

Handbuch der mikroskop. Technik

unter Mitwirkung von

Kreisarzt Dr. E. Beiniker, Vorsteher des Medizinal-Untersuchungsamtes in Düsseldorf (Bakteriologische Technik) — Dr. J. Donau, Graz (Mikrochemische Technik) — Hanns Günther, Zürich (Das Mikroskop und seine Nebenapparate) — Oskar Heimstädt, Wien (Technik des Ultramikroskops und der Dunkelfeldbeleuchtung) — Professor Dr. C. Kaiserling, Königsberg (Mikrophotographie) — C. Leiss, Berlin-Steglitz (Das Polarisationsmikroskop und seine Nebenapparate) — Dr. Ad. Reitz, Stuttgart (Bakteriologische Technik) — Dr. R. Sachse, München (Kulturmethoden für Mikroorganismen) — Dr. H. Schneiderhöhn, Berlin (Mineralogische Mikroskopie) — Professor Dr. F. Sigmund, Teschen (Botanische Mikrotechnik) — Dr. Georg Stehli, Stuttgart (Mikrotomie) — Dr. G. Steiner, Zürich (Technik der Hydrobiologie und Planktonkunde) — Oberlehrer F. P. Wimmer, München (Mikroprojektion) — Dr. E. Wychgram, Kiel (Mikrospektroskopie) u. A.

herausgegeben von der

Redaktion des „Mikrokosmos“

Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung

mit besonderer Berücksichti-
gung der Spiegelkondensoren

Von

O. Heimstädt

Mit 71 Abbildungen



1915

Geschäftsstelle d. „Mikrokosmos“ Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart

Biblioteka Politechniki Krakowskiej



100000298786

Handbuch der mikroskopischen Technik

V. Teil

**Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie und
Dunkelfeldbeleuchtung**

W. /
138

Handbuch der mikroskopischen Technik

unter Mitwirkung

von

Kreisarzt Dr. E. Beintker, Vorsteher des Medizinal-Untersuchungsamtes in Düsseldorf (Bakteriologische Technik) — Dr. J. Donau, Graz (Mikrochemische Technik) — Hanns Günther, Zürich (Das Mikroskop und seine Nebenapparate) — Oskar Heimstädt, Wien (Technik des Ultramikroskops und der Dunkelfeldbeleuchtung) — Prof. Dr. E. Kaiserling, Königsberg (Mikrophotographie) — E. Leiß, Berlin-Steglitz (Das Polarisationsmikroskop und seine Nebenapparate) — Dr. Adolf Reiz, Stuttgart (Bakteriologische Technik) — Dr. R. Sachse, München (Kulturmethoden für Mikroorganismen) — Dr. H. Schneiderhöhn, Berlin (Mikroskopische Untersuchung kristallisierter Körper) — Prof. Dr. F. Sigmund, Teschen (Botanische Mikrotechnik) — Dr. G. Stehli, Stuttgart (Mikrotomie) — Dr. G. Steiner, Zürich (Technik der Hydrobiologie und Planktonkunde) — Oberlehrer F. P. Wimmer, München (Mikroprojektion) — Dr. E. Wyhgram, Kiel (Mikrospektroskopie) u. A.

herausgegeben

von

der Redaktion des „Mikrokosmos“

V.

Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung

von

O. Heimstädt

1915

Geschäftsstelle des „Mikrokosmos“: Franck'sche Verlagshandlung, Stuttgart

Apparate und Arbeitsmethoden
der
Ultramikroskopie und
Dunkelfeldbeleuchtung

Mit besonderer Berücksichtigung der Spiegelkondensoren

Von

O. Heimstädt

Mit 71 Abbildungen



1915

Geschäftsstelle des „Mikrokosmos“: Franck'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart

Alle Rechte, besonders das Übersetzungsrecht, vorbehalten

Gesetzliche Formel für den Rechtsschutz in den Vereinigten
Staaten von Amerika:

Copyright 1915
by Franckh'sche Verlagshandlung
Stuttgart

BIBLIOTEKA POLITECHNICZNA
KRAKÓW

III 15940

STUTTGARTER SEIZMASCHINEN-DRUCKEREI
HOLZINGER & CO. STUTTGART

Akc. Nr.

570,50

Inhalt.

	Seite
Erstes Kapitel: Die Dunkelfeldbeleuchtung	7
I. Natürliche Dunkelfeldbeleuchtung	7
II. Prinzip des Ultramikroscopes	7
III. Ultramikroskope mit gleichachsiger Anordnung des Beleuchtungs- und Beobachtungssystems	11
Zweites Kapitel: Mikroskopische und ultramikroskopische Abbildung	14
I. Die mikroskopische Abbildung	14
II. Die Abbildung selbstleuchtender Objekte	17
III. Die Abbildung punktförmiger ultramikroskopischer Objekte	17
IV. Die Abbildung fadenförmiger ultramikroskopischer Objekte	18
Drittes Kapitel: Das Spaltultramikroskop	20
I. Allgemeines	20
II. Einrichtung des Spaltultramikroscopes	21
III. Untersuchung des Goldbrüblinglases mit Hilfe des Spaltultramikroscopes	22
IV. Bestimmung der Teilchengröße nach Zsigmondy	24
V. Die Untersuchung kolloider Lösungen (Hydrosole)	25
VI. Das Immersions-Ultramikroskop nach Zsigmondy	28
Viertes Kapitel: Die Ultramikroskope von Siedentopf, Cotton-Mouton und Scarpa	28
I. Das Ultramikroskop von Siedentopf	28
II. Das Ultramikroskop von Cotton und Mouton	31
III. Das Ultramikroskop von Scarpa	32
Fünftes Kapitel: Die Spiegelfondensoren von Reichert	32
I. Die Vorläufer der Spiegelfondensoren	32
II. Der Reichertsche Spiegelfondensor	33
III. Äußere und innere Apertur des Spiegelfondensors	34
IV. Verwendung von Immersionsobjektiven mit Rohrblende	35
V. Die Immersion zwischen Objektträger und Kondensor	36
VI. Die optischen Fehler der Spiegellinse	37
VII. Der Einfluß der Beleuchtungslinse auf die Lichtstärke des Spiegelfondensors	39
Sechstes Kapitel: Die Handhabung des Spiegelfondensors	40
I. Die Lichtquellen	40
II. Die Objektträger	43
III. Die Deckgläser	44
Siebentes Kapitel: Plattenfondensoren	46
I. Einfache Plattenfondensoren	46
II. Univerfalkondensoren	48
Achtes Kapitel: Der Zeißsche Paraboloidkondensor	50

	Seite
Neuntes Kapitel: Die Zweiflächenkondensoren	55
I. Die Leitzschen Zweiflächenkondensoren	55
II. Der Kardiodkondensor von Siedentopf (Leitz)	56
III. Der konzentrische Kondensor von Jentsch (Leitz)	56
IV. Die Wirkungsweise der Zweiflächenkondensoren	58
V. Der Universalkondensor von W. v. Ignatowski (Leitz)	60
VI. Der Ultrakondensor von Jentsch (Leitz)	61
Zehntes Kapitel: Dioptrische Kondensoren als Hilfsmittel zur Dunkel- feldbeleuchtung	61
I. Der dreiteilige Abbesche Kondensor	61
II. Der aplanatische Kondensor	63
III. Immersionsobjektive als Kondensoren	64
Elfte Kapitel: Das Kardiodultramikroskop	64
Zwölftes Kapitel: Nebenapparate für Dunkelfeld=Untersuchungen	66
I. Die Reichert'sche Gaslampe	66
II. Die Reichert'sche Durchflußlampe	67
III. Quarzkondensoren	68
Dreizehntes Kapitel: Das Fluoreszenzmikroskop	69
Literaturverzeichnis	71
Sachverzeichnis	72

Erstes Kapitel.

Die Dunkelfeldbeleuchtung.

I. Natürliche Dunkelfeldbeleuchtung.

Jedermann kennt die Erscheinung der „Sonnenstäubchen“, die überall da auftritt, wo ein begrenztes Bündel von Sonnenstrahlen einen Raum durchsetzt, der gegen den (direkten) Zutritt des Sonnenlichtes geschützt ist. Es ist nicht unbedingt nötig, daß dieser Raum absolut dunkel ist. Man nimmt die Erscheinung auch in einem durch das Tageslicht mäßig erhellten Zimmer wahr. Sie rührt von unzähligen, in der Luft schwebenden kleinen Staubteilchen her, an denen das Licht gespiegelt, gebrochen oder abgelenkt wird. Die Kleinheit dieser Teilchen, die zu einem geringen Teil dem makroskopischen, zu einem größeren Teil dem mikroskopischen und der überwiegenden Zahl nach dem ultramikroskopischen Gebiet angehören, ist die Ursache, daß sie nur langsam der Wirkung der Schwere folgen und sich außerordentlich lange in der Luft freischwebend halten können.

Unter gewöhnlichen Beleuchtungsverhältnissen sind diese Staubteilchen nicht wahrnehmbar. Dagegen liefert uns die seitliche Bestrahlung dieser Objekte auch bei unbewaffnetem Auge den Beweis ihres Vorhandenseins. Durch die seitliche Beleuchtung unter Ausschaltung des störenden Nebenlichtes werden die Teilchen gewissermaßen aus dem mikroskopischen und ultramikroskopischen Bereich in das makroskopische übergeführt. Für das Ultramikroskop, das ultramikroskopische Teilchen in mikroskopische überführen soll, liefert uns daher die Erscheinung der Sonnenstäubchen ein natürliches Vorbild.

Aber noch ein zweites Beispiel der Dunkelfeldbeleuchtung bietet uns die Natur: den gestirnten Himmel. Am Tage ist die Dunkelheit des Raumes (Feldes) durch das Licht der Sonne, das an den Gasmolekülen der Atmosphäre abgelenkt wird und die blaue Farbe des Himmels hervorruft, so stark herabgemindert bzw. aufgehoben, daß selbst die hellsten Sterne unsichtbar bleiben. Erst wenn wir samt dem über uns befindlichen Teil der Atmosphäre in den Schatten der Erde eintreten, also zur Zeit der Dämmerung, treten die Sterne hervor. Ihre Helligkeit wird umso größer, je tiefer

die „Dunkelheit des Feldes“ ist; die größte Dunkelheit wird gewöhnlich um Mitternacht erreicht. Für unser Beispiel können genau genommen nur die Planeten in Betracht kommen, während die riesigen Mengen der Fixsterne „Selbstleuchter“ im eigentlichen Sinne des Wortes sind.

II. Prinzip des Ultramikroskops.

Die erste und hauptsächlichste Bedingung, die eine Einrichtung zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen erfüllen muß, ist die Anwendung der Beleuchtung im dunklen Felde. Keine andere Maßnahme ist geeignet, sie ganz und voll zu erzielen. Es scheint nicht ausgeschlossen, daß sich die Mangelhaftigkeit der Feldverdunkelung dadurch wettmachen läßt, daß man die Teilchen kräftiger beleuchtet. Andererseits ist es aber möglich, mit den Hilfsmitteln, die uns die moderne Optik zur Verwirklichung der absoluten Dunkelfeldbeleuchtung zur Verfügung stellt, auch mit Lichtquellen geringerer Stärke auszukommen, besonders, wenn es sich um solche Objekte handelt, die sich ihrer Größenordnung nach nicht allzustark von der mikroskopischen entfernen. Zu diesen Objekten zählen gerade jene, die in der Praxis am häufigsten Gegenstand von Untersuchungen sind, beispielsweise gewisse Bakterienarten, Hämatoklonen im Blut, Fettpartikel in der Milch, ferner Granulationen in Leukocyten, Speichelskörperchen u. a. m. Da aber die lichtablenkende Wirkung der kleinsten Teilchen mit ihrer Größe verhältnismäßig rasch abnimmt, so ist für viele Zwecke die Verwendung der stärksten Lichtquellen, die uns zu Gebote stehen, nicht zu umgehen. Diese Notwendigkeit liegt besonders bei der Untersuchung von Kolloiden in festen und flüssigen Lösungen vor, wo die gelösten Stoffe in feinsten Verteilung auftreten. Manchmal reichen dabei aber selbst unsere stärksten künstlichen Lichtquellen nicht aus, die beispielsweise bei der Feststellung der ungeheuer kleinen Goldteilchen in den Rubinergläsern, die zur Zeit nur mit dem Spaltultramikroskope nach Siedentopf und Zsigmondy vorgenommen werden kann, immer noch versagen. Nur mit Hilfe des Sonnenlichts ist man imstande, sie sichtbar zu machen.

Für die Zwecke der Ultramikroskopie kommt es bei den verwendeten Lichtquellen nicht so sehr auf die Menge des ausgestrahlten Lichtes, also auf die Lichtstärke schlechthin an, sondern darauf, daß ihre „spezifischen Intensitäten“ möglichst hoch sind. D. h., die Lichtquelle muß bei geringer Ausdehnung eine möglichst große Lichtmenge aussenden. Der Gebrauch einer Lichtquelle mit großer Flächenausdehnung (Beispiel: die Quecksilberdampf Lampe, selbst in der Form der Quarzlampe) würde eine Licht- und Energievergeudung bedeuten, weil nur ein kleiner Teil der leuchtenden Fläche beim Ultramikroskop zur Geltung käme. Von den künstlichen Lichtquellen haben sich am besten die Bogenlampen bewährt, und zwar sowohl die Starkstrom-, als auch die Schwachstromlampe, welche letztere unter dem Namen „Wipputbogenlampe“ (meist verbunden mit Sonderbezeichnungen) allgemein bekannt ist. Obwohl diese beiden Ausführungsformen der Bogenlampen ihrer absoluten Lichtstärke nach sehr voneinander abweichen, ist ihre spezifische Intensität nicht allzusehr verschieden. In dieser Hinsicht werden sie nur von der Sonne übertroffen, der kräftigsten und billigsten, aber auch unzuverlässigsten Lichtquelle, über die wir verfügen. An Hochsommertagen, zur Zeit ihres höchsten Standes und bei klarer Luft ist ihre spezifische Intensität etwa zehnmal größer als die der stärksten Bogenlampe.

Da es ja die hauptsächlichste Bestimmung des Ultramikroskops ist, die kleinsten Teilchen in luftförmigen, flüssigen und festen Medien sichtbar zu machen, so muß man als zweites Erfordernis zur Erreichung dieses Zieles die Anwendung einer Lichtquelle von hoher spezifischer Intensität bezeichnen.

Benützt man zur seitlichen Bestrahlung kleinster Teilchen zum Zwecke ihrer Sichtbarmachung eine künstliche Lichtquelle ohne irgendein optisches Hilfsmittel, so würde man einen um so größeren Erfolg haben, je näher man das zu untersuchende Medium, das die ultramikroskopischen Teilchen enthält, an die Lichtquelle heranbringt. Am deutlichsten tritt dieser Umstand bei den Staubeilchen der Luft hervor. Je weiter sie von der Lichtquelle entfernt sind, desto weniger wird ihre Anwesenheit durch Aufleuchten bemerkbar. Das ist leicht verständlich, da ja die Intensität der Beleuchtung nach den Strahlungsgesetzen mit wachsender Entfernung von der Lichtquelle quadratisch abnimmt. Wollte man aber zum Zwecke der ultramikroskopischen Beleuchtung das Objekt und

das Mikroskop in die größte Nähe der Lichtquelle bringen, so hätte man mit großen Unzulänglichkeiten zu kämpfen. Man hilft sich dadurch, daß man die divergierenden Strahlenbündel durch Einschaltung sogenannter Kondensoren in konvergente umwandelt, oder, was dasselbe ist, man bildet die Lichtquelle durch Linsen oder Spiegel ab. Am Ort des so geschaffenen, reellen Bildes der Lichtquelle herrschen ähnliche Verhältnisse, wie sie in nächster Nachbarschaft der Lichtquelle obwalten, selbstverständlich mit der Einschränkung, daß nur die vom Kondensorsystem aufgenommenen Lichtbündel wirksam sind.

Abb. 1 zeigt ein aus zwei Teilen bestehendes Kondensorsystem und seine Wirkungsweise. L ist die der Einfachheit halber punktförmig ge-

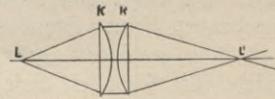


Abb. 1. Abbildung einer Lichtquelle durch einen Kondensor. L Lichtquelle, L' deren Bild, KK Linsen des Kondensors.

zeichnete Lichtquelle, L' ihr von den beiden Plankonverglinsen KK entworfenes Bild, das an Stelle der stärksten Einschränkung des Strahlenbündels entsteht. An diesem Ort leuchten auch die kleinsten, in der Luft schwebenden Teilchen am hellsten, wie das Beispiel eines Projektionsapparats für Diapositive deutlich zeigt, bei dem das vom Kondensorsystem entworfene Bild der Lichtquelle in das Objektiv des Apparates fällt. Nach Wegnahme des Objektivs kann man den Verlauf des doppelten Strahlenkegels und die Abnahme seiner seitlichen Lichtausstrahlung nach beiden Richtungen des Lichtweges leicht verfolgen.

Besonders einfache und übersichtliche Verhältnisse für die Beurteilung der Helligkeit des Lichtquellenbildes ergeben sich, wenn man zur

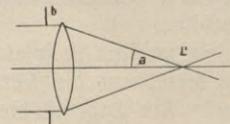


Abb. 2. Abbildung einer unendlich weit entfernten Lichtquelle durch eine Linse. b Blende, L' Bild, a halber Öffnungswinkel der Linse.

Sichtbarmachung kleinster Teilchen das Licht der Sonne durch eine Linse konzentriert (Abb. 2). Man kann sich dabei leicht davon überzeugen, daß das Sonnenbildchen L', das am besten auf einer Mattscheibe aufgefangen wird, um so heller leuchtet, je größer man die Blende b wählt. Die Helligkeit des Bildchens wächst

genau in dem Maße, wie die Fläche der Öffnung b , also quadratisch mit ihrem Durchmesser. Das Verhältnis des Durchmessers der Blende zu der unveränderlich angenommenen Brennweite der Linse muß daher möglichst groß gewählt werden, oder mit anderen Worten, die numerische Apertur des Kondensors bzw. des Strahlenbündels muß einen großen Wert besitzen.

