahrungsmitteln (Halb- und Fertigprodukte), Schadstoffen oder Schädlingen in Flüssigkeiten und ähnlichen Untersuchungsaufgaben.

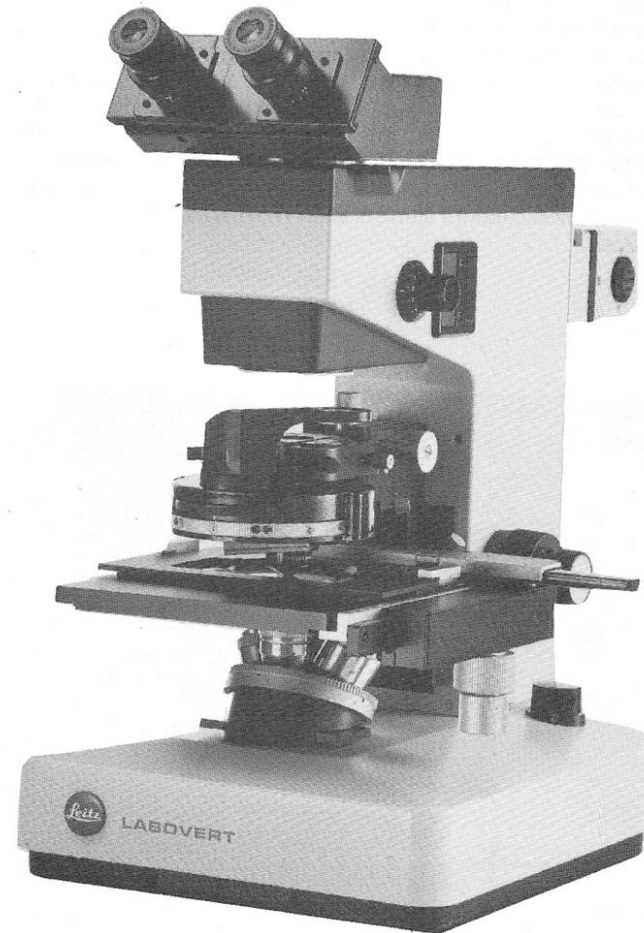


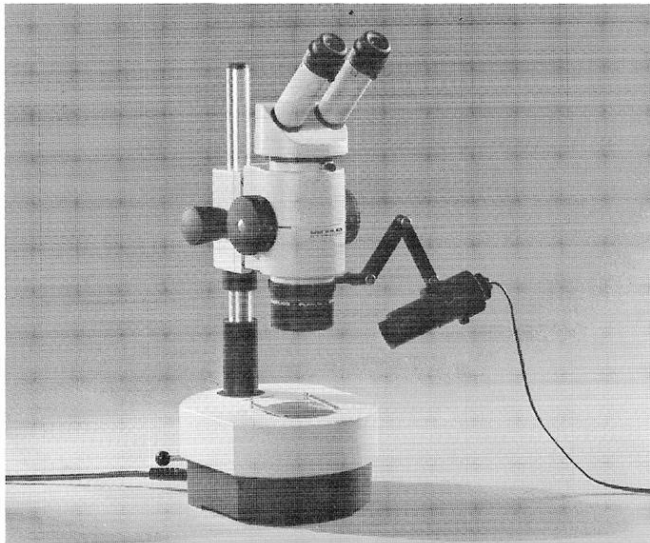
Abb. 106 Mikroskop LEITZ LABOVERT

Stereomikroskope zur dreidimensionalen Betrachtung plastischer Objekte

Mit Wild Stereomikroskopen sieht der Benutzer dreidimensionale Objekte durch zwei getrennte Strahlengänge plastisch. Dieses räumliche, aufrechte und seitenrichtige Bild und der große Arbeitsabstand ermöglichen während der Beobachtung Eingriffe am Objekt.

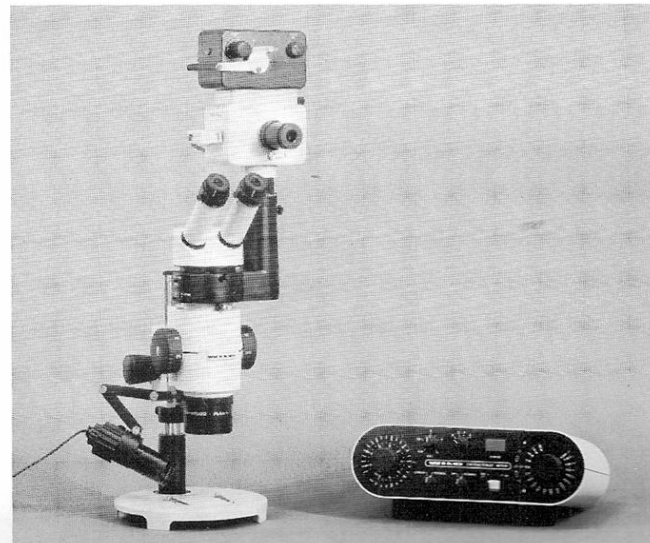
Für jeden Einsatzbereich und jede Beobachtungsmethode steht ein umfangreiches Instrumentarium vom einfachen Stereomikroskop bis zum hochentwickelten Zoom-Stereomikroskop zur Verfügung. Erstklassige optische und mechanische Qualität, optimaler Beobachtungs- und Arbeitskomfort, einfache Bedienung und vielseitige Ausbaufähigkeit durch zahlreiches Zubehör sind bei allen Wild Instrumenten gewährleistet.