An Stelle des Verhältnisses der Öffnung eines Linsensystems zu seiner Brennweite hat Abbe, den besonderen Bedürfnissen der Theorie des Mikroskopes Rechnung tragend, den Begriff der numerischen Apertur eingeführt. Er setzte fest, daß der Sinus des Winkels (α), den der äußerste Strahl eines Lichtkegels, den ein Mikroskopobjektiv noch aufnehmen kann, mit der Achse des Mikroskops bildet, multipliziert mit dem Brechungsindex des Mediums, in dem der Strahl vor dem Eintritt in das Objektiv verläuft, die numerische Apertur des Objektivs angibt. Man kann den Begriff der numerischen Apertur, allerdings etwas frei, auch auf einen einzelnen Lichtstrahl übertragen, wobei man diesen gemäß den Annahmen der geometrischen Optik als Normale eines Elements einer Licht-

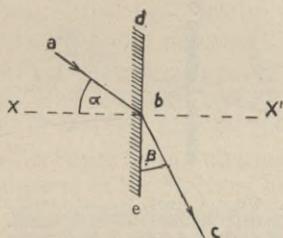


Abb. 3. Brechung eines Lichtstrahls an einer Glasfläche. α Winkelneigung des Strahles vor, β nach der Brechung.

wellenfläche auffaßt (Abb. 3). In dieser stellt die Linie ab einen solchen „Lichtstrahl“ dar, der in einem Medium verläuft, das einen größeren Brechungsindex als 1 hat (Beispiele: Wasser, Glas). Der Sinus des Winkels α , den dieser Strahl mit der Normalen der lichtbrechenden Fläche de bildet, multipliziert mit dem Brechungsindex des Mediums, das durch diese Fläche gegenüber der Luft abgegrenzt wird, gibt uns die „numerische Apertur“ des Strahles, bezogen auf die Normale xx' , an. Ist das Medium links von der Trennungslinie beispielsweise Glas mit dem Brechungsindex 1,5, so ist die „numerische Apertur“ des Lichtstrahles = $\sin \alpha \cdot 1,5$, während sie bei Wasser mit dem Brechungsindex 1,33 gleich $\sin \alpha \cdot 1,33$ ist. Nach dem Auftreffen auf die Fläche verläuft der gebrochene Strahl längs der Linie bc , wobei

sich aber seine „numerische Apertur“ gemäß dem Snelliusschen Brechungsgesetz nicht ändert ($\sin \beta = \sin \alpha \cdot 1,5$ bei Glas oder = $\sin \alpha \cdot 1,33$ bei Wasser).

Der Winkel β , den der gebrochene Strahl bc mit der Normalen xx' bildet, kann nicht größer werden als 90° , in welchem Falle der Lichtstrahl in der Ebene der brechenden Fläche verläuft. Der Sinus des Winkels β ist dann gleich 1, gleich der „numerischen Apertur“ des Strahles, da der Brechungsindex der Luft gleich der Einheit gesetzt wird. Die „numerische Apertur“ des Strahles ab hat denselben Wert ($\sin \alpha \cdot 1,5 = 1$ bei Glas), wobei der Winkel α etwa 42° beträgt.

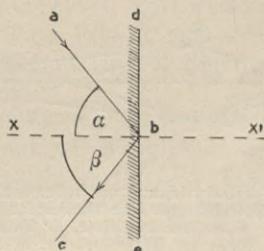


Abb. 4. Totalreflexion an einer Glasfläche.

Diesen Winkel bezeichnet man als den Grenzwinkel der Totalreflexion. Nimmt er um ein Geringes zu, so kehrt der gebrochene Strahl bc in das Medium zurück. Die Fläche de verhält sich dann wie ein vollkommener Spiegel, an dem die Reflexion des Strahles ab ohne den bei gewöhnlichen Spiegeln eintretenden Lichtverlust erfolgt, und zwar ist der Winkel β , unter dem der Strahl zurückgeworfen wird, wie bei gewöhnlicher Reflexion, gleich dem Winkel α (Abb. 4).

Alle Strahlen, die gegen die Achse xx' eine größere Neigung als den Grenzwinkel der Totalreflexion besitzen, oder die eine größere „numerische Apertur“ als 1 haben, können nicht in das optisch weniger dichte Medium rechts von de gelangen (Abb. 3).

Die Lichtstärke eines Kondensorsystems wächst mit dem Quadrat seiner numerischen Apertur, da diese eigentlich nur ein anderer Ausdruck für das Verhältnis seiner freien Öffnung zur Brennweite ist. Der Umstand, daß der weitaus größte Teil aller ultramikroskopischen Objekte sich in Medien befindet, die optisch dichter als Luft sind, versetzt uns in die Lage, Kondensoren verwenden zu können, deren numerische Aperturen erheblich größer als 1 sind.

Die dritte Bedingung zur Sichtbarmachung kleinster Teilchen durch Dunkelfeldbeleuchtung ist also die Verwendung von Beleuch-

tungssystemen (Kondensoren) möglichst hoher numerischer Apertur. Sie deckt sich in wesentlichen mit der zweiten, die die kräftigste Bestrahlung der sichtbar zu machenden Objekte fordert.

Bei Befolgung dieser Grundsätze, nämlich der Anwendung der Dunkelfeldbeleuchtung durch seitliche Bestrahlung der Objekte, beim Gebrauch einer Lichtquelle von großer spezifischer Intensität und eines Kondensorensystems von möglichst hoher Apertur

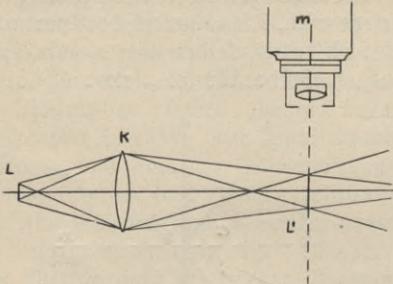


Abb. 5. Dunkelfeldeinrichtung mit rechtwinkliger Anordnung von Beleuchtungs- und Beobachtungsachse. L Lichtquelle, K Beleuchtungslinse, L' Bild der Lichtquelle in der Ebene der Mikroskopachse, m Mikroskop.

gelangen wir zu der in Abb. 5 skizzierten Anordnung eines Ultramikroskops. Es sei L wiederum die Lichtquelle, etwa eine Kohlenbogenlampe, und L' das vom Kondensor K entworfene Bild der Lichtquelle, das an dem Ort der engsten Einschnürung der vom Kondensor K ausgehenden Lichtbündel entsteht. An dieser Stelle befindet sich das Mikroskop m, dessen

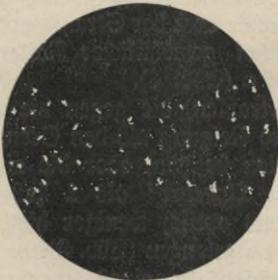


Abb. 6. Ultramikroskopisches Bild bei schwacher Vergrößerung.

optische Achse in der Ebene des Lichtquellenbildes L' verlaufen soll. Betrachten wir nun den uns schon bei unbewaffnetem Auge auffallenden Doppelkegel unter Anwendung geringer Vergrößerung, so zeigt sich das in Abb. 6 dargestellte Bild. Es ist dabei vorausgesetzt, daß die Brennweite der Linse K und damit die Größe des Lichtquellenbildes genügend klein sind. Das dunkle Gesichtsfeld des Mikroskopes wird von einem hellen, nach den Rändern des Feldes

breiter werdenden Lichtband durchzogen, das mit unzähligen glitzernden oder funkelnden, sehr kleinen Teilchen erfüllt ist, die sich hell vom dunklen Grunde abheben.

Das Bild ändert sich aber sofort, wenn wir zu einer stärkeren Vergrößerung übergehen. Der dunkle Untergrund verschwindet vollständig und das ganze Gesichtsfeld des Mikroskopes erscheint wie von einem schmutzig-gelblichen Nebel erfüllt, in dem zahlreiche, helle und scheinbar ziemlich große Teilchen schwimmen, die in sehr lebhafter, regelloser Bewegung, der Brownschen Molekularbewegung, begriffen sind. Außerdem nehmen wir noch sehr viele ringförmige, von farbigen Säumen umgebene Gebilde wahr, die sich zu leuchtenden Scheibchen verdichten, sobald das Teilchen, das ihre Entstehung verursacht, im Verlauf seiner unaufhörlichen Bewegung in die Einstellungsebene des Mikroskops gerät. Diese Beobachtung gibt uns zugleich die Erklärung für die Aufhellung des Bildfeldes: Die gelbliche Färbung des Untergrundes rührt von den zahllosen Zerstreuungskreisen her, die durch die

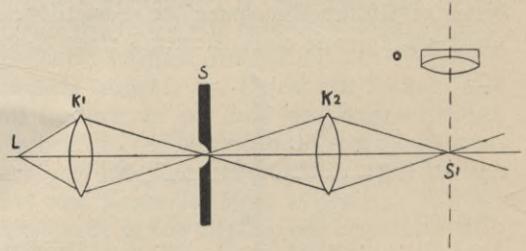


Abb. 7. Schema eines Spaltultramikroskopes. K₁ erste, K₂ zweite Kondensierlinse, S Spalt, S₁ Bild des Spaltes in der Ebene der Achse des Mikroskopes, o Mikroskopobjektiv.

außerhalb der Einstellungsebene befindlichen, leuchtenden Teilchen erzeugt werden. Diese Erkenntnis liefert uns zugleich ein Mittel zur Beseitigung dieses Übelstandes, der (wenigstens bei stärkerer Vergrößerung) die durch die seitliche Bestrahlung der Objekte erzielte Dunkelfeldbeleuchtung illusorisch macht.

Dieses Mittel besteht einfach darin, daß die Größe des vom Kondensor in der Ebene der optischen Achse des Mikroskops erzeugten Lichtquellenbildes in der Richtung dieser Achse möglichst herabgesetzt wird. Am einfachsten geschieht dies durch eine spaltförmige Blende, die in die Nähe des Lichtquellenbildes gebracht wird und dieses so abblendet, daß nur ein flaches, breites Lichtbündel die Einstellungsebene des Mikroskopes durchquert. Noch zweckmäßiger ist es, nicht die Lichtquelle selbst in der Einstellungsebene des Mikroskopobjektivs abzubilden,

sondern einen durch die Lichtquelle stark beleuchteten Spalt, wie es Siedentopf bei dem Spaltultramikroskop (Abb. 7) durchgeführt hat. In Abb. 7 ist L die Lichtquelle und K_1 der erste Kondensator, der ihr Licht auf den Spalt S konzentriert. Das Bild des Spaltes, das sich unter diesen Umständen ebenso verhält wie eine sehr kleine Lichtquelle, wird durch den zweiten Kondensator K_2 in der Einstellenebene des Mikroskopobjektivs entworfen. Wählt man den Abstand der Spaltbacken so klein, daß das Spaltbild in der Richtung der Mikroskopachse keinen viel größeren Raum einnimmt als die sogenannte „Schiefe“ des Mikroskops beträgt,*) so nimmt man selbst beim Gebrauch stärkerer Objektive und Okulare die einzelnen Teilchen als sehr stark leuchtende, von konzentrischen, lichtschwächeren Ringen umgebene kleine Scheibchen auf vollständig dunklem Grunde wahr. Durch die Methode der Abbildung eines beleuchteten Spaltes in der Objektebene eines Mikroskops wird gewissermaßen ein „optischer Dünnschnitt“ erzeugt. Die Methode hat die rechtwinklige Anordnung der optischen Achsen von Beobachtungs- und Beleuchtungssystem zur Voraussetzung. Ihre erste und einzige praktische Verwirklichung stellt das Spaltultramikroskop nach Siedentopf und Zsigmondy dar.

Die vierte Bedingung, die ein Ultramikroskop bei stärkerer Vergrößerung erfüllen muß, ist also die, daß der Raum, innerhalb dessen sich leuchtende ultramikroskopische Teilchen befinden, in der Richtung der optischen Achse des Mikroskops möglichst wenig ausgedehnt sein darf. Diese Bedingung ist zur Erreichung eines absolut dunklen Feldes bei stärkeren Vergrößerungen, wie sie gewöhnlich gebraucht werden, unerlässlich.

Bisher haben wir stets angenommen, daß die sichtbar zu machenden Teilchen in der Luft schweben. Ein weitaus größeres wissenschaftliches Interesse besitzen aber jene Teilchen, die als Kolloide in flüssigen und festen Lösungen vorkommen. Diese haben ja auch den Anstoß zur Schaffung ultramikroskopischer Einrichtungen gegeben. Zum Zwecke ihrer Sichtbarmachung bedient man sich der in Abb. 7 skizzierten Einrichtung, nur bringt man an den Ort des Spaltbildes das zu untersuchende Objekt in geeigneter Zurichtung, eine kolloide Lösung

beispielsweise in einem kleinen Glastrog, einen durchsichtigen festen Körper in der Form eines kleinen, gut polierten Würfels.

III. Ultramikroskope mit gleichachsiger Anordnung des Beleuchtungs- und Beobachtungssystems.

Eine weitaus größere Bedeutung für die Praxis als die Methode der rechtwinkligen Anordnung der Achsen des Beleuchtungs- und Beobachtungssystems hat die Methode der gleichsinnigen Anordnung. Bei ihr wird das zu untersuchende, die ultramikroskopischen Teilchen enthaltende Objekt zwischen zwei „optisch leeren“ Medien (Glas oder Quarz) in Gestalt eines reellen Dünnschnittes eingeschlossen. Dazu bedient man sich, wie auch sonst in der Mikroskopie, des Objektträgers und des Deckglases.

Man unterscheidet bei den ultramikroskopischen Einrichtungen mit gleichachsiger Anordnung zwei sowohl in ihrer Wirkung als auch in ihrer Konstruktion streng voneinander getrennte Methoden, nämlich die mit innerem und die mit äußerem Beleuchtungsbündel. Die erste wird durch Siedentopfs Ultramikroskop repräsentiert, dessen Prinzip in Abbildung 8 näher erläutert ist.

Bei diesem Ultramikroskop wird durch einen Kondensator k , der eine schwache numerische Apertur besitzt oder der durch eine Blende a entsprechend abgeblendet wird, das Bild einer Lichtquelle höchster spezifischer Intensität in dem Objekt entworfen, das sich in der allgemein bekannten Weise zwischen dem Objektträger t und dem Deckglas d befindet. Zur Beobachtung wird ein Objektiv von höherer Apertur verwendet, das in seinem mittleren Teil derart (nämlich bis zum Betrage der wirksamen numerischen Apertur des Kondensators) abgeblendet ist, daß es den Strahlen, die, vom Kondensator kommend, das Objekt durchsetzen, den Zutritt zum Auge versperrt. Bei der in Abb. 8 skizzierten Konstruktion erfolgt dies durch die Zentralblende b , die hinter der Frontlinse des Mikroskops angeordnet ist. Der freie Randteil des Objektivs o nimmt dann die von dem bestrahlten Objekt ausgehenden, abgelenkten Strahlen auf, die in der Abbildung durch gestrichelte Linien angedeutet sind.

Die zweite Methode schlägt den entgegengesetzten Weg ein, indem sie zur Beleuchtung der ultramikroskopischen Objekte Strahlen größerer und zur Beobachtung Strahlen geringerer Apertur benützt. Das Prinzip wird sofort klar, wenn man das in Abb. 8 skizzierte Schema um-

*) Unter Schiefe versteht man die Entfernung senkrecht zur Achse des Mikroskops, innerhalb welcher zwei Objekte ohne Gebrauch der Feineinstellung noch leidlich scharf gesehen werden.

fehrt. Dann wird das System mit der Zentralblende b , das früher das Mikroskopobjektiv darstellte, zum Beleuchtungssystem und der frühere Kondensor k zum Objektiv mit der Randblende a . Der Lichtweg verläuft natürlich auch umgekehrt, nämlich von links nach rechts; die gestrichelten Linien sind dann die beleuchtenden Strahlen. Desgleichen vertauschen Objektträger und Deckglas ihre Rollen. Abb. 9 veranschaulicht

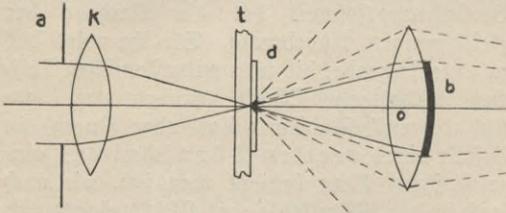


Abb. 8. Schema einer Dunkelkammeranordnung mit Strahlen kleinerer Apertur zur Beleuchtung und Strahlen größerer Apertur zur Beobachtung. a Kondensorblende, k Kondensor, t Objektträger, d Deckglas, o Objektiv, b zentrale Blende im Objektiv. Die beleuchtenden Strahlen sind ausgezogen, die abgebeugten und abbildenden gestrichelt.

licht eine solche Einrichtung mit zentraler Abbildung des Kondensors und Randblende im Objektiv.

Eine Abart dieser Einrichtung, bei der ebenfalls zur Bestrahlung des Objektes Lichtbündel größerer numerischer Apertur und zur Beobachtung Strahlen geringerer numerischer Apertur verwendet werden, stellen die Spiegelkondensoren dar. Obgleich das Hilfsmittel zur Beleuchtung der Objekte dasselbe ist, wie vorher, muß man diese Ultramikroskope, bei

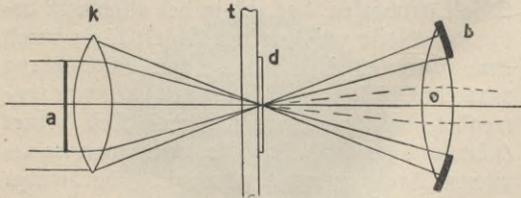


Abb. 9. Schema einer Dunkelkammeranordnung mit Strahlen größerer Apertur zur Beleuchtung und kleinerer Apertur zur Beobachtung. k Kondensor mit Zentralblende a , o Objektiv mit Randblende b . Die beleuchtenden Strahlen sind ausgezogen, die abbildenden gestrichelt.

denen die Dunkelkammerbeleuchtung durch Totalreflexion am Deckglase herbeigeführt wird, wegen ihrer bei aller Einfachheit hohen Leistungsfähigkeit gesondert betrachten.

Abb. 10 zeigt schematisch die Konstruktion eines Spiegelkondensors. Sein hauptsächlichster Bestandteil ist das licht sammelnde optische Hilfsmittel, in dem dargestellten Fall eine Spiegellinse S nach Stephenson. Diese Linse hat die Fähigkeit, ein senkrecht auf ihre plane Fläche auftreffendes paralleles Strahlenbündel in ein konvergentes umzuwandeln, dessen äußere

Strahlen eine numerische Apertur von 1,30 und darüber haben können. Die Blende b beschränkt aber dieses Strahlenbündel derart, daß es keine Strahlen mit einer kleineren Apertur als 1 enthält. Der Beleuchtungskegel mit der numerischen Apertur 1,0—1,3 erzeugt ein außerordentlich helles Bild der Lichtquelle in der Ebene des Präparates, das mit der Spiegellinse durch Wasser oder Öl optisch verbunden ist. An der Oberfläche des Deckglases e erleiden alle beleuchtenden Strahlen eine Totalreflexion. Nur die von dem Präparat abgebeugten Strahlen, sofern ihre numerische Apertur kleiner ist als 1, können in das Objektiv o gelangen und

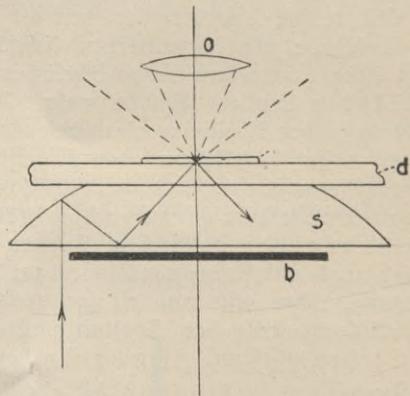


Abb. 10. Strahlengang bei einem Spiegelkondensor. S Spiegellinse, b Stempelblende, o Objektiv, d Objektträger, e Deckglas.

so eine Abbildung des Objektes erzeugen. Die abbildenden Strahlen sind in der Abb. 10 punktiert gezeichnet.

Es gab eine Zeit, in der man den Spiegelkondensoren die Berechtigung, als ultramikroskopische Behelfe zu gelten, nicht zugestehen wollte. Auch heute ist die gegenteilige Ansicht noch nicht allgemein durchgedrungen. Wenn man aber eine Unterscheidung zwischen Ultramikroskopen und Einrichtungen zur Dunkelkammerbeleuchtung, die das Prinzip der Spiegelkondensoren benützen, machen will, so muß man die letzteren als eine höhere Klasse von Apparaten zur Sichtbarmachung kleinster Teilchen bezeichnen. Denn die Möglichkeit, alle vier vorher angeführten Bedingungen, denen ein Ultramikroskop in erster Linie genügen muß, zu erfüllen, ist nur gegeben, wenn man Spiegelkondensoren zur Beleuchtung der Objekte verwendet.

Die erste Bedingung, die besagt, daß nur dann ein vollkommenes Dunkelkammer entsteht, wenn allen zur Beleuchtung des Objektes beitra-

genden Strahlen der Zutritt zum Auge des Beobachters verwehrt wird, läßt sich in vollkommener Weise durch die Anwendung der Totalreflexion am Deckglase erreichen, wie sie beim Spiegelfondensor stattfindet.

Der Erfüllung der zweiten Bedingung, der Verwendung einer Lichtquelle von größter spezifischer Intensität, sind keine Schranken gesetzt.

Der dritten Bedingung, nämlich der Beleuchtung der ultramikroskopischen Teilchen durch Strahlen höchster numerischer Apertur, die einen großen Winkelbereich umfassen müssen, genügen in vollem Maße die Spiegelfondensoren. Je nach dem Medium, in dem sich die sichtbar zu machenden ultramikroskopischen Teilchen befinden, kann man die numerische Apertur des Kondensors bis zum Wert 1,45 steigern. Bei flüssigen Lösungen ist der Grenzwert der anwendbaren numerischen Apertur gleich dem Brechungsindex des Mediums, bei Wasser beispielsweise gleich 1,33. Die weitestgehende Ausnützung dieses Vorteils gestattet es, die Objekte mit einer Lichtmenge zu bestrahlen, die je nach den Verhältnissen 10—20 mal größer ist, als bei den älteren Ultramikroskopen, die mit Kondensoren von kleinerer Apertur (bis zu 0,3, in Ausnahmefällen bis zu 0,5) arbeiteten.

Auch die vierte Bedingung, die Begrenzung des reellen Dünnschnittes auf die „Sehtiefe“ des Mikroskops, läßt sich durch die Verwendung entsprechender Objektträger und Deckgläser, zwischen denen das zu untersuchende Objekt in bekannter Weise untergebracht wird, völlig erfüllen. Der Umstand nun, daß die Methode der Beleuchtung mit Strahlen von größerer numerischer Apertur und Beobachtung mittels Lichtbündeln von geringerer Apertur auch Objekte von mikroskopischer Größe mit aller wünschenswerten Deutlichkeit und unter Verhältnissen zur Wahrnehmung bringt, die die Anwendung der Abbeschen Theorie der mikroskopischen Bilderzeugung gestatten, ist ebensowenig ein Anlaß, den Spiegelfondensoren den Charakter als ultramikroskopische Behelfe abzuspochen, wie die Tatsache, daß ein Teil der jetzt als Spiegelfondensoren für ultramikroskopische Arbeiten verwendeten Hilfsmittel früher in der mikroskopischen Optik eine gewisse Rolle gespielt hat.

Der Vollständigkeit halber sei hier noch eine andere Einrichtung, wohl die einfachste aller ultramikroskopischen, erwähnt, die nach Art der Spiegelfondensoren arbeitet. Sie ist durch die Anwendung eines gewöhnlichen, dreiteiligen

Abbeschen Kondensors mit der numerischen Apertur 1,4 gegeben. Die Lichtstrahlen, deren numerische Apertur geringer als 1,0 ist, werden von einer zentralen Blende zurückgehalten, die in den an jedem besseren Mikroskop angebrachten Sternblendenrahmen eingelegt wird. Die erste Bedingung (s. S. 7 u. 12) läßt sich bei dieser Einrichtung nicht vollständig erfüllen, weil die Linsenflächen des Abbe-Kondensors Anlaß zur Entstehung von Reflexbildern geben, von denen auch Strahlen kleinerer numerischer Apertur als 1,0 ausgehen, die das Gesichtsfeld des Mikroskops aufhellen. Für bescheidenere Ansprüche, insbesondere zur Sichtbarmachung größerer Bakterien, genügt diese Einrichtung aber durchaus. Sie wird für diese Zwecke auch vielfach verwendet.

Die vier erwähnten Bedingungen, denen ein Ultramikroskop genügen muß, bedürfen noch einer Ergänzung durch zwei weitere, die voneinander abhängig, doch mehr nebensächlicher Natur sind, weil ihre Erfüllung wohl eine Erhöhung der Lichtstärke der ultramikroskopischen Einrichtung zur Folge hat, andererseits aber gewisse Nachteile, vor allem Unbequemlichkeiten in der Handhabung, mit sich bringt. Es hat sich ergeben, daß es vorteilhaft für die Wirkung der Spiegelfondensoren ist, wenn sie eine möglichst kurze Brennweite besitzen (fünfte Bedingung). Die Brennweite des Kondensors ist bestimmend für die Größe des Lichtquellenbildes, das er in der Präparatebene des Mikroskops erzeugt. Eigentlich ist es zwecklos, dieses Bild größer zu machen als das Gesichtsfeld der verwendeten Objektiv- und Okularkombination. Bei übermäßig großer Ausdehnung des Lichtquellenbildes senden nämlich die ultramikroskopischen, noch mehr aber die meistens vorhandenen mikroskopischen Teilchen des Präparats eine bedeutende Menge abgelenkten Lichtes aus, das nicht nur durch Rückstrahlung auf die geschwärzten Flächen des Kondensors (Blenden) den dunklen Untergrund aufhellt, sondern auch Reflexbildungen im Objektiv hervorruft, die die Dunkelheit des Gesichtsfeldes beeinträchtigen. Denn das Objektiv des Mikroskops nimmt bedeutend mehr Strahlen auf, als die Blende des Okulares passieren. Diese mehr aufgenommenen Strahlen sind natürlich für die Zwecke der Abbildung verloren. Sie machen sich aber durch Bildung von Reflexen an den Linsenflächen des Objektivs und mitunter auch an den Wandungen des Tubusrohres sehr unangenehm bemerkbar. Beschränkt man aber den durch das Lichtquellenbild erleuchteten Teil des

Präparats auf eine Größe, die der des Gesichtsfeldes des Mikroskops entspricht, so werden die störenden Reflexbildungen eingeschränkt und die Dunkelheit des Feldes nimmt merklich zu.

Für manche Zwecke ist es sogar geboten, die Größe des Lichtquellenbildes im Präparat kleiner zu bemessen als es das Gesichtsfeld des Mikroskops zuläßt. Das läßt sich aber nur dann durchführen, wenn man einen Spiegell Kondensator benützt, dessen Brennweite nicht viel größer ist als beispielsweise die der gebräuchlichsten Zimmerionsobjektive. Nur dann ist man in der Lage, durch entsprechende Wahl der Entfernung der Lichtquelle oder durch Abblendung der Beleuchtungslinse die Größe der beleuchteten Fläche des Präparats auf jeden beliebigen Betrag herabzumindern.

Ein Spiegell Kondensator, der diese Maßnahmen durchzuführen gestattet, muß jedoch neben der fünften Bedingung noch einer sechsten genügen: Er muß aplanatisch sein, d. h., das von ihm in der Präparatebene erzeugte Bild der Lichtquelle muß möglichst scharf ausfallen. Jedenfalls darf die Größe des durch mangelnden Aplanatismus des Kondensators bedingten Zerstreuungskreises eines Punktes der Lichtquelle nur einen Bruchteil der Größe des Lichtquellenbildes selbst ausmachen.

Gegen die beiden zuletzt genannten Forderungen verstößt sich aber die Mehrzahl der im Gebrauch befindlichen Spiegell Kondensatoren (der Spiegell Kondensator von Reichert und der

Paraboloid-Kondensator von Zeiß), ganz bedeutend. Es sind hauptsächlich die Anforderungen der Praxis, die die Nichtbeachtung der fünften und sechsten Bedingung geboten erscheinen lassen. Denn die Anwendung von Spiegell Kondensatoren, die diesen Bedingungen genügen (es sind dies die von W. von Ignatowski eingeführten Leitzschen Zweiflächenkondensatoren), machen die peinlichsten Maßregeln beim Gebrauch zur Pflicht. Muß doch bei diesen Kondensatoren beispielsweise die Dicke der Objektträger genau eingehalten werden, die Zentrierung der optischen Achsen von Kondensator und Objektiv viel sorgfältiger geschehen u. a. m. Die Erhöhung der Lichtstärke, die die Anwendung der Zweiflächenkondensatoren mit sich bringt, ist jedoch nicht so bedeutend, daß dadurch neue Möglichkeiten eröffnet würden. Infolgedessen haben diese Kondensatoren den Spiegell Kondensatoren mit nur einer wirksamen Fläche, bei denen die Schwierigkeiten der Handhabung infolge der größeren Brennweite beträchtlich geringer sind, das Feld nicht streitig machen können. Während die einflächigen Spiegell Kondensatoren von Reichert und Zeiß den Anforderungen des praktischen Gebrauchs besser entsprechen, stellen die Leitzschen Zweiflächenkondensatoren mehr ein Hilfsmittel des mit höchster Genauigkeit arbeitenden Forschers dar, zu dem der Mann der Praxis, der notwendigen peinlichen Behandlung wegen, nicht ohne Not seine Zuflucht nimmt.

Zweites Kapitel.

Mikroskopische und ultramikroskopische Abbildung.

I. Die mikroskopische Abbildung.

Um die eigenartigen Verhältnisse, unter denen die Abbildung ultramikroskopischer Objekte im Mikroskop zustande kommt, klar zu stellen, ist es notwendig, die Gesetze, nach denen die mikroskopische Abbildung erfolgt, kurz zu erläutern.

Im Gegensatz zum Fernrohr, das uns gestattet, mit den Augen eines Riesen zu sehen, leiht uns das Mikroskop die Augen einer Mücke. Die besondere Ausbildung dieses Organs als Fazettenauge setzt die Insekten in den Stand, Gegenstände in größter Nähe leidlich scharf zu sehen. Natürlich wird aber selbst das feinste Fazettenauge des kleinsten Insektes in bezug auf seine Leistung schon von mittelmäßigen Mikroskopen weit übertroffen.

Das unbewaffnete, normale menschliche Auge ist nicht befähigt, Gegenstände, die sich in größerer Nähe als etwa 250 mm, der sogenannten „konventionellen Sehweite“, befinden, vollständig scharf wahrzunehmen. Die Linse des Auges, die

gewissermaßen automatisch die „Scharfeinstellung“ des in wechselnder Entfernung vom Beobachter befindlichen Bildes besorgt, kann sich ohne bedeutende Akkommodationsanstrengung nicht stärker wölben. Man kommt ihr in diesem Falle durch die Vorschaltung eines Hilfsliniensystems mit positiver Brennweite zu Hilfe, das zusammen mit der Linse und den sammelnd wirkenden Flächen des Auges ein scharfes Bild des nahen Gegenstandes auf der Netzhaut erzeugt. Der Ort des Gegenstandes befindet sich unter diesen Umständen in oder nahe der Brennebene des zu Hilfe genommenen positiven Liniensystems.

Das unter Mitwirkung dieser Linse, die man als Lupe oder einfaches Mikroskop bezeichnet, zustande gekommene Netzhautbild ist ausgedehnter als das mit freiem Auge betrachtete Bild des Objekts, denn der Gesichtswinkel, unter dem das Objekt jetzt erscheint, ist durch die Annäherung an das Auge größer geworden. Je näher dem Auge der Gegenstand durch die Lupe gebracht wird, mit

anderen Worten, je kürzer deren Brennweite ist, desto stärker ist die Vergrößerung. Ihr Maß wird annähernd durch das Verhältnis der konventionellen Sehweite S (im Mittel 250 mm) zur Brennweite F der Lupe bestimmt. Eine noch größere Annäherung des Objekts an das Auge und damit eine entsprechend stärkere Vergrößerung des Gesichtswinkels erzielt man mit Hilfe des zusammengefügten Mikroskops, das aus Objektiv und Okular besteht. Diese Zusammenstellung ist weiter nichts als ein Mittel, die Brennweite des Hilfssystems noch weiter herabzumindern, als es aus praktischen Gründen bei einem einfachen Mikroskop, bei Lupen, möglich ist. Unsere stärksten Mikroskope erlauben eine Vereinigung von Objektiven und Okularen zu einem Gesamtsystem, dessen Brennweite 0,1 mm beträgt. Das ergibt eine etwa 2500fache Vergrößerung ($S:F = 250:0,1$).

Es ist nun leicht möglich, die Verkürzung der Brennweite des Systems (Objektiv + Okular) und damit die Vergrößerung des Gesichtswinkels beliebig weit zu treiben, aber es ist zwecklos, diesen Wert kleiner zu wählen als 0,3 mm. Dabei wird der Gesichtswinkel etwa 800 mal vergrößert. Noch stärkere Vergrößerungen werden als „leere“ bezeichnet, weil kleinere Struktureinzelheiten dadurch nicht vollkommener zur Wahrnehmung gebracht werden können. Die Auflösungsfähigkeit des Mikroskops hat mit dieser Vergrößerung ihre Grenze erreicht.

Die Theorie der mikroskopischen Bilderzeugung nach Abbe¹⁾ lehrt uns, daß diese Erscheinung ihre Ursache in den wellenförmigen Bewegungen des Äthers hat, die wir als Licht empfinden. Zur Aufstellung und experimentellen Unterstützung seiner Theorie benützte Abbe die bekannten Beugungserscheinungen an Streifengittern, deren Gesetze Fraunhofer zuerst erforscht hat. Die Wirkung eines derartigen Gitters ist in Abb. 11

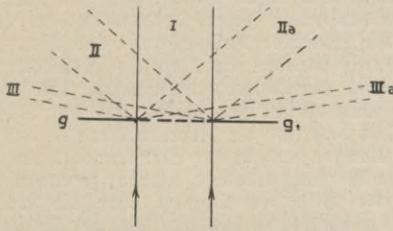


Abb. 11. Beugung an einem Gitter.
g g, Gitterebene, I Hauptspektrum, II, II a erste Nebenspektren, III, III a zweite Nebenspektren.

schematisch dargestellt. Die Ebene des Gitters, das am besten dadurch hergestellt wird, daß man in eine mit einem dünnen Spiegelbelag versehene Glasplatte äußerst feine Linien in gleichen Abständen von einander einrißt, ist durch $g g$ bezeichnet. Fällt ein als parallel angenommenes Lichtbündel (in der Abbildung durch ausgezogene, mit Pfeilen versehene Linien angedeutet) senkrecht auf das Gitter, so setzt ein großer Teil der Lichtstrahlen seinen geraden Weg fort. Das in seiner Richtung unveränderte Bündel wird als nulltes Spektrum (I) bezeichnet. Außerdem werden von dem Gitter durch Beugung eine Anzahl Nebenspektren erzeugt, die symmetrisch zum Hauptbündel gelagert sind (II und IIa, III und IIIa).

Die Anzahl der dem nullten Spektrum beigeordneten Nebenspektren hängt von dem Abstand der Streifen ab. Bei geringem Abstand nimmt sie ab, so daß bei einer Gitterdistanz von etwa einer halben Wellenlänge = 0,00025 mm nur ein Paar Nebenspektren auftritt.

Ferner ist die Neigung der Seitenspektren für Licht von verschiedener Wellenlänge (Farbe) verschieden. Enthält das auf das Gitter fallende Lichtbündel Strahlen aller Wellenlängen (weißes Licht), so entsteht ein wirkliches Spektrum, weil die Lichtstrahlen größerer Wellenlänge (rot) stärker gebeugt werden, als die geringerer Wellenlänge (blau). Von dieser Erscheinung macht man in der wissenschaftlichen Optik häufig Gebrauch, indem man das Spektrum einer Lichtquelle nicht durch Prismenwirkung, sondern durch Beugung an Gittern erzeugt.

Außerdem hängt die Neigung der seitlichen Spektren noch von dem Medium ab, in dem der Beugungsvorgang erfolgt. Befindet sich das Gitter in einem optischen Mittel, dessen Bre-

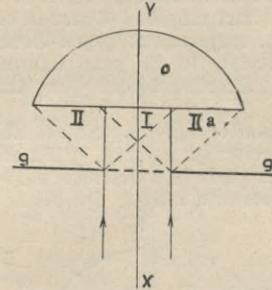


Abb. 12. Abbildung eines Gitters durch ein Mikroskopobjektiv. I Hauptspektrum, II, II a Nebenspektren, o Mikroskopobjektiv, xy Mikroskopachse.

chungsindex größer als 1 ist, so verringert sich die Neigung der abgebeugten Büschel und zwar umso mehr, je höher der Brechungsindex ist. Diesen Umstand macht man sich bei den homogenen Immersionsobjektiven (Immersionen) zunutze.

Ein solches Gitter mit mikroskopisch kleinem Streifenabstand, an den Ort des Objekts gebracht, verwendete Abbe zum experimentellen Beweis der nach ihm benannten Theorie der mikroskopischen Bilderzeugung.