Abb. 107



Jedes Wild Stereomikroskop ist in detaillierten Prospekten mit verschiedenen Beleuchtungen, passenden Tischen, Ausrüstungen für die Mikrophotographie und besonderen Zusatzausrüstungen abgebildet und ausführlich beschrieben.

Abb. 108
Stereomikroskop WILD M8



Wild-Makroskope

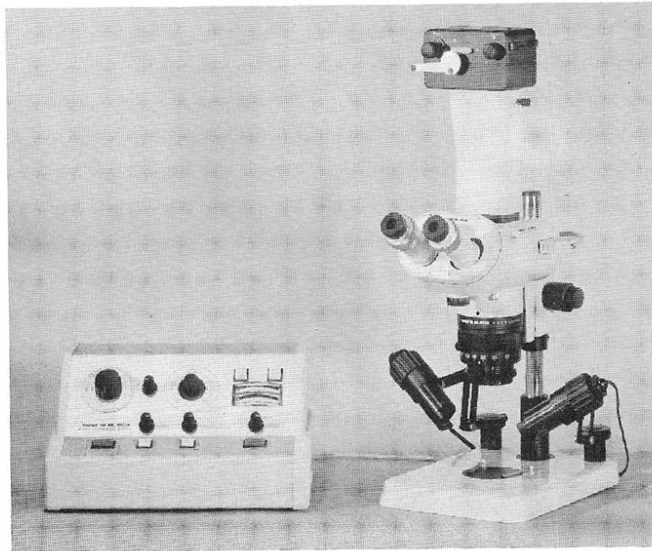
Das **Epimakroskop WILD M 450** wurde auf die Anforderungen der Industrie und der Technik abgestimmt. Koaxiales Auflicht, drehbare $\lambda/4$ -Platte, Irisblende und koaxialer Grob-Feintrieb sind wertvolle Hilfsmittel bei der Herstellung und Kontrolle in Elektronik und Materialprüfung.

Das **Photomakroskop WILD M 400** ist ein Spitzeninstrument zur Beobachtung und Photographie im Makrobereich. Kombiniert mit dem Photoautomat MPS 55 oder MPS 45 liefert dieses kompakte Aufnahmesystem exakt belichtete Aufnahmen. Alle, bei den Wild Mikrophotosystemen aufgezählten Filmmaterialien und Formate finden auch beim Photomakroskop Verwendung.

Am Makrozoom-Objektiv läßt sich der Abbildungsmaßstab stufenlos wählen. Scharfstellung und Ausschnitt werden bequem im binokularen Schrätgtubus kontrolliert. Die Belichtung erfolgt vollautomatisch und garantiert auch bei unterschiedlichen Beleuchtungs- und Aufnahmemethoden erstklassige Makrophotos.

Für beide Instrumente stehen zahlreiche Stative, Beleuchtungen und Tische im Baukastensystem zur Verfügung.

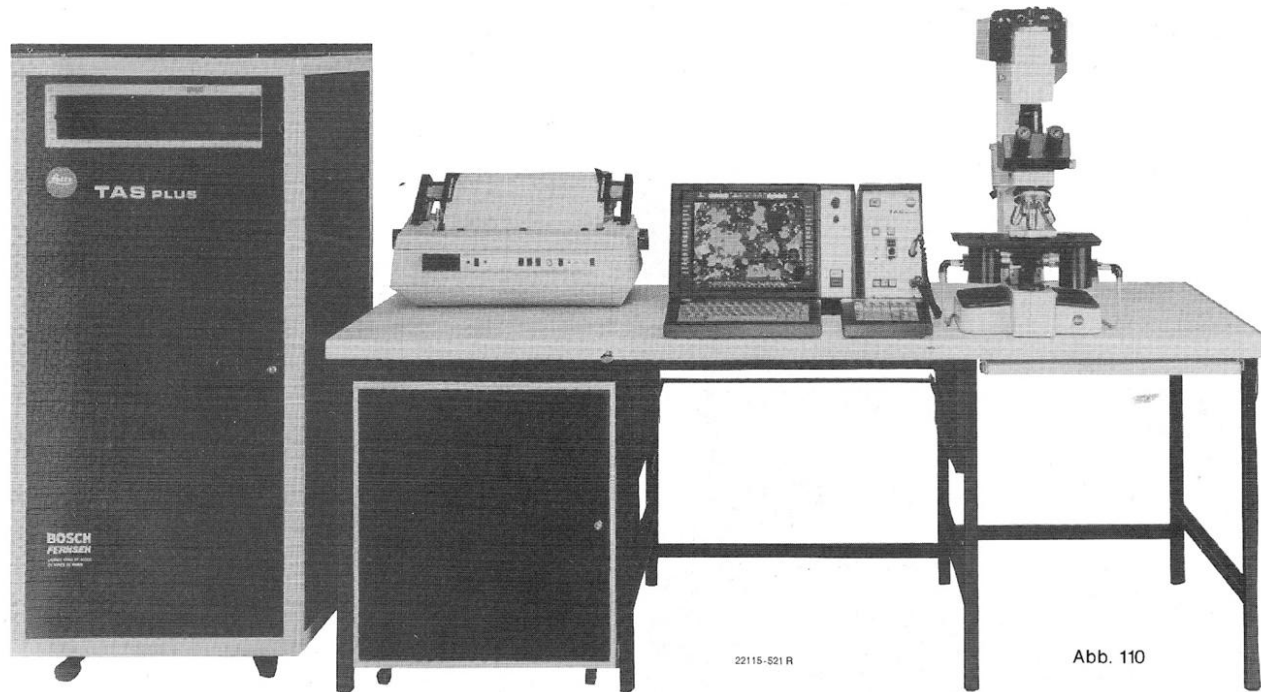
Abb. 109



Textur-Analyse-System LEITZ TAS plus

Das Textur-Analyse-System TAS plus ist eine optisch-elektronische Einrichtung zur automatischen quantitativen Bildanalyse in Mikroskopie und Makroskopie. Das zu messende Bild wird von einer Fernsehkamera aufgenommen, das zur Messung ausgewählte Bildelement ist dabei auf einem Monitor sichtbar. Eine elektronische Aufbereitungs- und Analysezentrale wertet die Bildsignale nach den modernen Methoden der mathematischen Morphologie aus. Die Meßwerte können digital angezeigt, ausgedruckt und sofort in einen Elektronenrechner eingegeben werden.

*Licence I.R.S.ID. et Ecole des Mines de Paris; internationale Patente.



LEITZ ASM 68 K

Halbautomatisches Bildanalyse-System

Das LEITZ ASM 68 K dient zum rationellen Auswerten von Bildern aus den unterschiedlichsten Anwendungsgebieten.

Bei dieser Art der halbautomatischen Bildanalyse werden an das Abbildungsverfahren keine besonderen Anforderungen gestellt. Vor allem ungünstige Kontrastverhältnisse sowie Präparationsschwierigkeiten rechtfertigen den Einsatz des LEITZ ASM 68 K.

Da es sich beim LEITZ ASM 68 K um ein „software-orientiertes“ System handelt, kann der Benutzer für sein spezielles Meßproblem selbst entscheiden, welchen Analysenweg es zur Lösung desselben beschreiten will.

Abb. 111



Ref.-Nr. 23643-521

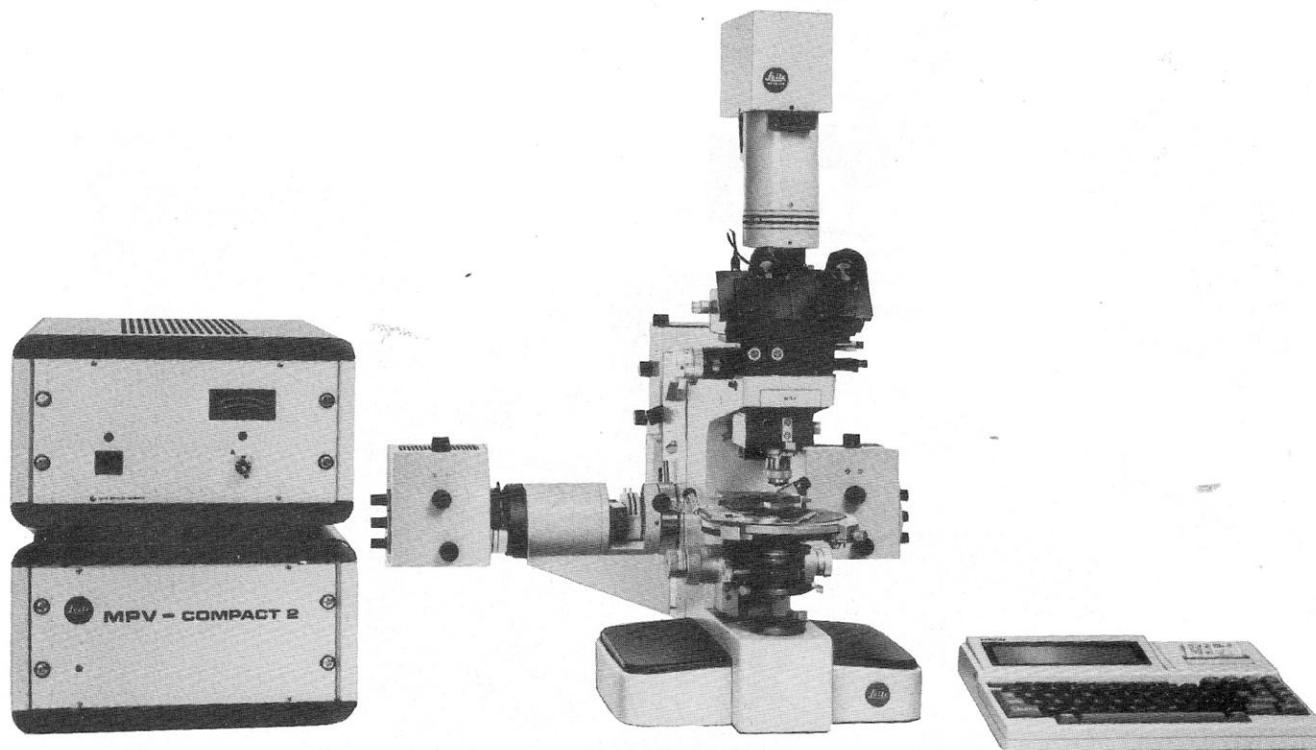
Mikroskop-Photometer LEITZ MPV compact 2