Abb. 12 zeigt diese Anordnung im vergrößerten Maßstabe. Die Linie $g g$ stellt wieder die Ebene des Gitters dar, das sich in Luft befinden möge und dessen Streifenentfernung so klein gewählt sein soll, daß sich nur ein Paar Nebenspektren (II und IIa) durch Beugung vom Hauptspektrum abzweigt. Nun lehrt die Abbesche Theorie, daß, wenn eine Abbildung der Streifen des Gitters durch das Mikroskop überhaupt zustande kommen soll, zumindestens eins von den beiden abgebeugten Spektren (II oder IIa) außer dem Hauptspektrum von dem durch die halbkugelförmige Linse o angedeuteten Objektiv des Mikroskops aufgenommen werden muß. Der halbe Öffnungswinkel des Objektivs muß also größer oder wenigstens gleich der Neigung der abgebeugten Bündel sein. In dem in der Abb. 12 skizzierten Fall gelangen, weil das beleuchtende Bündel parallel zur optischen Achse $y x$ des Objektivs auffällt, beide abgebeugten Bündel zur Wirkung.

Die Abhängigkeit der vom Mikroskop noch „aufgelösten“ Gitterstruktur vom Öffnungswinkel des Objektivs hat Abbe in eine außerordentlich einfache Beziehung gebracht. Sie ist gegeben durch den Ausdruck

$$\delta = \frac{\lambda}{a}$$

wobei δ den Abstand der Streifen, λ die Wellenlänge des zur Beleuchtung des Gitters benützten Lichtes und a die numerische Apertur des Objektivs bedeuten. Die Streifenentfernung, die mit dem Mikroskop noch aufgelöst werden kann, ist also für ein starkes Trockenobjektiv mit der numerischen Apertur 0,95 und für das Licht der gelben Natriumlinie ($\lambda = 0,589 \mu$) $= \frac{0,589}{0,95} = 0,62 \mu$.

Wird das Gitter aber durch blaues Licht (etwa von der Wellenlänge $\lambda = 0,434 \mu$) beleuchtet, dann sinkt der auflösbare Streifenabstand auf $0,46 \mu$. Verwendet man an Stelle der Trockenobjektive die sogenannten homogenen Immersionsobjektive, die eine numerische Apertur bis zu 1,4 besitzen, und bettet man das Gitter in ein Medium ein, das einen entsprechend hohen Brechungsindex (etwa 1,5) besitzt, so ist man imstande, Gitter mit engerem Streifenabstand zur Auflösung zu bringen.

Um die Auflösungsfähigkeit der Mikroskopobjektive noch weiter zu steigern, greift man zu dem Hilfsmittel der schiefen Beleuchtung, deren Prinzip Abb. 13 veranschaulicht. In dieser Abbildung

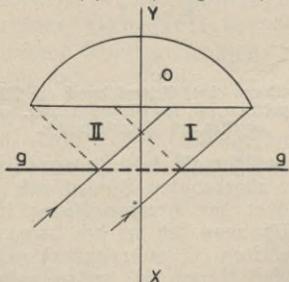


Abb. 13. Abbildung durch schiefe Beleuchtung.
I Hauptspektrum, II Nebenspektrum.

bedeuten die mit Pfeilspitzen versehenen Linien den Verlauf des beleuchtenden Strahlenbündels an, das aber diesmal nicht senkrecht zur Gitterebene $g-g$ und parallel zur Achse $x-y$ des Objektivs auffällt, sondern unter einem Winkel, der gleich dem halben Öffnungswinkel des Objektivs angenommen werden soll. Die numerische Apertur des Beleuchtungsbündels ist also gleich der numerischen Apertur des Objektivs.

Unter diesen Verhältnissen wird noch ein Nebenspektrum (II) vom Objektiv aufgenommen, das gegen das Hauptpektrum um den Betrag des gesamten Öffnungswinkels des Objektivs geneigt ist. Dadurch wird der auflösbare Streifenabstand auf die Hälfte des Wertes herabgesetzt, der bei zentraler Beleuchtung noch getrennt wird. Bei einem Immersionsobjektiv sinkt dieser Wert auf

$$\delta = \frac{\lambda}{2 \cdot a} = \frac{\lambda}{2 \cdot 1,4}$$

wobei vorausgesetzt wird, daß sich das Gitter in einem entsprechend dichten optischen Mittel be-

findet und zum Zweck der Beleuchtung mit einem Strahlenbündel von der numerischen Apertur 1,4 besondere Hilfsmittel angewendet werden, beispielsweise ein Abbescher Kondensator von großer numerischer Apertur.

Es ist zwar nicht unmöglich, wohl aber außerordentlich schwierig, auf künstlichem Wege Gitter mit derart geringem Streifenabstand herzustellen, daß zu ihrer Auflösung die volle Leistungsfähigkeit der modernen Objektive in Kraft treten muß. Dafür gibt es jedoch gewisse natürliche Objekte, die als Ersatz benutzt werden können, z. B. die Diatomeenart *Suirella gemma*, deren Querstreuung eine gitterähnliche Anordnung von äußerst feiner Struktur aufweist. Diese Diatomee wird deshalb allgemein als Testobjekt für Immersionsobjektive (bei gerader Beleuchtung) und starke Trockensysteme (bei schiefer Beleuchtung) benützt.

Nach Abbe beruht die mikroskopische Abbildung eines Objekts, das Strukturbildung hat und durch eine besondere Lichtquelle beleuchtet wird, auf der Interferenz des Lichtes. Bei dem Abbildungsvorgang tritt eine Zweiteilung der Wirkungen von Hauptpektrum und Nebenspektren ein. Das Hauptpektrum ist die Ursache der Entstehung des hellen Feldes, das durch die Okularblende begrenzt wird und von dem sich die mikroskopischen Objekte von größerer (flächhafter) Ausdehnung in ihren Umrissen und Farbtonungen abheben. Besitzen diese Objekte eine Struktur, so ist deren Wahrnehmung so lange unmöglich, als nicht außer dem Hauptpektrum noch ein Nebenspektrum vom Objektiv aufgenommen wird, dessen Strahlen durch Interferenz mit denen des Hauptpektrums in der Bildebene die Struktureinzelheiten in das Objekt einzeichnen. Die Art dieser Bildentstehung bezeichnet man als negative Abbildung oder Abbildung durch Hellfeldbeleuchtung.

Trägt man dafür Sorge, daß das Zustandekommen des hellen Feldes verhindert wird, indem man (bei zentraler Beleuchtung) das Hauptpektrum durch Blenden im Objektiv zurückhält oder (bei schiefer Beleuchtung) die Apertur des beleuchtenden Bündels größer wählt, als die des Objektivs, so daß nur die Nebenspektren in das Objektiv gelangen und in der Blendenebene des Okulars zur Wirkung kommen können, so entsteht das positive Bild des Objekts oder die Abbildung im dunklen Felde. Bei der Entstehung des positiven Bildes müssen aber mindestens zwei der abgebeugten Bündel zur Geltung kommen. Ein Nebenspektrum allein liefert kein Bild der Struktur.

Die Dunkelfeldbeleuchtung kann bei Mikroskopen, die mit einem Abbeschen Kondensator versehen sind, in höchst einfacher Weise dadurch erzielt werden, daß in einen eigens zu diesem Zwecke angebrachten, ausklappbaren Rahmen eine sogenannte Sternblende eingelegt wird, die den mittleren Teil des Kondensators bis zu einer bestimmten numerischen Apertur abblendet. Das Objektiv, das zur Beobachtung verwendet wird, darf keine höhere numerische Apertur besitzen, als die, bis zu welcher der Kondensator abblendet ist. Dann gehen die äußeren, nicht abgeblendeten Beleuchtungsstrahlen an der Fassung des Objektivs vorbei und auch die Hauptpektren, die ja in derselben Richtung wie die beleuchtenden Strahlen

ihren Weg fortsetzen, können nicht in das Objektiv eintreten. Diese Art der Beleuchtung mit Strahlenbündeln größerer numerischer Apertur und Abbildung durch Bündel geringerer Apertur spielt auch als ultramikroskopische Dunkelfeldbeleuchtung die größte Rolle.

II. Die Abbildung selbstleuchtender Objekte.

Die Abbildung selbstleuchtender Objekte durch das Mikroskop hat Helmholtz²⁾ theoretisch behandelt. Fast gleichzeitig und unabhängig von Abbe beschäftigte er sich mit der Frage der Auflösbarkeit gitterförmiger Objekte, die er aber als selbstleuchtend annahm. Er stützte sich auf die Ergebnisse, die die beugungstheoretische Behandlung der Abbildung selbstleuchtender Objekte durch ein Fernrohr gezeitigt hatte und stellte fest, daß das Mikroskop nicht imstande ist, ein Gitter, dessen Streifenabstand δ kleiner als $\lambda/2a$ gewählt wird, aufzulösen. Es bestätigte sich wiederum, daß die numerische Apertur a des Mikroskopobjektivs auch bei selbstleuchtenden Objekten für das Trennungsvermögen ausschlaggebend ist. Die Auflösungsfähigkeit des Mikroskops bei selbstleuchtenden Objekten ist also durchaus nicht größer als bei Objekten, die durch eine besondere Lichtquelle beleuchtet werden.

Erst in neuerer Zeit sind Mikroskope bekannt geworden, bei denen die Objekte selbstleuchtend im eigentlichen Sinne des Wortes sind. Das erste ist das Heizmikroskop nach Doelter, bei dem die bis auf etwa 1600° erhitzten Objekte in eigenem Lichte strahlen. Die zweite ist das nach Angaben des Verfassers gebaute Fluoreszenzmikroskop.

Dagegen hat die wissenschaftliche und praktische Optik auf einem anderen Gebiet schon oft Gelegenheit gehabt, sich mit der Abbildung selbstleuchtender Objekte zu befassen, nämlich in der Fernrohroptik, soweit sie astronomischen Zwecken dient. Alle Himmelskörper sind selbstleuchtende Gebilde, auch die von der Sonne beleuchteten Planeten und deren Trabanten sind praktisch als selbstleuchtend anzusehen. Bei ihrer Abbildung durch das Fernrohr spielt die Beugung des Lichtes ebenfalls eine große Rolle. Schon Herschel stellte mit Hilfe seines vollkommenen Spiegelfernrohrs fest, daß das Bild eines Fixsternes ein sogenanntes Beugungsscheibchen ist. Es besteht aus einem hellen Kern, der von einer Anzahl heller Ringe umgeben ist, deren Leuchtkraft mit wachsender Entfernung vom Kern rasch abnimmt. Später fand diese Erscheinung ihre theoretische Erklärung. Dabei ergab sich, daß die Größe dieses Beugungsscheibchens mit wachsendem Objektivdurchmesser abnimmt und daß überhaupt die Auflösungsfähigkeit des Fernrohrs, die hauptsächlich bei der Trennung von Doppelsternen in Frage kommt, abgesehen von den optischen Unvollkommenheiten des Instruments, eine Funktion der lichten Weite des Objektivs ist.

Was beim Fernrohr der Objektivdurchmesser ist, das ist beim Mikroskop die numerische Apertur. Als Funktion eines Winkels, der nicht größer sein kann als 90° , hat die numerische Apertur also einen Grenzwert, den zu überschreiten unmöglich ist, während beim Fernrohr nur die Schwierigkeiten der praktischen Ausführung der Auflösungsfähigkeit eine Grenze setzen.

Seimstädt, Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie.

III. Die Abbildung punktförmiger ultramikroskopischer Objekte.

Trifft ein Lichtbündel, dessen Hauptstrahl die Richtung a hat (Abb. 14), ein in einem luftförmigen, flüssigen oder festen Medium befindliches Teilchen, dessen Dimensionen nach allen Richtungen hin kleiner sind als die halbe Wellenlänge des Lichtes, so verhält sich dieses Teilchen ähnlich wie eine sehr kleine Lichtquelle, von der als Mittelpunkt nach allen Richtungen des Raumes Kugelwellen ausgehen. Es ist also gerade so, als

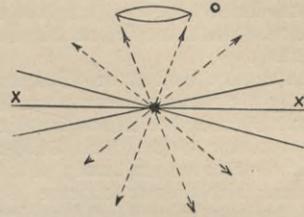


Abb. 14. Beugung an einem kleinen Teilchen. $x\ x'$ Achse des Beleuchtungsstrahls, o Beobachtungsobjektiv.

ob das Teilchen selbstleuchtend wäre. In Abb. 14 ist das Zentrum des kleinen Kreises der Ort des Teilchens; die von ihm ausgehenden Lichtstrahlen sind durch punktierte Linien angedeutet.

Die Zerstreuung des Lichtes durch das Teilchen erfolgt einzig und allein durch Beugung. Von Reflektion oder Brechung kann hier keine Rede sein, weil diese beiden Vorgänge nur an Körpern oder Flächen ablaufen können, deren Begrenzungen größer sind als die Wellenlänge des Lichtes. An die Stelle einer objektgetreuen Abbildung durch das Objektiv o , das je nach der Größe seiner numerischen Apertur einen mehr oder minder großen Keil aus der Kugelwelle aufnimmt, tritt das Beugungsbild des Teilchens, das seiner Entstehung nach identisch mit dem vorher beschriebenen Beugungsscheibchen eines Fixsternes im Fernrohr ist. Es ist kein Bild im eigentlichen Sinne des Wortes, sondern nur ein Lichtsignal, ein Zeichen, das davon Kunde gibt, daß sich an dem Ort, der durch das Beugungsscheibchen im Gesichtsfelde des Mikroskops bezeichnet wird, ein sehr kleines Teilchen befindet, das die gradlinige Ausbreitung des Lichtes hindert. Solche kleinen Teilchen, die nur durch abgebeugtes Licht im Mikroskop sichtbar gemacht werden können und deren Abbild ein von der Form des Teilchens unbeeinflusstes Beugungsscheibchen ist, bezeichnet man als ultramikroskopisch.

Die Größe des Scheibchens läßt nur bedingt einen Rückschluß auf die Größe des ultramikroskopischen Teilchens zu. Die Scheibchengröße ist nämlich von mehreren Faktoren abhängig, insbesondere von der numerischen Apertur des Beobachtungsobjektivs, der Intensität der Lichtquelle und der Lichtstärke des Kondensors. Nur unter sonst gleichen Verhältnissen, wenn sich z. B. die Teilchen in demselben Präparat nahe beieinander befinden, entspricht dem größeren Beugungsscheibchen auch eine höhere Teilchengröße. Nach Rayleigh sinkt die Intensität des abgebeugten Lichtes mit dem Quadrat des Teilchenvolumens, bei einem kugelförmigen Teilchen also mit der sechsten Potenz seines Durchmessers. Zerstreut beispielsweise ein

Teilchen mit einem bestimmten Durchmesser X eine Lichtmenge 1, so sendet ein anderes, gleichgeartetes mit dem Durchmesser $\frac{1}{2} X$ nur $\frac{1}{64}$ der Lichtmenge des Ersteren aus.

Die Form des Beugungscheibchens ist, wie schon angeführt, von der Gestalt des ultramikroskopischen Teilchens, dem es seine Entstehung verdankt, gänzlich unabhängig. Die Anzahl der Beugungsringe, die den hellen Kern des Beugungscheibchens umgeben, ist unter sonst gleichen Verhältnissen durch die Intensität bestimmt, mit der das Teilchen leuchtet. Kleinere oder weniger intensiv beleuchtete Teilchen zeigen eine geringe Anzahl schwach leuchtender Beugungsringe, manchmal nur einen. Mitunter fehlen die Beugungsringe auch ganz.

Die kreisförmige Gestalt des Beugungscheibchens ist durch die immer kreisrunden Eintrittspupillen bzw. Blenden des Mikroskopobjektivs bedingt. Die wirkliche Gestalt des Teilchens kann nadel-, plättchen- oder walzenförmig sein; das Beugungscheibchen wird immer dieselbe kreisrunde Form zeigen, wenn es nicht durch Anbringung von Blenden, die von der üblichen Kreisform abweichen, deformiert wird.

Die Intensität des abgelenkten Lichtes ist für Licht von verschiedener Wellenlänge (Farbe) ebenfalls verschieden. Sie nimmt mit abnehmender Wellenlänge zu und zwar wächst sie in umgekehrtem Verhältnis zu der vierten Potenz der Wellenlänge des beleuchtenden Lichtes. Ultramikroskopische Teilchen, die ausschließlich mit violettem Licht von einer Wellenlänge von $0,4 \mu$ bestrahlt werden, senden, gleiche Intensität der Beleuchtung vorausgesetzt, ungefähr zehnmal mehr Licht aus, als wenn sie mit rotem Licht von der Wellenlänge $0,7 \mu$ beleuchtet werden würden. Daraus folgt, daß ultramikroskopische Teilchen von sehr kleinen Abmessungen hauptsächlich die kurzwelligeren Strahlen des sichtbaren Spektrums abbeugen und durch diese sichtbar werden. Doch ist die Teilchengröße für die Farbe des abgelenkten Lichtes nicht allein maßgebend; vielmehr spielen dabei auch noch andere Faktoren, die zur Zeit noch nicht klargestellt sind, eine große Rolle.

Die Abhängigkeit der Intensität des abgelenkten von der Wellenlänge des beleuchtenden Lichtes ladet förmlich dazu ein, das Objekt mit möglichst kurzwelligem Licht zu bestrahlen und auch abzubilden. Von P. P. von Weimarn ist der Vorschlag gemacht worden, die ultramikroskopischen Objekte ausschließlich mit Licht von einer Wellenlänge unter $0,3 \mu$, also mit ultravioletttem Licht, zu beleuchten und die Abbildung mit Hilfe der Photographie unter Anwendung von Quarzglasobjektiven und Quarzokularen, die für Ultraviolett von der angegebenen Wellenlänge durchlässig sind, zu bewerkstelligen, wie dies Köhler für mikroskopische Objekte bereits mit großem Erfolge durchgeführt hat. Leider zeigte es sich, daß dieser Vorschlag bei dem derzeitigen Stande der Technik nicht ausführbar ist, denn die Versuche, die Verfasser nach dieser Richtung hin angestellt hat, scheiterten an der Unzulänglichkeit der zur Verfügung stehenden Hilfsmittel.

Weiter oben wurde gesagt, daß sich die ultramikroskopischen Teilchen bei starker, seitlicher Beleuchtung ähnlich verhalten, als ob sie selbstleuchtend wären. In Wirklichkeit weicht ihr Ver-

halten von dem einer selbstleuchtenden kleinen Lichtquelle in mehr als einer Beziehung beträchtlich ab. Zunächst ist die Intensität der Ätherschwingungen einer Kugelwelle, die von einem durch Bestrahlung „selbstleuchtend“ gemachten, kleinsten Teilchen ausgeht, nach allen Richtungen des Raumes nicht gleich, im Gegensatz zu der von einem wirklich selbstleuchtenden Objekt ausgehenden. Sie ist am stärksten in der Richtung, die das beleuchtende Strahlenbündel hat und nimmt umso mehr ab, je größer die Neigung der abgelenkten Strahlen zur Richtung der beleuchtenden ist.

Ferner ist das von sehr kleinen Teilchen abgelenkte Licht polarisiert, es kann also durch Einschaltung eines Nicols zwischen Auge und Objekt vollkommen ausgelöscht werden. Nach Tyndall ist die Polarisation des abgelenkten Lichtes um so vollkommener, je kleiner die Teilchen sind.

IV. Die Abbildung fadenförmiger ultramikroskopischer Objekte.

Neben den punktförmigen, ultramikroskopischen Objekten, die nach allen Richtungen hin kleiner sind, als die halbe Wellenlänge des Lichtes, gibt es noch eine andere Art ultramikroskopischer Objekte, die in der Praxis der Ultramikroskopie eine nicht geringe Rolle spielen: fadenförmige, meist natürliche Gebilde, deren Längenausdehnung von mikroskopischer Größe und darüber ist, während ihre Breite und Höhe, bei fadenförmigen Objekten also ihre Dicke, ultramikroskopisch, mithin kleiner als die halbe Wellenlänge des Lichtes sind. Objekte dieser Art sind gewisse feine Bakterienarten, z. B. *Spirochaeta pallida*, ferner die Bewegungsorgane (Geißeln) mancher größerer Bakterienarten usw. Zur Beobachtung dieser Objekte in ihrem natürlichen Zustande kommt nur die Ultramikroskopie, insbesondere in ihrer Ausbildungsform mit Spiegelkondensoren, in Frage. Wenn diese Objekte nicht zum Zwecke der Sichtbarmachung bei gewöhnlicher mikroskopischer Beleuchtung im hellen Felde besonders behandelt (gefärbt) sind, stellen sie durchsichtige oder durchscheinende Körperchen dar, die sich durch ihr optisches Verhalten, hauptsächlich durch ihr Brechungsvermögen, von dem Mittel, in das sie für die mikroskopische Beobachtung eingebettet sind, wesentlich unterscheiden. Die Verschiedenheit der Brechungsindices ist es vornehmlich, die die Störung in der regelmäßigen Ausbreitung des Lichtes, die Beugung, hervorruft. Durch Kontrastwirkung gegenüber dem dunklen Hintergrund gelangen die Objekte zur Wahrnehmung.

Die fadenförmigen ultramikroskopischen Objekte kann man als eine Aneinanderreihung punktförmiger Teilchen ansehen, deren Abstand weit unter der Auflösungsgrenze des Mikroskops liegt. Die Gesetze der Abbildung solcher Objekte im dunklen Felde sind von Siedentopf⁴⁾ näher untersucht worden. Siedentopf zeigte, daß die Sichtbarmachung eines fadenförmigen ultramikroskopischen Objekts von der Richtung der beleuchtenden Strahlen zur Längenausdehnung des Objekts abhängig ist, mit anderen Worten, daß das Azimut der Beleuchtung eine ausschlaggebende Rolle spielt und daß je nach der Richtung der beleuchtenden Strahlen zu dem fadenförmigen Ob-

jetzt entweder Zylinderwellen (senkrechtcs Azimut) oder Kegelwellen (schiefes Azimut) vom Objekt ausgehen.

In Abb. 15A sei die Linie a b ein kleines Stück eines linienförmigen, ultramikroskopischen Objekts, das in der Brennebene des Mikroskops liegt. Die Achse des Mikroskops gehe durch den Punkt c. Sie sei senkrecht zur Papierebene gerichtet. Der ausgezogene Kreis um c stelle schie-

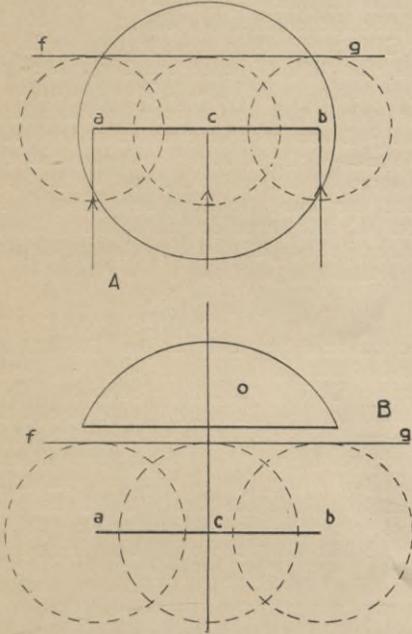


Abb. 15 A und B. Entstehung einer Zylinderwelle bei senkrechtem Azimut nach Siedentopf.
 A. Darstellung des Vorganges in der Ebene der Beleuchtungsachse. ab Objekt, der ausgezogene Kreis um den Punkt c = Objektivöffnung, fg Mantel der Zylinderwelle.
 B. Darstellung des Vorganges in der Ebene der Mikroskopachse. o Mikroskopobjektiv, die and. Buchstaben wie oben.

mäßig die Öffnung des Mikroskopobjektivs dar, das sich über der Zeichenebene befindet. Das Objekt a b werde durch ein paralleles Lichtbündel, das durch die mit Pfeilspitzen versehenen Linien angedeutet ist, von der Seite her beleuchtet, so daß die beleuchtenden Strahlen senkrecht zu a b und zur Achse des Mikroskops selbst verlaufen (Schema nach Abb. 5). Dann gehen von jedem einzelnen Punkt des Objekts kugelförmige Wellenzüge, sogenannte Elementarwellen, aus, die sich nach dem Huygensschen Prinzip zu einer anderen Wellenform, einer Zylinderwelle, zusammensetzen. D. h., die Orte gleicher Energieverteilung liegen nicht mehr auf einer Kugelfläche, sondern auf dem Mantel eines Zylinders, dessen Achse mit der Richtung des fadenförmigen Objektes zusammenfällt. Die punktierten Kreisstücke um a, c und b bezeichnen die Elementarwellen, die diese Punkte durch Beugung erzeugen, und die Linie f g, die Einhüllende sämtlicher Kreise von gleichem Durchmesser, deren Mittelpunkte die Linie a b enthält, gibt die Gestalt der neuen Welle an, die sich senkrecht zu f g im Raume fortpflanzt.

Aus Abb. 15 B geht unmittelbar hervor, daß das Mikroskopobjektiv o, ganz gleich, welche nume-

rische Apertur es hat, einen Teil der Zylinderwelle aufnehmen muß. Bei dieser Lage des Beleuchtungsbündels, also bei senkrechtem Azimut, findet eine Abbildung des fadenförmigen Objekts auf jeden Fall statt.

Bleibt die Lage der Nadel gegenüber der Mikroskopachse unverändert, ändert sich aber das Azimut der beleuchtenden Strahlen, so entstehen andere Verhältnisse, die durch Abb. 16 A veranschaulicht werden. Es sei a b wiederum ein Stück des fadenförmigen Objektes, das jetzt aber durch ein Strahlenbündel beleuchtet werden soll, dessen Azimut erheblich kleiner ist, sich also der Nullstellung, die parallel zur Richtung des Fadens angenommen ist, nähert. Der am weitesten nach rechts gelegene Strahl, der den Punkt b trifft, erzeugt durch Beugung eine Elementarwelle um b, deren Radius b x sein möge. Der mittlere Strahl des Beleuchtungsbündels, der den Punkt c trifft, ruft, weil er zu einem späteren Zeitpunkt am Objekt anlangt, eine Beugungswelle hervor, deren Radius c y um das Stück c d kleiner ist als b x. Zu derselben Zeit am wenigsten fortgeschritten ist die Beugungswelle um a, deren Radius a z

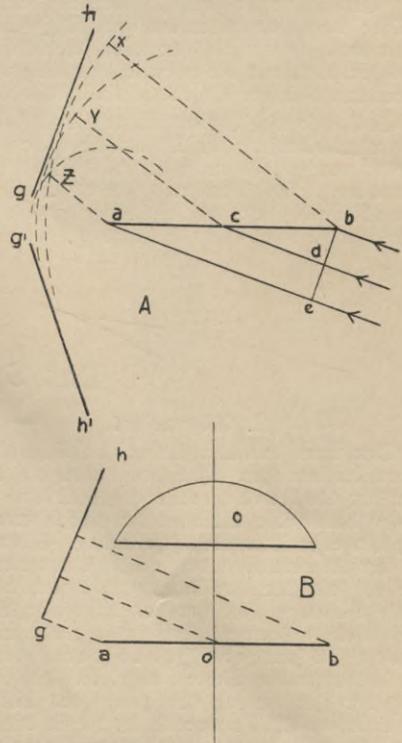


Abb. 16/17 (A u. B). Entstehung einer Kegelwelle bei schiefem Azimut nach Siedentopf.
 A. Darstellung des Vorganges in der Ebene der Beleuchtungsachse. Die Kreisstücke mit den Radien az, cy und bx stellen Elementarwellen dar, die sich zu der Kegelwelle mit der Mantellinie gh zusammensetzen.
 B. Darstellung des Vorganges in der Ebene der Mikroskopachse.

um die Strecke a e kürzer ist als b x. Konstruiert man jetzt die Einhüllende aller dieser Kreise, so findet man, daß sie den Mantel eines Kegels darstellt, der das fadenförmige Objekt zur Achse hat. Die Fortpflanzung der Wellenenergie erfolgt senk-

recht zur Fläche des Kegelmantels gh , bzw. $g_1 h_1$; die Welle wird zu einer Kegelmelle.

Aus Abb. 16 B geht hervor, daß eine abgebeugte Welle, deren Azimut der Beleuchtung eine bestimmte Größe unterschreitet, nicht in das Objektiv o des Mikroskops gelangen und also auch keine Abbildung des fadenförmigen Objektes bewirken kann. Bei senkrechter Anordnung der Achsen von Beobachtungs- und Beleuchtungssystem muß das Azimut der Beleuchtung größer sein als das Komplement des Winkels, dessen Sinus die numerische Apertur des Mikroskopobjektivs ist. Ist das Azimut der beleuchtenden Strahlen gleich Null, liegt der Faden also parallel zur Achse des Beleuchtungsbündels, so ist selbst mit einem Mikroskopobjektiv höchster Apertur eine Sichtbarmachung des Objektes ausgeschlossen.

Enthält ein Präparat faden- oder nadelförmige Objekte von ultramikroskopischer Dicke, so werden, wenn der Azimutbereich des beleuchtenden Strahlenbüschels gering ist (Spaltultramikroskop), nur die Fäden oder Nadeln abgebildet, die senkrecht oder nur wenig geneigt gegen die einfallenden Strahlen liegen. Bei höherer Apertur des Beobachtungsobjektivs werden auch die schräger liegenden fadenförmigen Objekte wahrgenommen, doch sind sie schon merklich lichtschwächer, während die parallel zur Richtung der Beleuchtungsbündel liegenden unsichtbar bleiben.

Soll also ein Ultramikroskop auch fadenförmige ultramikroskopische Objekte in allen Lagen sichtbar machen, so muß der Kondensor für die Beleuchtung im dunklen Felde dem Objekt Strahlen aller Azimute zuführen. Das wäre also die siebente Bedingung, der ein voll-

kommenes Ultramikroskop genügen muß. Diese Bedingung wird ebenfalls nur von den Ultramikroskopen, die mit Spiegelkondensoren versehen sind, erfüllt.

Befinden sich zwei oder mehrere faden- oder linienförmige Objekte nahe beieinander in der Brennebene eines Ultramikroskops, und zwar so, daß sie parallel zu einander liegen, so können sie nur dann getrennt von einander wahrgenommen werden, wenn ihr Abstand größer ist als eine halbe Wellenlänge des Lichtes. Ist die Dicke dieser Objekte sehr klein gegen die Wellenlänge des Lichtes, ihr Abstand aber ein Mehrfaches ihrer Dicke, so verhalten sie sich wie selbstleuchtende Objekte, die je nach dem Azimut der beleuchtenden Bündel Zylinder- oder Kegelmellen aussenden. Im umgekehrten Fall, d. h. bei größerer Dicke und geringerem Abstand, sind sie als Gitter zu betrachten, die schief zur Achse des Mikroskops beleuchtet sind und daher Beugungsfächer aussenden. In beiden Fällen gilt aber die bekannte Beziehung für das Auflösungsvermögen

$$\delta = \frac{\lambda}{2a}$$

Dieser Ausdruck hat auch für das Trennungsvermögen des Ultramikroskops in bezug auf punktförmige Objekte Geltung. Befinden sich zwei ultramikroskopische Teilchen infolge mechanischer oder dynamischer Kuppelung in einem Abstand von einander, der kleiner ist als die halbe Wellenlänge des Lichtes, so erzeugen sie nur ein gemeinsames Beugungsfächerchen und können nicht getrennt beobachtet werden. Das Ultramikroskop hat demnach die Auflösungsgrenzen des Mikroskops nicht erweitert.

Drittes Kapitel.

Das Spaltultramikroskop.

I. Allgemeines.

Den unmittelbaren Anlaß zur Schaffung der ultramikroskopischen Methoden haben die Bedürfnisse der Kolloidchemie gegeben. Auf diesem Gebiet haben die ultramikroskopischen Methoden auch ihre erste Anwendung gefunden. Schon lange vor der Konstruktion des ersten Ultramikroskops war es fast zur Gewißheit geworden, daß der diffuse Lichtkegel, welcher bei intensiver Bestrahlung mittels Sonnenlichtes in sogenannten kolloiden Lösungen (Hydrosohlen) den Weg des bestrahlenden Lichtes anzeigte, seine Entstehung der Zerstreuung (Beugung) des Lichtes an den kleinsten Teilchen verdankt, die in diesen Lösungen in großer Zahl vorkommen. Hydrosole sind wässrige Lösungen, die irgend einen festen Körper, z. B. reine Metalle oder deren Verbindungen, Farbstoffe, Eiweiß u. dergl., in feinsten Zerteilung enthalten. Den Gegensatz zu den kolloiden bilden die Kristalloiden Lösungen, in denen der gelöste Körper bis zur vollständigen Homogenität zerteilt ist, wobei seine einzelnen Moleküle sich vollkommen getrennt in dem Lösungsmittel befinden (Kochsalzlösungen usw.). Im Gegensatz dazu treten in kolloiden Lösungen die Teilchen des gelösten Körpers immer nur als

Molekülgruppen auf, deren Kleinheit aber mit der mancher Moleküle (Stärke) wetteifert.

Die Teilchen in einer kolloiden Lösung, die mit Hilfe des Mikroskops bei Anwendung der Dunkelfeldmethoden sichtbar gemacht werden können, bezeichnet man nach einem Vorschlage Siedentopfs als Submikronen. Ihre Größe reicht von $0,006 \mu$ bis zur Grenze der mikroskopischen Auflösung, etwa $0,25 \mu$. Teilchen unter $0,006 \mu$, die selbst mit Hilfe des Ultramikroskops nicht mehr wahrgenommen werden können, und ihre Anwesenheit nur durch einen sehr schwachen Zerstreuungskegel verraten, werden als amikroskopisch bezeichnet und Amikronen genannt. Das Dasein von Amikronen kann dadurch nachgewiesen werden, daß man sie durch Zusatz von Elektrolyten zum Zusammentritt, zur Koagulation, bringt, wobei dann Submikronen entstehen, die leicht sichtbar gemacht werden können. Amikronen und Submikronen werden unter der Bezeichnung „Ultramikronen“ zusammengefaßt.

Für die Ultramikroskopie haben die Hydrosole, die schwere Metalle oder ihre Verbindungen mit Sauerstoff oder Schwefel in fein zerteiltem Zustande enthalten, besondere Bedeutung. Hauptsächlich trifft dies für die kolloiden Goldlösungen

zu, weil die große optische Verschiedenheit insbesondere des Brechungsvermögens zwischen den gelösten Goldteilchen und dem Lösungsmittel, dem Wasser, günstige Bedingungen für die Sichtbarmachung der Ultramikronen schafft. Kolloide Goldlösungen können auf zweierlei Art hergestellt werden. Entweder auf chemischem Wege, z. B. durch Auflösung reinen Goldes in Königswasser (1 Teil Salpetersäure + 2 Teile Salzsäure) oder auf elektrischem Wege, durch Zerstäubung des Metalls nach Bredig.⁵⁾ Andere Metalle, z. B. Platin und Silber, zeigen als Kolloide trotz ihrer nahen Verwandtschaft mit dem Gold ein wesentlich anderes optisches Verhalten. Außer in den wässrigen und flüssigen Lösungen können auch noch feine Zerteilungen von Körpern in festen, glasartigen Medien vorkommen. Ein Beispiel dafür bieten die bekannten Goldrubingläser, in denen feinzerteiltes Gold in Glas als Lösungsmittel auftritt. Die optischen Verhältnisse sind hierbei dieselben wie in den Goldhydrosofen, so daß auch die Goldrubingläser in optischer Hinsicht sehr dankbare Untersuchungsobjekte darstellen. Zu den festen kolloiden Lösungen gehören auch einige Arten von Halbedelsteinen, z. B. der Opal.

Für die Annahme, daß das diffuse Licht, das eine stark beleuchtete kolloide Lösung ausstrahlt, durch Zerstreuung an den einzelnen kleinsten Teilchen der gelösten Substanz erzeugt wird, sprach hauptsächlich der Umstand, daß dieses Licht sich bei näherer Untersuchung als polarisiert erwies. Durch Einschaltung eines Nicol'schen Prismas konnte das ausstrahlende Licht des Zerstreuungskegels ausgelöscht und so leicht der Beweis erbracht werden, daß die Fluoreszenz bei der Entstehung des Lichtkegels in dem bestrahlten Objekt keine Rolle spielt. Tyndall, der diese nach ihm benannte Erscheinung entdeckte, erklärte auf dieser Grundlage die Farbe und Polarisation des Himmelslichtes.

Zsigmondy war der erste, dem der experimentelle Nachweis gelang, daß der Tyndall'sche Lichtkegel durch Beugung an den in flüssigen oder festen kolloiden Lösungen vorhandenen einzelnen Teilchen entsteht. Angeregt durch Versuche Zizeaus und Ambronn's, die zeigten, daß ein Spalt von ultramikroskopischer Breite dadurch sichtbar gemacht werden kann, daß man ihn durch eine starke Lichtquelle beleuchtet, ging Zsigmondy daran, den Beugungskegel in einer Goldlösung mit Hilfe des Mikroskops zu betrachten. Die Versuchsanordnung, die er verwendete, war identisch mit jener, die durch Abb. 5 veranschaulicht wird. Zsigmondy untersuchte auf diese Weise, unter Anwendung des Sonnenlichtes, zunächst Goldlösungen, die größere Zerteilungen enthielten, deren einzelne Teilchen aber doch noch beträchtlich unter der Auflösungsgrenze des Mikroskops lagen. Er fand, daß der Raum, den der in die Lösung projizierte Keil der Sonnenstrahlen erfüllte, bei 100facher Vergrößerung unzählige, stark glänzende Teilchen aufwies, die in äußerst lebhafter Bewegung begriffen waren. Bei feineren Zerteilungen und stärkeren Vergrößerungen verfiel diese primitive Methode, weil sie offensichtlich gegen die vierte Bedingung (siehe S. 11), die Beschränkung des erleuchteten Raumes auf die „Sehtiefe“, verstieß.