Das LEITZ MPV compact 2 wurde speziell für den Routinebetrieb entwickelt. Als handliche Einheit kann es an jedem modernen Leitz-Mikroskop verwendet werden, ohne die

anderen mikroskopischen Untersuchungsmöglichkeiten einzuschränken.

Der Meßvorgang verläuft automatisch: Knopfdruck genügt, und Transmission/Absorption/Extinktion oder Fluoreszenzintensität werden digital angezeigt.

Für die spektrale Zerlegung stehen Interferenzfilter zur Verfügung. Auch die ständig an Bedeutung gewinnenden Fluoreszenz-Messungen sind mit dem LEITZ MPV compact problemlos durchzuführen.

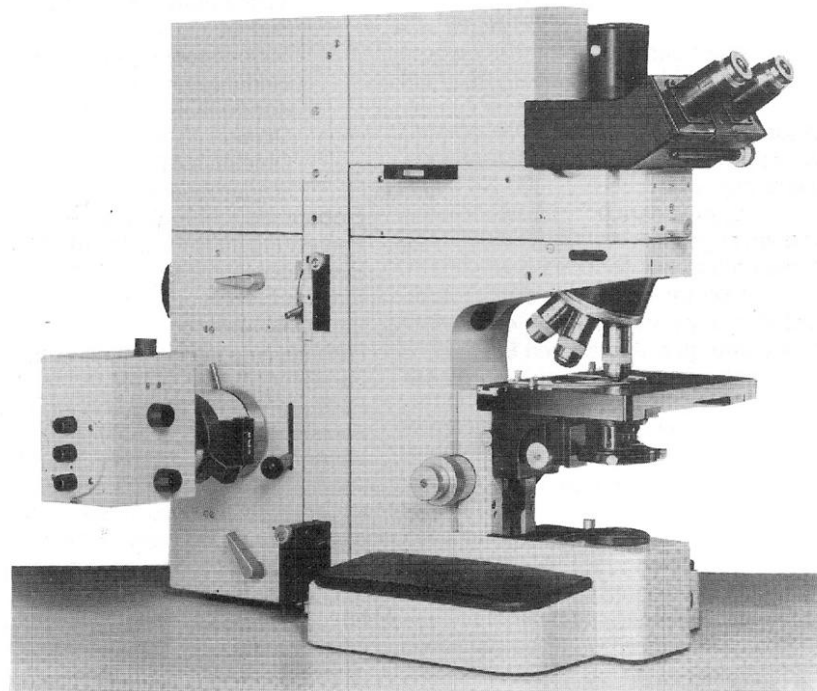


Mikroskop-Photometer LEITZ MPV 3

Zentraler optischer Baustein des Meßsystems ist das universelle Forschungsmikroskop LEITZ ORTHOPLAN, an dem alle Funktionselemente für die Mikro-Photometrie problemlos austauschbar sind. Damit ermöglicht das LEITZ MPV 3 die sichere, präzise und rationelle Lösung aller Aufgaben der Lichtmessung an mikroskopischen Strukturen. Es bietet großen Bedienungskomfort auch bei komplexen Untersuchungen.

Die motorische Bilddrehung orientiert Strukturen beliebiger Vorzugsrichtungen zur Lage der Meßblende. Damit erweist sich das Drehprisma als ein wesentlicher Vorteil gegenüber dem bisher dafür benutzten drehbaren Objektisch.

Abb. 113



Stichwortverzeichnis

- Abbe'sche Theorie 21
Abbe'sche Zahl 25
Abbildungsstrahlengang 7, 9, 10
Amplitudenobjekt 19-21, 28
Ansatzleuchten 80
Apertur, numerische
 des Objektivs 13, 14, 37, 38
Aperturblende im Kondensator
 Einstellung 28, 65
 Funktion 9, 10
 Gebrauch 29
Aperturiris im Objektiv 15, 43, 45
Arbeitsabstand 31
A.S.M. Halbautomatisches
 Bildanalyse-system 109
Auflösungsvermögen
 des Auges 16
 des Objektivs 13-17, 37, 38
 einer Photoschicht 17
Augenlinse des Okulars 8
Ausleuchtung 59, 63
Austrittspupille
 des Okulars 9
Balgenlänge 61
Beleuchtung bei
 Mikrophotographie 59
Beleuchtungsapertur 10, 14, 42
Beleuchtungseinrichtungen 80
Beleuchtungsstrahlengang 9, 10, 22, 46
Belichtungsmesser 101, 107
Belichtungszeit 56, 57
Beugung 11-18, 21, 22
Beugungsscheibchen 16, 17
Bezugsehweite 16
Bildentstehung, wellenoptisch
 im Hellfeld 12
 im Dunkelfeld 18
 im Phasenkontrast 21
 im Interferenzkontrast 24
Bildhelligkeit 14, 31, 58
Bildkontrast 28, 29, 65
Bildwölbung 52
Binokulartubus 32, 72
Binophototubus 32, 60, 73
Brechzahl 25
Brennebene 9, 22, 24
Colorfilm 57
Deckglas 38, 39, 89
DIALUX 20, 69, 70
DIAVERT 105
Diskussionseinrichtung 102, 103
Dispersion 25
Dünnschichtfilme 56
Dunkelfeld
 Beleuchtung 18, 45, 46
 Bild 44
 Bildentstehung 18
 Einhängeblende 45
 Kondensator 18, 45, 46
 Objekte 18, 44
 Objektive 45
 Präparate 45
Einbaubeleuchtungen 81
Einbettungsmittel 38, 41, 48
Einhängeblende 45
Einknopfbedienung 79
Einstellfernrohr 60
Farbfilm 57
Farbfilter 56, 57
Farbtemperatur 57, 58
Fehlsichtigkeit 27, 32
Feintrieb 77-79
Feldlinse 8
Filter 56-58, 96, 97
flaues Bild 63, 64
förderliche Vergrößerung 16, 17, 36,
 37, 65
Fokussierung 60
FSA-Tubus 32, 60, 73
Gitterobjekt 11-13
Gradation 56
Graufilter 58, 96
Grenzapertur, innere 45
Grob- und Feintrieb 77, 78, 79
Grünfilter 56
Halo-Effekt 48
Hellfeld 28
Helligkeit des Bildes 14, 31, 58
Hilfsfernrohr 60
HM-LUX 68
immergieren 42
Immersionskondensator 42, 45, 46
Immersionsobjektive 41, 46
Immersionsöl 41
innere Grenzapertur 45
Interferenz 12, 13, 21, 24
Interferenzkontrast 23, 24
Irisblende im Objektiv 15, 43, 45
Klapplinse 31, 43
Kleinbildkameras 101
Köhler'sche Beleuchtung 8, 28, 45
Kollektor 9, 33
Kondensator 92-95
 für Dunkelfeld 18, 45, 46
 für Immersion 42, 45, 46
 für Phasenkontrast 22
 für Übersicht 91
 Funktion 9, 29
 Handhabung 34
 Köpfe 90, 91
konjugierte Ebenen 9
Konversionsfilter 58, 93
Korrektionsfassung 40
Kunstlichtfarbfilm 57
LABORLUX 11 68
LABORLUX 12 68
Längenmessung,
 mikroskopisch 49-51
Lampe 58, 62
Lampenhäuser 82-84