Nichtsdestoweniger war Zsigmondy überzeugt,

daß es ihm bei entsprechender Verbesserung der Methode gelingen würde, noch feinere Zerteilungen mit stärkeren Vergrößerungen der direkten Beobachtung zugänglich zu machen. Zu diesem Zwecke setzte er sich mit den optischen Werken von Carl Zeiß in Jena in Verbindung und arbeitete dann mit H. Siedentopf eine wesentlich vollkommene Einrichtung zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen, das sogenannte Spaltultramikroskop, aus.

II. Einrichtung des Spaltultramikroskops.

Die hauptsächlichste Verbesserung, die Siedentopf⁶⁾ einführte, bestand in der Einschaltung eines Präzisionsspaltes in den Gang der beleuchtenden Strahlenbündel, wie es Abb. 7 veranschaulicht. Abb. 18 stellt die Spalteinrichtung dar.

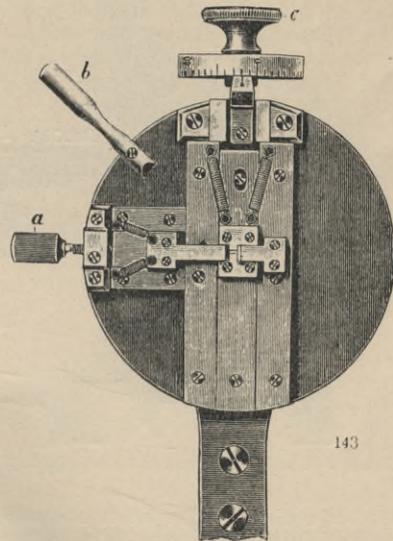


Abb. 18. Spalttopf, a Schraube zur Begrenzung der seitlichen, c zur Höhenabmessung des Spaltes, b Griff zum Drehen des Spaltes in einer Ebene. (Nach C. Zeiß, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 3, S. 7.)

Durch Mikrometerschrauben läßt sich die Entfernung der Spaltbäden auf einige Hundertstel Millimeter herabmindern; die jeweilige Spaltbreite kann mit Hilfe der mit Teilung versehenen Trommel C festgestellt werden. Die seitliche Ausdehnung des Spaltes läßt sich durch zwei mittels des Triebknopfes a horizontal verschiebbare Bäden in dem Ausmaße von 2–0,1 mm begrenzen und durch eine zweite Trommel feststellen. Ferner ist die Ebene des Spaltes um 90° drehbar, damit auch die Höhe seines Bildes im Präparat mit Hilfe eines Mikrometerokulars ermittelt werden kann.

Die zur Beleuchtung notwendigen Hilfsapparate sind beim Spaltultramikroskop nach Siedentopf und Zsigmondy auf einer optischen Bank genau zentriert aufgestellt. Die von der Lichtquelle (Sonne oder Starkstrombogenlampe) kommenden Strahlen werden durch ein Fernrohrobjektiv F_1 auf den Spalt konzentriert. Der sehr hell leuchtende Spalt wird dann durch die übrigen optischen Behelfe, ein Fernrohrobjektiv F_2 von 80 mm Brennweite und ein Mikroskopobjektiv

mit einer Brennweite von etwa 17 mm und einer numerischen Apertur von 0,3, die zusammen eine Art umgekehrten Mikroskops vorstellen, in etwa vierzigfacher Verkleinerung abgebildet. Die Entfernung des Spaltes vom Fernrohrobjektiv F_2 beträgt ungefähr 400 mm, die von F_2 bis zur Öffnung des als Kondensor dienenden Mikroskopobjektivs etwa 220 mm. Zeigen also die beiden Trommeln des Spaltkopfes eine Spaltbreite von 0,12 und eine seitliche Ausdehnung von 0,4 an, so beträgt die wirkliche Größe des Spaltbildes im Präparat der Höhe nach $0,12/40 = 3 \mu$ und nach der Seite $0,4/40 = 10 \mu$.*

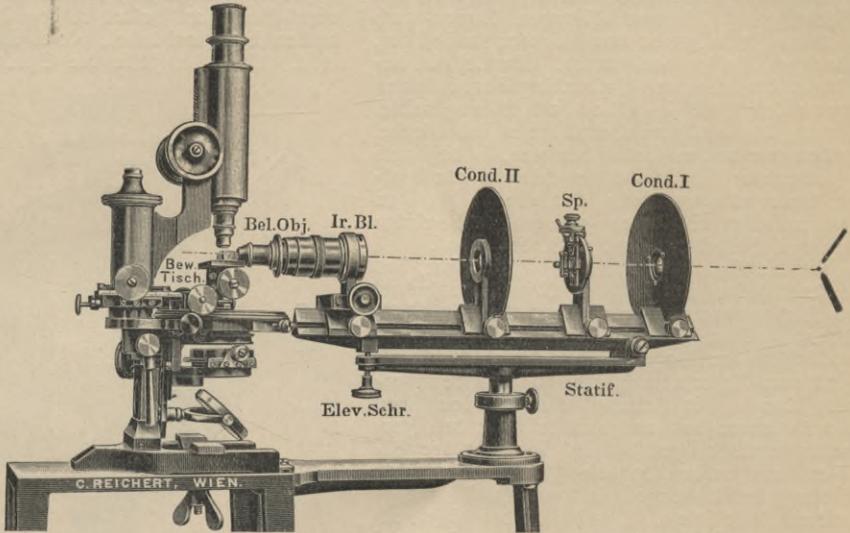


Abb. 19. Spaltultramikroskop nach Siedentopf und Zsigmondy in der Reichertschen Ausführung.

Am Ende der optischen Bank findet das aufrechtstehende Mikroskop auf einem Sockel Platz. Zur genauen Zentrierung der Achse des beleuchtenden Bündels gegen die Achse des Mikroskops ist der Kondensor durch eine seitlich wirkende Mikrometerschraube verstellbar. Durch eine zweite, in der Richtung der Achse des Beleuchtungsbündels arbeitende Mikrometerschraube kann die Stelle der engsten Einschnürung des Beleuchtungskegels leicht in die Mitte des mikroskopischen Sehefeldes gebracht werden. Der Beleuchtungsapparat des Ultramikroskops wird noch durch eine Irisblende, die schädliches Nebenlicht abhalten soll, und eine Stenmeißenblende vervollständigt, die aber nur beim Gebrauch stärkerer Objektive, insbesondere bei Immersionen, in Wirksamkeit tritt und dazu bestimmt ist, die Bildung schädlicher Reflexe an der Objektivfassung zu verhindern. Zwischen die Irisblende und dem Spaltkopf kann ein Nicol'sches Prisma eingeschaltet werden, das die Beleuchtung des Objektes mit polarisiertem Licht gestattet. Abb. 19 zeigt, wie ein Spaltultramikroskop nach Siedentopf und Zsigmondy in Wirklichkeit aussieht und zwar in der Ausführungsform der Firma C. Reichert in

*) Die Brennweiten der beiden Hilfskinsen F_1 , F_2 sind später verkürzt worden, so daß die Anordnung wesentlich gedrängter wurde.

Wien. Von der ursprünglichen Einrichtung der Firma Carl Zeiß in Jena unterscheidet sich die Reichertsche Ausführung durch die besondere Anordnung des Beleuchtungsapparates, der auf einer verstellbaren optischen Bank montiert ist. Eine Hebeschraube, (in der Abbildung als Elev. (= Elevations-)Schraube bezeichnet), gestattet, die gesamte Beleuchtungseinrichtung in senkrechter Richtung zu verstellen. Ferner befindet sich die Irisblende an der Fassung des Beleuchtungsobjektivs, die wesentlich verlängert worden ist. Die übrigen Einzelheiten der Konstruktion lassen sich aus Abb. 19 unmittelbar entnehmen.

III. Untersuchung des Goldrubinglases mit Hilfe des Spaltultramikroskops.

Mit diesen vollkommenen Apparaten ausgerüstet, ging Zsigmondy an die Untersuchung des Goldrubinglases. Die rubinrote Färbung des Glases rührt von seinem Gehalt an feingerteiltem Golde her, dessen Einzelteilchen hauptsächlich grünes Licht abbeugen. Die Färbung des Goldglases in der Durchsicht ist komplementär zur Farbe des Lichtes, das seine kleinen, eingeschlossenen Bestandteile zerstreuen. Dieses Licht wird dadurch aus dem durchgehenden Lichtbündel ausgeschieden. Es gibt auch Goldgläser, die in der Durchsicht violett erscheinen, und deren Goldteilchen braunes Licht ausstrahlen. Die im Ultramikroskop auftretenden Beugungsscheibchen zeigen dann auch diese Färbung. Die Größe der Teilchen steht in keinem ersichtlichen Zusammenhang mit der Farbe des abgelenkten Lichtes, so daß ein Rückschluß von der Farbe des Beugungsscheibchens auf die Größe des lichtzerstreuenden Teilchens im Allgemeinen nicht zugänglich ist.

Die Herstellung der Goldgläser ist interessant genug, um kurz geschildert zu werden. Nach der ersten Schmelzung ist jedes goldhaltige Glas vollkommen farblos. Es enthält das Metall in so feiner Verteilung, daß die einzelnen Goldteilchen wahrscheinlich der molekularen Größe sehr nahe kommen. Selbst bei intensivster Bestrahlung ist

keine Spur abgelenkten Lichtes wahrzunehmen; das Glas ist optisch leer.

Die Färbung des Glases wird durch nochmalige Erhitzung (Anlaufenlassen) hervorgerufen. Durch diesen Prozeß treten die Goldteilchen zu größeren Molekülgruppen zusammen, die das durchgehende Licht in merklichem Maße abbeugen. Bei stärkerer, andauernder Erhitzung des Goldglases bilden sich noch größere Molekülkomplexe, die Licht aller Wellenlängen, also weißes Licht, abbeugen und demzufolge keine Färbung des Glases veranlassen, sondern eine mehr oder minder gleichmäßige Schwächung des durchgehenden Lichtes bewirken und auf diese Weise eine Trübung des Glases hervorrufen. Diese nur getrühten Goldgläser eignen sich wegen der beträchtlichen Größe der Teilchen, (bis zu $0,1 \mu$ und darüber) und der dadurch bedingten stärkeren Sichtbarkeit sehr gut zum Studium der verschiedenartigen Erscheinungen, die, wie z. B. der Polarisationszustand des abgelenkten Lichtes, ein besonderes physikalisches Interesse haben. Bevor die Goldgläser einer Untersuchung unterworfen werden können, müssen sie in eine annähernd würfelförmige oder parallelepipedische Form gebracht werden. Zwei zueinander senkrecht stehende Flächen des Glasstückes müssen fein geschliffen und poliert werden. Das ist mit ziemlichen Schwierigkeiten verbunden, weil die fremdartigen Einschlüsse die Narbenbildung begünstigen und die Herstellung einer tadellosen polierten Fläche fast unmöglich machen. Beiläufig gesagt, ist dies der Grund dafür, daß sich bei Goldgläsern und ähnlichen festen Objekten die Methode des „reellen Dünnschnittes“ nicht anwenden läßt. Das so hergerichtete Objekt wird auf einen kleinen Hilfstisch gelegt, der über dem Tisch des Mikroskopes angebracht ist. Wie Abb. 19 zeigt, ist dieser Hilfstisch (in der Abbildung als *Bew. Tisch* = Beweglicher Tisch bezeichnet) durch Zahn und Trieb in der Höhe verstellbar, damit Glasstücke von verschiedener Dide auf ihm untersucht werden können.

Außerdem kann er durch zwei seitlich zueinander angeordnete Triebchrauben nach zwei Richtungen der Tischebene verschoben werden. Nach vor- und rückwärts, um die Länge des Weges, den die beleuchtenden Strahlen im Präparat zurücklegen, nach Belieben verändern und nach der Seite, um verschiedene Stellen des Glasstückes nacheinander in den Beleuchtungskegel und das Gesichtsfeld des Mikroskops bringen zu können. Die Stirnfläche des Glasstückes muß möglichst senkrecht zur Achse des Beleuchtungsapparats stehen.

Von der genauen Zentrierung des Beleuchtungsteils zur Mikroskopachse überzeugt man sich, indem man das Okular entfernt, den Tubus hochschraubt und das durch das Objektiv nur schwach vergrößerte Bild des Kegels in entsprechender Entfernung mit freiem Auge betrachtet. Die Blickrichtung soll annähernd senkrecht zur Tischebene sein. Der Lichtkegel muß das Gesichtsfeld des Objektivs symmetrisch durchsetzen. Etwaige Abweichungen berichtigt man mit Hilfe der Mikrometerschrauben des Kondensors *K* (Abb. 18).

Es ist von höchster Wichtigkeit, daß die beiden polierten Flächen des Glasstückes sich möglichst nahe der optischen Achse beider Mikroskope befinden. Die mittlere Entfernung des Beleuchtungskegels von der dem Beobachtungsobjek-

tiv zugewendeten Fläche des Würfels darf nicht größer sein als die Dide eines gewöhnlichen Deckglases (etwa $0,17 \text{ mm}$). Am besten ist es, diese Entfernung einzuhalten, weil die stärkeren Trockenobjektive auf diese Deckglasdide abgestimmt sind. Einen größeren Spielraum hat man beim Gebrauch von homogenen Immersionsobjektiven. Doch selbst in diesem Falle kann die Schärfe der Beugungsscheibchen beträchtlich vermindert werden, wenn der Brechungsindex des untersuchten Glases nicht mit dem des Zedernöls übereinstimmt.

Andererseits muß die Stirnfläche des Präparats der Achse des Beobachtungsobjektivs so nahe als möglich gebracht werden, doch nicht so nahe, daß die Polierfehler dieser Fläche stören. Sie darf auch nicht im Gesichtsfeld des Mikroskops erscheinen. Um die Wichtigkeit dieser Maßregel, durch die der Weg der beleuchtenden Strahlen im Präparat auf das Äußerste beschränkt werden soll, einzusehen, braucht man sich nur vor Augen zu halten, daß bei längerem Wege des Beleuchtungskegels im Präparat durch Abbeugung an den einzelnen Teilchen gerade das wirksamste Licht sehr stark geschwächt wird. Würde man beispielsweise beim Goldrubinglas die Strecke von der Stirnfläche des Präparats bis zur Stelle der stärksten Einschnürung mehrere Millimeter lang machen, so würden die hauptsächlich grünes Licht abbeugenden Goldteilchen des Glases diese Strahlen aus dem Beleuchtungskegel eliminieren und es käme vorzugsweise nur rotes, also an betreffenden Teilchen weniger abbeugungsfähiges Licht zur Wirkung.

Trägt man für die genaue Einhaltung dieser Regeln Sorge, so ist die endgültige Einstellung sehr leicht zu bewirken. Man schraubt den Tubus, immer noch mit herausgenommenem Okular, so weit herunter, daß die hintere Fläche des Objektivs gleichmäßig schwach beleuchtet ist. Nach Einbringung des Okulars genügt gewöhnlich eine geringe Verstellung der Mikrometerschraube, um die Einstellungsebene zu erhalten. Man sieht dann im Gesichtsfelde des Mikroskops das bereits in Abb. 6 gezeigte Bild, ein je nach der horizontalen Ausdehnung des Spaltes und der numerischen Apertur des Kondensors mehr oder minder breites und geschweiftes Band, das in seiner ganzen Ausdehnung von zahlreichen, sternartig glänzenden Pünktchen erfüllt ist.

Bei genügender Lichtstärke, hoher Okularvergrößerung und intrasokularer (zu tiefer) Einstellung läßt sich der Charakter dieser Lichtpünktchen als Beugungsscheibchen unschwer feststellen. Die Größe der Beugungsscheibchen hängt nicht allein von der Größe der Teilchen und von der Menge des abgelenkten Lichtes ab, sondern auch von der numerischen Apertur des Beobachtungsobjektivs, und zwar derart, daß die Objektivs mit geringerer numerischer Apertur gemäß der Helmholtz'schen Formel (S. 17) größere Beugungsscheibchen erzeugen. Ein Objektiv von höherer numerischer Apertur nimmt also nicht nur eine quadratisch mit diesem Wert wachsende Lichtmenge des Beugungskegels auf, sondern es konzentriert diese größere Lichtmenge auch auf einen kleineren Raum. Das Beugungsscheibchen wird daher umso lichtstärker, je größer die numerische Apertur des Beobachtungsobjektivs ist.

Siedentopf hat die mutmaßliche Größe der Teilchen, die durch das Spaltultramikroskop noch sichtbar gemacht werden können, rechnerisch festgestellt. Er gelangte zu dem Ergebnis, daß bei Anwendung des grellsten Sonnenlichtes (spezifische Intensität = 1000 Hefnerkerzen auf 1 mm²) und unter der Annahme, daß das menschliche Auge noch für einen Lichteindruck empfänglich ist, der gleich 0,0000001 Hefnerkerzen zu setzen ist, noch Teilchen wahrgenommen werden können, deren Durchmesser nicht größer als 0,006 μ ist, deren Größe also der der größten Moleküle*) recht nahe kommt. Dabei ist vorausgesetzt, daß die numerische Apertur des Kondensors nicht kleiner als 0,5 ist und daß zur Beobachtung der in einem festen Medium befindlichen Teilchen ein homogenes Immersionsobjektiv angewendet wird.

In der Tat hat Zsigmondy in einem Goldglase besonderer Art Goldteilchen feststellen können, deren Durchmesser nicht größer war, als 0,0039 bis 0,0069 μ . Die Untersuchung dieses Glases

sind, so könnte die Ausdehnung seines Bildes im Präparat mit Hilfe der rechnerisch schnell zu ermittelnden Verkleinerung durch das umgekehrte Mikroskop leicht festgestellt werden. Um sich aber von den mechanischen Fehlern des Präzisionsspaltes (toter Gang der Mikrometerschrauben, Fehler in der Teilung u. a.) unabhängig zu machen, greift man zur Ausmessung des erleuchteten Raumes durch ein Mikrometerokular.