- Leuchte 9, 80, 84, 85
- Leuchtfeldblende
 - Funktion 9, 10
- Gebrauch 30, 31, 59
- Lichtquelle 9, 80, 84, 85
- Makroskope M450, M400 107
- Mikrometerokular 49
- Mikrometerwert 49, 50
- Mikroprojektion 104
- Mikroskop
 - Aufbewahrung 27
 - Bestandteile 70
 - Stativreihe 69
 - Strahlengang 7, 9, 10, 22
 - umgekehrtes 105
- Mikroskopbeleuchtung 8-10, 28, 45
- Mikroskopieraum 27
- mikroskopische Längenmessung 49-51
 - MPS 100, 101
 - MPV compact 110
- Mikroskop-Photometer MPV 3 111
- Mouches volantes 66
- Neo-PROMAR 104
- Neutral-Graufilter 58
- Objekte
 - für Dunkelfeld 18, 44
 - für Hellfeld 19-21, 28
 - für Interferenzkontrast 23
 - für Phasenkontrast 19-21, 47
- Objektiv
 - für Dunkelfeld 45, 46
 - für Immersion 41, 46
 - für Phasenkontrast 22
 - Funktion 6, 7
 - Aufschrift 87
 - Klassifizierung 86, 87
 - mit Irisblende 15, 43, 45
 - mit Korrektionsfassung 40
 - Reinigung 63, 64
 - schwache Vergrößerung 43
- Trockensysteme 38-40
- Objektmicrometer 49
- Objekttische 75-77
- Objektträger 89
- Okular
 - Einstellung 27, 32
 - für Brillenträger 27
 - Funktion 7, 8
 - Gebrauch 36, 37
 - Klassifizierung 88, 89
 - mit Formatbegrenzung 60, 61
 - mit Mikrometer 49, 50
- Okularmikrometer 49, 50
- orthochromatisch 55
- ORTHOLUX 2 69
- ORTHOPLAN 10, 69
- panchromatisch 55, 56
- Phasenkontrast
 - Bildentstehung 21
 - Halo-Effekt 48
 - Kondensor 22
 - negativer 22
 - Objekte 19-21, 47
 - Objektiv 22
 - Phasenverschiebung 20, 21
 - positiver
 - Präparate 47, 48
 - Strahlengang 22
 - Theorie 19-22
- Phasenring 22
- Präparate
 - Einbettung 38
 - Einstellung 30, 65, 66
 - für Dunkelfeld 45
 - für Mikrophoto 59
 - für Phasenkontrast 47, 48
- Projektionsaufsatz 104
- Reinigung der Optik 64
- Revolver 74
- Schraubenmikrometerokular 51
- Schwache Vergrößerung 43
- Schwarzschild-Effekt 57
- Sensibilisierung 55
- Spektrallinien 25
- Spiegelhäuser 83
- Stativleuchten 84, 85
- Stativreihe 69
- Stereomikroskop M8 106
- Strahlengang
 - bei Dunkelfeld 18, 46
 - bei Interferenzkontrast 24
 - bei Phasenkontrast 22
 - im Mikroskop 10
 - verflochtener 9
 - zweistufige Vergrößerung 7
- Systemkondensor 90, 91
- Tageslichtfarbfilm 57
- Textur-Analysesystem
 - LEITZ-T.A.S. 108
- Tiefenschärfe 29, 60, 61
- Trockenobjektive 38-40
- Tubus 32, 60, 72, 73
- Tubuslinsen 74
- Übersichtskondensor 43, 91
- Übersichtsobjektiv 43
- Umgekehrtes Mikroskop 105
- Umkehrfilm 57
- VARIO-ORTHOMAT 98
- Variotubus 73
- verflochtener Strahlengang 8, 9
- Vergrößerung 61
- Wellenlänge des Lichtes 25
- Wellenoptik 12, 18, 21, 24
- Wollaston-Prisma 23, 24
- Zeicheneinrichtung 102
- Zentrieren der Lampe 33
- Zerstreuungskreis beim
 - Feinkornfilm 17
- zweistufige Abbildung 6
- Zwischenbild 7

Bestell-Nummern der Ausgaben in
deutsch englisch
923 063 923 064

Ernst Leitz Wetzlar GmbH
Postfach 20 20, D-6330 Wetzlar,
Telefon (0 64 41) 29-0, Telex 4 83 849 leiz d,
Telefax 0 64 41/ 29 33 99

® = registriertes Warenzeichen
Änderungen in Konstruktion und Ausführung vorbehalten.