Bevor man zur Bestimmung der Größe des erleuchteten Raumes schreitet, stellt man den genauen Mikrometerwert der verwendeten Objektiv- und Okularkombination bei der gebrauchten Tubuslänge mit Hilfe eines Objektmikrometers fest. Dann bestimmt man zunächst die Tiefe des Spaltbildes, in dem man den Spaltkopf um 90° dreht. Nachdem er wieder in seine gewöhnliche Stellung gebracht wurde, ermittelt man die Ausdehnung seines Bildes in horizontaler Richtung. Dann begrenzt man den Lichtkegel nach Bedarf durch zwei Teilstriche des um 90° gedrehten Okular-

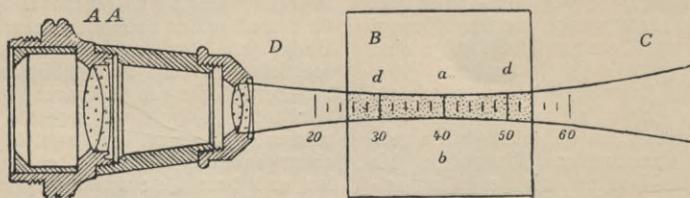


Abb. 20. Bestimmung der Größe des erleuchteten Teiles des Gesichtsfeldes. (Nach C. Reiß, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 3, S. 11.)

erfolgte unter peinlichster Beobachtung der früher angeführten Maßregeln und bei vollständig ausgeruhtem (dunkel adaptiertem) Auge.

IV. Bestimmung der Teilchengröße nach Zsigmondy.

Um die Menge des im Glase zerteilten Goldes zu bestimmen, das durch Abbeugung und diffuse Zerstreuung des Lichtes die Färbung der Goldgläser bedingt, bediente man sich früher der von M. Faraday eingeführten kolorimetrischen Methode. Es wurde eine kolloide Goldlösung, die sich optisch ebenso verhält wie die Goldrubingläser und deren Goldgehalt durch Analyse ziemlich genau ermittelt werden konnte, mit dem Goldglas verglichen. Auf diese Weise konnte man sich von dem Gehalt des Glases an Gold, sofern er nicht von vornherein bekannt war, ein klares Bild verschaffen.

Kennt man den Gehalt an Gold, d. h. die Gewichtsmenge, die in einem Kubikmillimeter Glas enthalten ist, so ist es mit Hilfe des Spaltultramikroskops möglich, die Größe der Teilchen, natürlich innerhalb gewisser Fehlergrenzen, zu bestimmen. Das geschieht auf dem Wege der Auszählung der Goldteilchen, die ein abgegrenzter, durch das Bild des Präzisionsspaltes erleuchteter Raum enthält. Es ist zu diesem Zwecke nötig, den begrenzten Raum genau auszumessen oder seine Größe sonstwie zu bestimmen. Wenn die Breite und die seitliche Ausdehnung des Spaltes bekannt

mikrometers, dessen Skala sich jetzt in der Richtung des Lichtbandes erstreckt. Abb. 20 veranschaulicht diese Phase der Größenbestimmung des erhellen Raumes. AA ist das als Kondensator verwendete Mikroskopobjektiv, D C der sich im Präparat erstreckende Lichtkegel des Spaltbildes, B das Okularmikrometer. Die Linie a b bezeichnet den Ort der stärksten Einschnürung des Beleuchtungskegels und d d die durch zwei Teilstriche des Okularmikrometers gebildeten Grenzen des Raumes, dessen Teilchenanzahl ermittelt werden soll.

Hat man auf diese Weise den Inhalt des abgegrenzten Raumes festgestellt, so zählt man die in ihm befindlichen und sich durch Beugungsscheibchen bemerkbar machenden Teilchen. Den Gehalt an Gold kennt man aus der Zusammensetzung des Glases oder, allerdings nur angenähert und das auch noch bei Gläsern mit feinerer Goldzerteilung, aus den Ergebnissen der kolorimetrischen Bestimmung. Die Teilchengröße erhält man dann auf folgende Weise:

Ein Kubikmillimeter Glas möge 0,00001 oder 1. 10⁻⁵ Kubikmillimeter Gold enthalten. Die Anzahl der Teilchen in dem abgegrenzten Raum von 100 μ^3 soll 20 betragen. Dann enthält ein Kubikmillimeter Glas 200 000 000 oder 2. 10⁸ Teilchen, deren Gesamtmasse 1. 10⁻⁵ Kubikmillimeter ausmacht. Auf ein einzelnes Teilchen kommt also im Durchschnitt eine Masse von 5. 10⁻¹⁴ Kubikmillimeter. Unter der Annahme, daß den feinzerteilten Goldteilchen Würfelform zukommt, (die Beobachtungen an kolloiden Goldlösungen machen es aber sehr wahrscheinlich, daß die Teilchen unregelmäßig gestaltet sind,) ergibt sich die Kantenlänge des Goldwürfelchens, wenn man

*) Die Größe eines Moleküls der löslichen Stärke beträgt nach Lohry de Bruyn 0,005 μ .

auss dem letzten Wert die dritte Wurzel zieht, zu

$$\sqrt[3]{5 \cdot 10^{-14}} = 3,7 \cdot 10^{-5} = 0,00037 \text{ m/m} = 37 \mu\mu.$$

Eine andere, gleichfalls von Zsigmondy herrührende Methode beruht auf der Schätzung der Teilchenabstände. Sie ist leichter durchzuführen, gibt aber weniger genaue Werte für die Dimensionen der einzelnen Goldteilchen.

Bei beiden Methoden muß man natürlich mit verschiedenen Fehlerquellen rechnen, u. a. mit Fehlern in der Bestimmung des abgegrenzten Raumes des Beugungsstegeles, ferner mit Fehlern bei der Auszählung usw. Die Hauptschwierigkeit, die sich einer genauen Größenbestimmung der Teilchen entgegenstellt, liegt aber darin, daß eine je nach der Behandlung des Glases mehr oder minder große Menge des zerteilten Goldes in amikroskopischem Zustande vorhanden ist. Andererseits erschwert der Umstand, daß die Teilchen sehr ungleichmäßig gruppiert sind, so daß mitunter mehrere in sehr geringem, nicht mehr mikroskopisch auflösbarem Abstände von einander liegen und infolgedessen nur ein Beugungsseheibchen erzeugen, die Aufgabe ganz erheblich. Bei der Eigenart der Verhältnisse, die in der durch das Ultramikroskop erschlossenen Welt des Kleinsten obwalten und die ein eindrucksvolles Gegenstück zu den kosmischen Verhältnissen bilden, kommt aber ein Fehler von 100 % meist nur wenig in Betracht.

V. Die Untersuchung von kolloiden Lösungen (Hydrokollen.)

Die ultramikroskopische Untersuchung glasartiger Körper, die als feste kolloide Lösungen angesehen werden können, ist ziemlich einfach, weil außer dem Ultramikroskop keine besonderen Hilfsmittel notwendig sind. Zur Untersuchung wässriger kolloider Lösungen sind dagegen einige Hilfsapparate zur Aufnahme der zu untersuchenden Flüssigkeit erforderlich.

In den ersten Stadien der Erfindung des Spaltultramikroskops bedienten sich Siedentopf und Zsigmondy einer einfachen, würfelförmigen Küvette, die direkt am Mikroskopobjektiv befestigt wurde, dessen Fassung dazu mit einem besonderen Gewinde versehen werden mußte. Die Frontlinse des Objektivs (Wasserimmersion D* von Zeiß; Brennweite 4,4 mm, num. Apert. 0,75) tauchte in die untersuchte Flüssigkeit ein. Die vordere Wand der Küvette wurde durch ein Quarzfenster gebildet, durch das der Regel der beleuchtenden Strahlen in die Flüssigkeit eintrat. Diese Anordnung hatte den besonderen Vorteil, daß die Einstellung sehr erleichtert wurde, weil der Feinbewegungsmechanismus des Mikroskops zum Aufsuchen der Achse des Beleuchtungsstegeles herangezogen werden konnte. Betrachtet man nach genauer Zentrierung der Achsen vom Beobachtungs- und Beleuchtungsstegele, was in ähnlicher Weise und mit derselben Sorgfalt geschehen muß wie bei der Untersuchung von festen Körpern, das ultramikroskopische Bild, so nimmt man an den gelösten Metallteilchen dieselben Erscheinungen wahr, wie bei festen Kolloiden. Nur mit einem großen Unterschied: Während die Teilchen im Goldglase unberrückt an ihrer Stelle verharren,

sind die Teilchen in den wässrigen Lösungen in außerordentlich lebhafter Bewegung begriffen. Die Bewegung selbst ist sehr unregelmäßig; die Teilchen bewegen sich nicht nur um eine Mittellage, sondern verändern auch, mitunter ziemlich schnell, ihren Ort im Gesichtsfeld des Mikroskops.

Diese Bewegung der einzelnen Metallteilchen ist in ihrer Ursache identisch mit der von dem Botaniker Brown schon im Jahre 1827 entdeckten Erscheinung, die man nach ihm als Brownsche Molekularbewegung bezeichnet und die er an ziemlich groben Objekten, die in Flüssigkeiten suspendiert waren, wahrgenommen hat. Weil die Brownsche Molekularbewegung fast allen im Ultramikroskop entstehenden Bildern ein besonderes charakteristisches Gepräge verleiht, soll sie näher behandelt werden.

Körperliche Gebilde mit einem Durchmesser, der größer ist als 3μ , zeigen in flüssigen Präparaten entweder keine oder nur eine sehr schwache Bewegung. Wenn sie nicht zufällig entstehende Strömungen im Präparate, die durch Änderungen des osmotischen Druckes, einseitiges Erwärmen oder Verdunstung der Flüssigkeiten hervorgerufen werden, beeinflussen, so bleiben sie unbeweglich im Gesichtsfeld des Mikroskops liegen. Dagegen zeigen kleinere Teilchen von $1-2 \mu$ Durchmesser eine deutlich merkbare Bewegung von so ausgesprochener Eigenart, daß sie durch Strömungserscheinungen in der Flüssigkeit nicht erklärt werden kann. An Lösungen von chinesischer Tusch, ferner an Suspensionen von Gummitutti und Mastix, kann man diese Erscheinung sehr gut studieren. Bei noch geringerer Teilchengröße, wie sie die Ultramikronen in Hydrokollen aufweisen, wird die Bewegung außerordentlich lebhaft; zugleich treten plötzliche, sehr rasch vor sich gehende Ortsveränderungen der einzelnen Teilchen auf.

Eine vollständig zureichende Erklärung dieser Erscheinung liefert die kinetische Theorie der Materie, nach der die Moleküle jedes materiellen Körpers in steter Bewegung begriffen sind, deren Größe von verschiedenen Faktoren, insbesondere von dem Aggregatzustand und der Temperatur des Körpers abhängig ist. In Gasen ist die Bewegung der Moleküle am stärksten und zwar beträgt bei ihnen die mittlere Geschwindigkeit eines Moleküls (z. B. eines Sauerstoffmoleküls) etwa 400 m in der Sekunde. Doch gibt es in dem Gase unter denselben Umständen und zu gleicher Zeit auch Moleküle, die erheblich größere und auch kleinere Geschwindigkeiten besitzen. Die Bewegungsrichtungen der einzelnen Moleküle sind, wie ihre Geschwindigkeiten, vom Zufall abhängig, und da die Anzahl aller Moleküle, die auf ein in einem Gase suspendiertes Teilchen einwirken, wohl sehr groß, aber doch immerhin beschränkt ist, so kann man sich leicht vorstellen, daß die Summe ihrer Wirkungen auf ein solches Teilchen nur in besonderen, äußerst seltenen Fällen gleich Null ist; in diesen Fällen verbleibt das Teilchen in Ruhe. In den weitaus meisten Fällen bewirken die Unregelmäßigkeit in der Bewegung und die endliche Zahl der Moleküle, daß das Teilchen mehr oder minder starke einseitige Stöße erleidet, die umso mehr in die Erscheinung treten, je größer die mittlere Geschwindigkeit und je geringer die Anzahl der einwirkenden Moleküle, d. h. je kleiner das Teilchen ist.

Die mittlere Geschwindigkeit eines Moleküls ist nun nach der molekular-kinetischen Theorie von der Temperatur des Mediums abhängig. Die in Gasen und Flüssigkeiten suspendierten fremdartigen Teilchen müssen daher bei wachsender Temperatur größere Beweglichkeit zeigen. Das trifft auch in Wirklichkeit zu. Den Beweis dafür hat Perrin erbracht. Bei seinen grundlegenden Versuchen verwendete er Suspensionen von Gummigutti und Mastix mit Teilchen von etwa 1μ Durchmesser, also von mikroskopischer Größe. Die Brownsche Molekularbewegung solcher Teilchen erfolgt nicht so heftig und sprunghaft wie die der Ultramikronen. Sie läßt sich daher sehr leicht für Messungszwecke verfolgen und feststellen.

Die Versuche Perrins bestätigten die Ergebnisse der theoretischen Behandlung dieser Frage, die schon vorher durch Einstein und v. Smoluchowski in Angriff genommen worden war, in

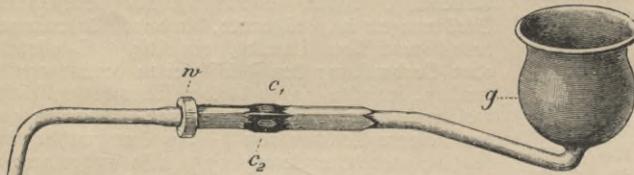


Abb. 21. Durchflußküvette zur Untersuchung kolloider Lösungen.
 c_1 Quarzglasfenster zur Beobachtung, c_2 zur Beleuchtung.
 (Nach G. Zeiß, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 3, S. 10.)

glänzender Weise. Als dann noch mit Hilfe der ultramikroskopischen Methoden durch Molisch, Ehrenhaft u. a. die Brownsche Bewegung in Gasen und Rauch untersucht wurde, die sich den Annahmen der Theorie gemäß als beträchtlich lebhafter zeigte, konnte kein Zweifel mehr bestehen, daß die Lehren der Wärme- und Molekulartheorie auf sicheren Grundlagen ruhen.

Noch eine andere Wahrnehmung, die man besonders an Hydrosolen machen kann, spricht ebenfalls zugunsten der erwähnten Theorie. Die Bewegung der Metallteilchen ist nämlich um so heftiger, je stärker die Konzentration der Lösung ist und je dichter die Teilchen sich beieinander befinden. Die von der Theorie geforderte Unregelmäßigkeit der Molekularbewegung, welche die eigentliche Ursache der Verschiebung der Teilchen ist, wird augenscheinlich durch die Störungen, die die benachbarten Teilchen hervorrufen, vergrößert. Verdünnt man die Lösung, so daß der Abstand der Ultramikronen ein Vielfaches der Lichtwellenlänge ist, so wird die Molekularbewegung merkbar schwächer.

Auch die organischen mikroskopischen und ultramikroskopischen Teilchen (Bakterien, Fett- und Protoplastenteilchen) zeigen die Brownsche Molekularbewegung in derselben Weise. Doch gibt es besondere Verhältnisse, die die Erscheinung etwas verändern können, so z. B. bei weißen Blut- und Speichelförperchen. Bei diesen Zellen sind die einzelnen Teilchen (Granulationen) dicht gedrängt nebeneinander angeordnet und von einer Membran umschlossen, die ihre Bewegungsfreiheit stark beschränkt. Man sieht infolgedessen die Bewegung der Granula nur bei stärkerer Vergrößerung. Sonst macht sie sich nur durch ein eigenartiges Flimmern in den Zellen bemerkbar.

Für die Zwecke der Untersuchung kolloider Metalllösungen ist von Siedentopf und Zsigmondy eine besondere Durchflußküvette konstruiert worden, die nach mehrfachen, durch die Anforderungen der Praxis bedingten Umgestaltungen die aus Abb. 21 ersichtliche Form erhalten hat. In der Hauptsache besteht diese Küvette aus einem Glasrohr, das außen viereckig zugeschlossen ist, damit es in seiner Haltevorrichtung auf dem Tisch des Mikroskops fest und sicher aufliegt und nur eine bestimmte Lage annehmen kann. In dem mittleren Teil der Glasröhre, der kugelförmig aufgeblasen und dann geschliffen ist, sind zwei Fenster c_1 und c_2 , aus dünnem Quarzglas säurefest eingekittet. Beide bilden miteinander einen rechten Winkel. Das Fenster c_2 läßt den Beleuchtungskegel in die zu untersuchende Flüssigkeit eintreten; das Fenster c_1 gestattet die Beobachtung des abgebeugten Kegels. Die Fortsetzung des Röhrchens nach der einen Seite bildet ein rundes, nach unten geschweißtes Glasrohr mit einem trichterförmigen Ansatz g. Die andere Seite endet in einem scheibenähnlichen Wulst w, der eine bestimmte Lage der Küvette in ihrem Halter gewährleistet. An diesen Wulst ist ein nach unten gebogenes Rohr angefügt, auf das ein Gummischlauch aufgesteckt werden kann, der die verbrauchte Flüssigkeit in einen Behälter leitet. Um die Flüssigkeit in der Küvette zur Ruhe zu bringen,

wird auf den Gummischlauch eine Schlauchklemme aufgesteckt. Küvetten, die unterhalb des Trichters einen ausgeschliffenen Glasbahn zum Stillsetzen der Flüssigkeit in dem Rohrsystem besitzen, sind nicht zweckmäßig, weil abgesprengte Glasteilchen der Sperrvorrichtung von der Flüssigkeit mitgenommen werden und leicht zu Mißdeutungen des ultramikroskopischen Bildes Anlaß geben können. Die Glasrüvette wird in einen besonderen Halter gesteckt, der die Kammer durch Federn und genau, der viereckigen Form des mittleren Teiles der Küvette angepaßten Anschlagsflächen in einer bestimmten Lage festhält. Bei den Einrichtungen der Firma Zeiß wird der Halter mittels eines besonderen Gewindes an das Objektiv geschraubt, was die Einstellung des Bildes erleichtert. Die Firma Reichert dagegen benutzt zur Befestigung der Küvette eine besondere Klammer, die in das auch zur Untersuchung fester Kolloide dienende Tischchen (Abb. 19) gesteckt wird. Diese Anordnung hat den Vorteil, daß man rasch nacheinander feste und flüssige Objekte untersuchen kann.

Die beschriebene Durchflußkammer ermöglicht es, daß man beliebig viele Lösungen untersuchen kann, ohne die Einstellung des Mikroskops und seine Zentrierung verändern zu müssen. Die Neigung der Küvette wird dadurch bewirkt, daß man sie mit destilliertem, von fremden ultramikroskopischen Beimengungen freiem Wasser durchspült, und zwar muß diese Prozedur so lange fortgesetzt werden, bis alle an den Quarzglasfenstern der Kammer haftenden Teilchen der vorher untersuchten Lösung fortgeschwemmt sind, bis also das zum Reinigen benützte destillierte Wasser optisch homogen erscheint, d. h. frei von Ultramikronen ist.