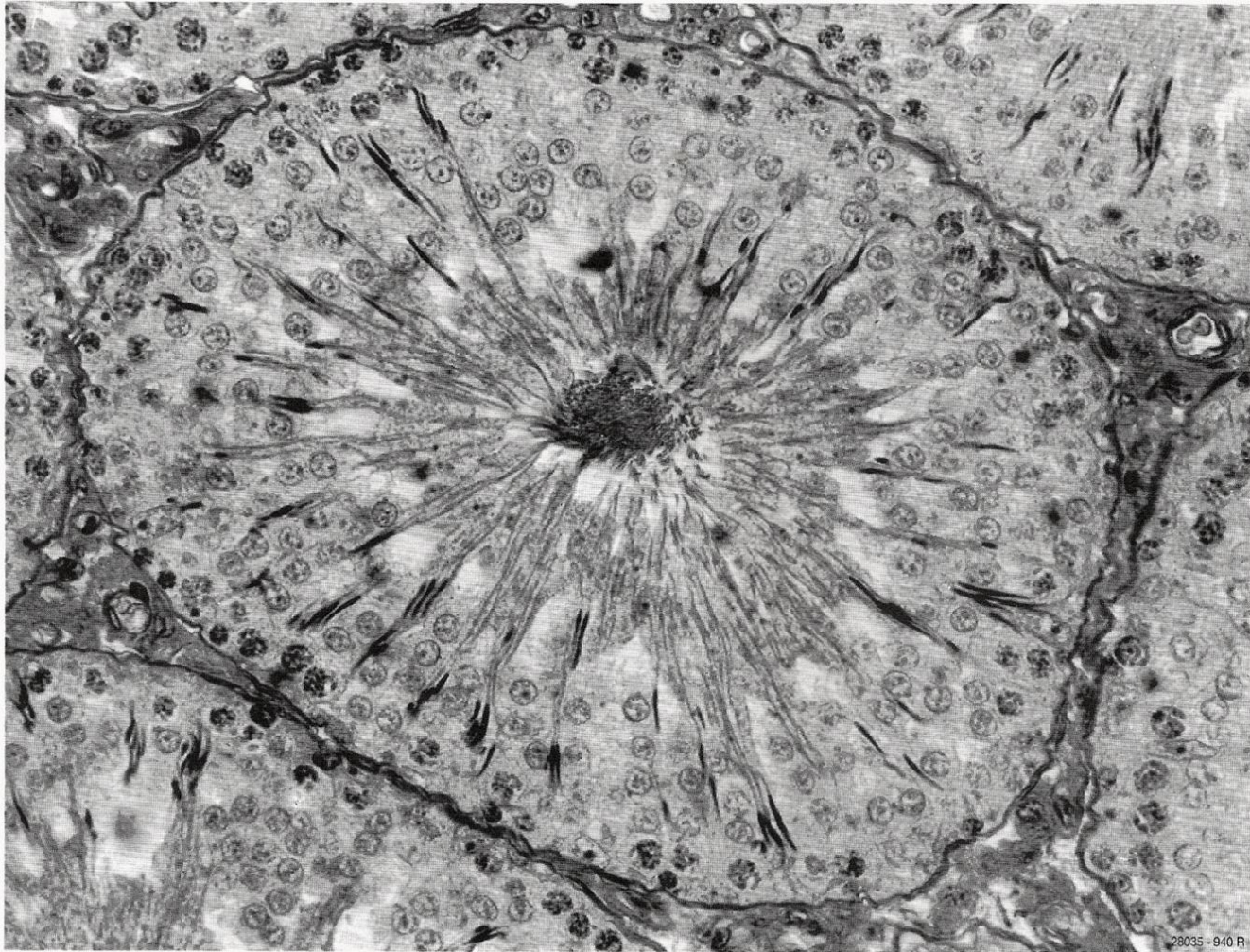
Sach-Nr. 512-069

Printed in West Germany

XI/88/GX/w.



Markenzeichen
weltbekannter Produkte
aus dem
Wild Leitz Konzern



Rattenhoden, PL APO 40/0.75,
Abb. Maßstab 550 : 1

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	5	I Theorie	
		Die zweistufige Abbildung des Mikroskops	6
		Erste Vergrößerungsstufe, zweite Vergrößerungsstufe, verflochtener Strahlengang, Köhlersches Beleuchtungsprinzip.	
		Die mikroskopische Abbildung wellenoptisch gesehen	11
		Die Auflösung wellenoptisch gesehen. Die Apertur.	13
		Förderliche Vergrößerung bei visueller Betrachtung	16
		Förderliche Vergrößerung bei Mikrophotographie .	17
		Dunkelfeld-Mikroskopie	18
		Phasenkontrast-Mikroskopie	19
		Amplituden-Objekte, Phasen-Objekte im Hellfeld, Phasen-Objekte im Phasenkontrast, das Phasenkontrast-Mikroskop	
		Interferenzkontrast-Mikroskopie, Grundprinzip und Funktion	23
		Lichtbrechung und Dispersion	25

Abbildung Titelseite:
Beugungsbilder eines schachbrettartigen Flächengitters (siehe auch Abb. 6 a).
Die Beugungsbilder sind über die ganze hintere Brennebene des Objektivs verteilt. In der Mitte liegt das farblose Beugungsbild 0.-Ordnung. Um dieses Zentralbild herum gruppieren sich die Beugungsbilder höherer Ordnungen, deren Positionen je nach Farbe etwas verschoben sind. Da längerwelliges Licht grundsätzlich stärker gebeugt wird, sind die roten Beugungsbilder nach außen verschoben.

II Anwendungstechnischer Teil	
Allgemeine Hinweise	27
Mikroskopieren im Hellfeld	28
Aufbau und Funktion der Beleuchtung	
Gebrauch der Aperturblende, der Leuchtfeldblende, Einstellen des Präparates.	
Einstellen des Binokulartubus S und des Binokular-Phototubus FSA	32
Zentrieren der Lampe	33
Handhabung des Kondensors	34
Übergang zu höherer Vergrößerung. Richtige Objektiv-Okular-Kombination	36
Das richtige Deckglas bei Trockensystemen	38
Trockenobjektive ohne Korrektionsfassung	40
Trockenobjektive mit Korrektionsfassung	
Das Arbeiten mit stärksten Vergrößerungen – Immersionsobjektive	41
Arbeiten mit schwachen Vergrößerungen	43
Mikroskopieren im Dunkelfeld	44
Zubehör zur Dunkelfeld-Mikroskopie, einige Forderungen an Objektträger, Präparat, Deckglas, Beleuchtung	45
Mikroskopieren im Phasenkontrast	47
Der Einfluß der Objektstärke, Halo-Effekt, Einfluß des Einschlußmittels	
Längenmessungen unter dem Mikroskop	49
Einige praktische Hinweise	
Mikrophotographie	52
Mikroskop, Beleuchtung und Optik. Welches Kameraformat?	
Filme, Belichtungszeit und Filter	55
I Schwarzweiß	
II Farbe	57
Die Mikroaufnahme	59
Präparate, Einstellen der Beleuchtung, Einstellen des mikroskopischen Bildes, Gebrauch des Hilfsfernrohrs, Tiefenschärfe, Bestimmung der Vergrößerung, Lampen für die Mikrophotographie	
Die häufigsten Fehler beim Mikroskopieren	63

III Gerätetechnischer Teil	
Das Leitz-Mikroskop-Programm	68
Allgemeine Hinweise	69
Aufbau eines Durchlicht-Mikroskops	70
Mikroskoptuben	72
Tubus-Linsensysteme und Objektivrevolver	74
Objekttische	75
Funktion eines Planetengetriebes, Funktionen der Einknopfbedienung	79
Beleuchtungseinrichtungen	80
1. Stativgebundene Einbau-Beleuchtungen	
2. Nicht stativgebundene Lampenhäuser	
3. Stativleuchten	84
Objektive, Okulare, Objektträger, Deckgläser	86
Kondensoren	90
Filter	96
Einrichtungen für die Mikrophotographie	98
Leitz ORTHOMATE, WILD MPS 55/51, WILD MPS 15/11, Belichtungsmesser, Einrichtungen für Zeichnen, Diskussion und Projektion	99
Sondergeräte und weitere Mikroskope	105
WILD M8 Stereomikroskop	106
WILD M450 und M400 Makroskope	107
Leitz TAS plus	108
Leitz ASM 68 K	109
Leitz MPV compact 2	110
Alphabetisches Stichwort-Verzeichnis	112

Das Mikroskop und seine Anwendung

Das Mikroskop ist zu einem ebenso vielseitigen wie unentbehrlichen Arbeitsgerät geworden. Nicht nur der Naturwissenschaftler und der Mediziner, sondern auch weite Kreise der Industrie und des Handels bedienen sich heute mikroskopischer Untersuchungsmethoden. Diese ausgedehnte Anwendung hat es mit sich gebracht, daß das Mikroskop nicht mehr allein von geschulten Mikroskopikern benutzt wird, sondern in zunehmendem Maße auch von technischen Hilfskräften, die noch keine gründliche Erfahrung auf dem Gebiet der Mikroskopie besitzen. In diesem Fall soll die vorliegende Schrift Helfer und Berater sein.

Um die Darstellung möglichst straff und übersichtlich zu halten, wurde das Stoffgebiet in drei Teile aufgegliedert:

I Theorie

II Anwendungstechnischer Teil

III Gerätetechnischer Teil

Alle drei Teile sind selbständige Abschnitte. Man kann also, wenn es ausschließlich um die praktische Arbeit geht, sofort mit dem anwendungstechnischen Teil beginnen. Dieser Teil ist so aufgebaut, daß der Benutzer das Mikroskop sachgerecht bedienen lernt und Schritt für Schritt mit seiner Anwendung in den klassischen Disziplinen Hellfeld, Dunkelfeld und Phasenkontrast vertraut wird. Wenn es die Zeit erlaubt, sollte man sich später aber doch mit den theoretischen Zusammenhängen befassen. Man wird dabei gewahr werden, daß die dargebotene Theorie recht schnell zu verstehen ist, und daß sie eine gute Hilfe für ein vertieftes Verständnis des Mikroskops und seiner Anwendung ist.

Der gerätetechnische Teil beschreibt Aufbau und Funktion eines typischen Leitz-Durchlicht-Mikroskops und das standardmäßige Zubehör der Durchlicht-Mikroskopie. Als ein Wegweiser durch das Leitz-Mikroskop-Programm soll er dem Benutzer bei der Auswahl und Zusammenstellung der für seine Zwecke am besten geeigneten Ausrüstung eine Hilfe sein.

Für die Optik gibt es eine gesonderte Druckschrift: „Abbildende und beleuchtende Optik des Mikroskops“.

Dr. Hans Determann

Friedrich Lepusch