Infolge der Brownschen Molekularbewegung ist die Bestimmung des Goldgehaltes von Hydro-

solen nach der für Kubingläser gebräuchlichen Methode (S. 24) sehr schwierig, weil bei einer Konzentration, wie sie die kolloiden Lösungen gewöhnlich besitzen, eine Auszählung der Teilchen unmöglich ist. Zsigmondy umging diese Schwierigkeit dadurch, daß er die Lösung stark verdünnte und bei verschiedenen Verdünnungen, die das 10-, 100- oder gar 1000fache der ursprünglichen Konzentration betragen, Auszählungen der Teilchen vornahm. Zugleich wurde der begrenzte Raum so bemessen, daß sich höchstens 4—5 Teilchen in ihm befanden, so daß ihre Zahl mit einem Blick ermittelt werden konnte. Die Bestimmung der Teilchengröße in flüssigen Lösungen ist eine äußerst mühselige Arbeit, weil bei verschiedenen Verdünnungsgraden eine erhebliche Anzahl von Schätzungen vorgenommen werden muß, aus denen nachher ein Mittelwert gebildet wird. Die Kleinheit des zur Auszählung abgegrenzten Raumes und die starke Beweglichkeit der Teilchen vergrößern den Einfluß der einzelnen Fehlerquellen. Andererseits erleichtert wiederum der Umstand, daß eine ziemlich genaue Feststellung des Goldgehaltes in den Hydrosolen durch Analyse möglich und die Verteilung des Metalls in der Flüssigkeit im Gegensatz zu den Goldgläsern ziemlich gleichmäßig ist, die Aufgabe nicht unwesentlich.

Zur Kontrolle der Ergebnisse muß die Bestimmung der Teilchengröße aus der Schätzung ihrer Abstände in erhöhtem Maße herangezogen werden. Für diesen Zweck werden an Stelle des Okularmikrometers in der gewöhnlichen Ausföhrung die von der Firma Zeiß ausgeföhrten, mit Nektelung versehenen Okulare angewendet, die auch bei der Auszählung der Teilchen gute Dienste leisten.

Die Goldlösungen können auf verschiedene Weise hergestellt werden, zunächst durch Kathodenzerstäubung nach Bredig, ferner nach einem von Zsigmondy⁸⁾ angegebenen chemischen Verfahren. Für die Beobachtung im Ultramikroskop müssen diese Lösungen mit destilliertem Wasser etwa 20fach verdünnt werden. Enthält das destillierte Wasser kolloide Beimischungen, die entgegengesetzte elektrische Ladungen wie die Teilchen der zu untersuchenden Goldlösung haben, so bilden sich durch Zusammenschluß größerer Teilchen, die eine verminderte Brownsche Molekularbewegung zeigen und unter der Einwirkung der Schwere zu Boden sinken. Die Lösung erscheint dann getrübt. Durch Zusatz von Säuren erfolgt ein Farbenumschlag. Rote Goldlösungen werden durch sehr geringe Salzsäuremengen blau gefärbt. Die einzelnen Teilchen erscheinen dann im Ultramikroskop in der komplementären Färbung, also rot und gelb.

Neben den Goldlösungen, die wegen der bereits erwähnten, für die Sichtbarmachung der gelösten Teilchen besonders günstigen Verhältnisse den breitesten Raum in den ultramikroskopischen Untersuchungen einnehmen, sind auch die Hydrosole anderer Metalle, insbesondere der Edelmetalle, oft Gegenstand entsprechender Forschungen gewesen. Ein besonders interessantes Bild gewähren nach Zsigmondy⁹⁾ die Lösungen von kolloidem Silber. Die einzelnen Teilchen leuchten in den verschiedensten Farben des Spektrums von rot bis violett. Sie zeigen außerordentlich lebhaftere Brownsche Bewegung, auch tritt die ge-

genseitige Beeinflussung der Teilchen in diesen Lösungen besonders stark hervor. Zusatz von Kochsalzlösung bringt die Teilchen in eine turbulente Bewegung, die der Koagulation der Ultramikronen vorangeht. Es ist deshalb möglich, diesen Vorgang näher zu beobachten.

In kolloiden Lösungen von Platin nach Bredig sind die Ultramikronen eintönig weiß oder grauweiß gefärbt. Sie sind gegenüber den Goldteilchen bei gleicher Teilchengröße bedeutend lichtschwächer.

Kolloides Eisenoxyd besitzt eine so außerordentlich feine Verteilung, daß einzelne Teilchen nicht wahrgenommen werden können, also von amikroskopischer Größe sind. Sie erzeugen aber in ihrer Gesamtheit bei stärkerer Konzentration einen polarisierten blauen Lichtkegel. Nach Mischung mit einem Goldhydrosol, das ebenfalls Teilchen von amikroskopischer Größe enthält, tritt eine teilweise Koagulation ein, wodurch die vereinigten Teilchen des Eisenoxyds und des Goldes sichtbar werden.

Des weiteren hat Zsigmondy mit dem Spaltultramikroskop noch andere metallische Kolloide, ferner organische und Farbstoffe untersucht. Raehlmann hat das Spaltultramikroskop zum Studium des Harnes von Nephritiskranken herangezogen und auch zu Blutuntersuchungen verwendet.

Es ist natürlich leicht, das Spaltultramikroskop zusammen mit der Durchflußküvette zur Untersuchung von gasförmigen Körpern oder Rauch, die flüssige oder feste Teilchen enthalten, nutzbar zu machen. Die Küvette muß zu diesem Zwecke vorher gut getrocknet werden. Das Gas oder der Rauch wird dann in den trichterförmigen Aufsatz der Küvette hineingeblassen und in dieser durch Absperrung mittels des Quetschhahns zum Stillstand gebracht. Ein dankbares Objekt für solche Untersuchungen ist Zigarrenrauch, der von unzähligen größeren und daher sehr lichtstarken Teilchen erfüllt ist, die in außerordentlich heftiger Bewegung begriffen sind.

Eine interessante Anwendung des Spaltultramikroskops verdanken wir F. Ehrenhaft¹⁰⁾, der versuchte, mit seiner Hilfe das Elementarquantum der elektrischen Ladung sehr kleiner in Luft schwebender Silberteilchen zu bestimmen. Er zerstäubte das Metall als Kathode im elektrischen Lichtbogen und föhrte einen Luftstrom, in dem die Teilchen suspendiert waren, durch eine der Durchflußküvette ähnliche Kammer aus Hartgummi, die natürlich mit Fenstern zur Beleuchtung und Beobachtung versehen war. Durch zwei in Form eines Kondensators angeordnete Metallplatten wurde in dieser Kammer ein senkrecht gerichtetes elektrisches Feld erzeugt. Durch Umkehrung der Kraftrichtung konnte Ehrenhaft den Einfluß des Feldes auf die geladenen Metallstäubchen einwandfrei feststellen und messend verfolgen. Bei kurzgeschlossenem Kondensator waren die ultramikroskopischen Teilchen als feine Lichtpöuntchen wahrnehmbar, die in gleichmäßiger, von Brownscher Bewegung ziemlich freier Fallbewegung begriffen waren. Je nach dem Vorzeichen ihrer Ladung und der Kraftrichtung des Feldes wurde die Fallbewegung beschleunigt, gehemmt oder in ihr Gegenteil verkehrt. Aus der Intenfität des Feldes und der Beschleunigung der Teilchenbe-

wegung nach oben oder unten konnte die Ladung der Teilchen berechnet werden.

VI. Das Immersions-Ultramikroskop nach Zsigmondy.

Auf der Naturforscherversammlung in Wien 1913 hat Zsigmondy eine neue, wesentlich lichtstärkere Anordnung des Spaltultramikroskops bekanntgegeben.

Die Neuerung besteht darin, daß das als Kondensor verwendete Objektiv eine größere numerische Apertur erhielt. Es ist jetzt ein Wasserimmersionsobjektiv von 6 mm Brennweite und einer numerischen Apertur von 1,05 und identisch mit dem Beobachtungsobjektiv. Beide Objektive müssen, damit sich ihre Einstellungs Ebenen in ihren optischen Achsen schneiden, an den einander zugewandten Seiten vorsichtig abgeschliffen und, weil dadurch die Hohlräume der Objektivfassung freigelegt werden, mit einem dünnen Metallblech wieder verdeckt werden.

Die Frontlinsen beider Objektive sind stark überhalbkugelig ausgeführt; der Abstand der Brennebenen von der Vorderfläche des Systems ist sehr gering. Diese Anordnung hat den Vorteil, daß ein zwischen beide Frontlinsen gebrachter Tropfen einer kolloiden Lösung haften bleibt, so daß eine besondere Küvette überflüssig wird. Die Beleuchtung ist dieselbe wie bei dem älteren Spaltultramikroskop.

Mit dieser Einrichtung ist es Zsigmondy gelungen, Ultramikronen in kolloiden Lösungen wahrzunehmen, deren Beobachtung mit dem früheren Ultramikroskop nicht möglich war.

Die äußere Einrichtung des Immersions-Ultramikroskops (diesen Namen hat Zsigmondy für das Instrument vorgeschlagen), das von der Firma R. Winkel in Göttingen gebaut wird, geht aus Abb. 22 hervor. A ist der Fuß des für diese Zwecke besonders konstruierten Stativs, T dessen Tubus, der das Beobachtungsobjektiv B_2 trägt, das eventuell gegen andere Wasserimmersionsobjektive ausgewechselt werden kann. B_1 ist das Beleuchtungsobjektiv, das an die Justiervorrichtung J geschraubt wird. Mittels der beiden Schlittenführungen $Schl_1$ und $Schl_2$ kann die optische Achse der Beleuchtungsimmerision mit der des Beobach-

tungssystems zum Zusammenfallen gebracht werden. Die Schraube Sb betätigt eine Blende, die den Beleuchtungskegel seitlich etwas begrenzt und dadurch verhindert, daß Beleuchtungs- und Beobachtungsbündel teilweise zusammenfallen.

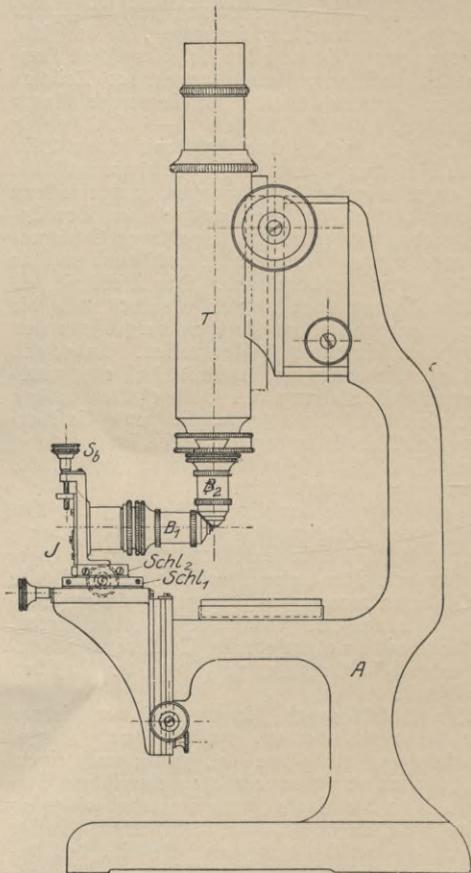


Abb. 22. Immersions-Ultramikroskop nach Zsigmondy. A Fuß, T Tubus des Mikroskopes. B_1 Beleuchtungssystem, B_2 Beobachtungssystem. Sb Blende. $Schl_1$ und $Schl_2$ Schlitten zur Einstellung des Beleuchtungssystems.

Viertes Kapitel.

Die Ultramikroskope von Siedentopf, Cotton-Mouton und Skarpa.

I. Das Ultramikroskop von Siedentopf.

Nach der Erfindung des Spaltultramikroskops sind vielfach Versuche unternommen worden, die bei dieser Einrichtung angewendete Methode der Beleuchtung im dunklen Felde auf Objekte auszu dehnen, die zwischen Objektträger und Deckglas eingebettet werden können, von denen sich also ein „reeller“ Dünnschnitt herstellen läßt. Bei Objekten, die sich in flüssigen Medien befinden, und das ist die übergroße Mehrzahl, macht das keinerlei Schwierigkeiten, obwohl bei der Herrichtung der Präparate sehr sorgfältig verfahren werden muß. Es können nur besonders feingeschliffene

Objektträger und ausgesuchte, fehlerfreie Deckgläser verwendet werden, weil sich die geringsten Fehler in der Politur (Rarben, Kratzer usw.) der Objektträger und Deckgläser sehr störend bemerkbar machen. Desgleichen müssen die Objektträger und Deckgläser vor dem Gebrauch einer sorgfältigen Reinigung unterzogen werden.

Nach der Einführung des Spaltultramikroskops konstruierte Siedentopf¹⁰⁾ eine eigenartige Einrichtung zur Dunkelfeldbeleuchtung, die mit Beleuchtung des Objekts mittels eines Spezialkondensors und Abblendung der Beleuchtungsbündel im Immersionsobjektiv arbeitete. Diese Einrichtung lehnte sich an die

gebräuchliche Methode der „Beobachtung im hängenden Tropfen“ an, für die sie auch unmittelbar angewendet werden konnte. In neuerer Zeit ist sie gegenüber den Spiegelfondensoren ganz in den Hintergrund getreten. Da sie aber vielleicht für manche Zwecke, z. B. zur Sichtbarmachung von Ultramikronen, die sich in dickeren Objekten (Algen u. ähnl.) befinden, von Vorteil sein kann, so soll sie hier näher beschrieben werden, zumal auch die eigenartigen optischen Verhältnisse, die bei der Abblendung im Beobachtungsobjektiv auftreten, besondere Erwähnung verdienen.

Im Gegensatz zum Spaltultramikroskop, bei dem die Symmetrieachse der Beleuchtungsstrahlen senkrecht zu der der Beobachtungsstrahlen steht, haben beide Achsen beim Ultramikroskop nach Siedentopf die gleiche Richtung. Der Kondensor,

Die richtige Einstellung ist nämlich bei Dunkelfeldbeleuchtung durch den Spezialkondensor wegen der später zu besprechenden Eigenheiten des ultramikroskopischen Bildes sehr schwer zu finden. Die äußere mechanische Einrichtung eines Ultramikroskops nach Siedentopf mit Wechselkondensor wird durch Abb. 23 veranschaulicht. Das Kondensorsystem erzeugt ein scharfes, helles Bild der Lichtquelle (Startstrombogenlampen oder Sonne) in der Ebene des Präparats. Die Dicke des Objektträgers spielt bei dieser Art der Dunkelfeldbeleuchtung keine Rolle, da das Bild der Lichtquelle durch Höher- bzw. Tiefer-schrauben des Beleuchtungsapparats leicht in die Einstellenebene gebracht werden kann. Eine weitere Erleichterung liegt darin, daß wegen der geringen Apertur der Beleuchtungsstrahlen der Kondensor mit dem Ob-

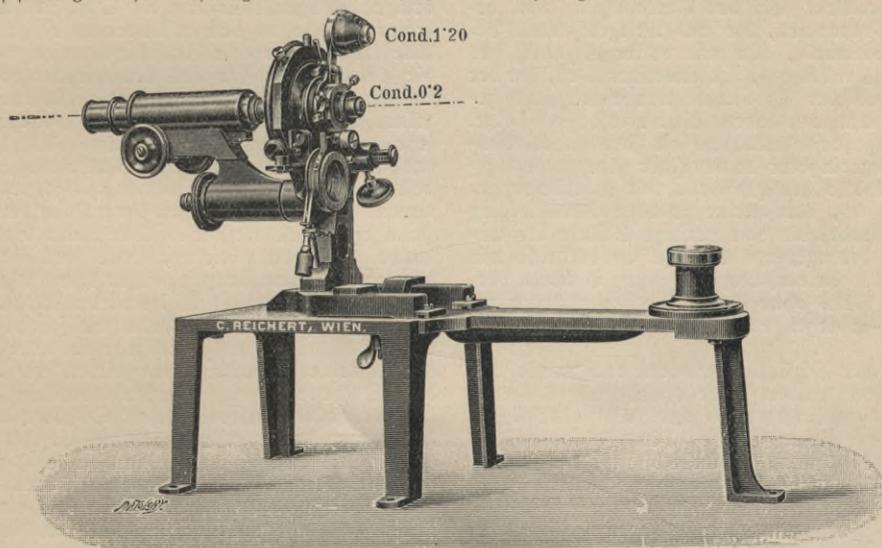


Abb. 23. Ultramikroskop von Siedentopf mit Spezialkondensor (num. Ap. 0,2) und Abbe-Kondensor (num. Ap. 1,2).

der das Präparat beleuchtet, kann infolgedessen im Beleuchtungsapparat eines größeren Mikroskopstatis an Stelle des Abbeschen Kondensors Platz finden. Die Anordnung ist bereits in Abb. 8 veranschaulicht und im Anschluß an diese Abbildung näher erläutert worden. Der zur Bestrahlung des Objekts verwendete Spezialkondensor ist ein achromatisches Linsensystem von geringer numerischer Apertur (bis zu 0,20), der auch, wie beim Spaltultramikroskop, durch ein Mikroskopobjektiv ersetzt werden kann. Am besten eignet sich dazu ein schwaches Objektiv mit einer Brennweite von 30 mm und einer numerischen Apertur von 0,17. Das System wird in einen der bekannten Zentrierapparate geschraubt, die es mittels zweier Schrauben und einer Gegendruckfeder möglich machen, die Achse des als Kondensor verwendeten Systems genau in die optische Achse des Mikroskops zu bringen. Der Zentrierapparat paßt in die Hülse des Abbeschen Kondensors. Zweckmäßig wird aber der Kondensor als Wechselkondensor ausgebildet, so daß nach Ausklappen des Dunkelfeldkondensors ein gewöhnlicher Abbescher Kondensor an seine Stelle gebracht werden kann, mit dem man die Einstellung des Mikroskops ermittelt.

jektträger nicht in optischen Kontakt zu treten braucht. Ferner ist die Einschaltung einer Beleuchtungslinse zwischen die Lichtquelle, sofern es sich um eine Bogenlampe handelt, und den Spezialkondensor nicht nötig, weil das Lichtquellenbild im Präparat infolge der ziemlich großen Brennweite des Kondensors eine solche Ausdehnung erhält, daß es das Gesichtsfeld des zur Beobachtung gewöhnlich verwendeten Immersionsobjektivs ausfüllt.

Das Objektiv ist für diese Art der Dunkelfeldbeleuchtung besonders hergerichtet. Seine Frontlinse zeigt an ihrem Scheitel einen Ab-schliff, der sorgfältig geschwärzt ist und alle Strahlen mit einer Apertur kleiner als 0,3 zurückhält. Da der Spezialkondensor nur eine numerische Apertur von höchstens 0,2 hat, so werden die Strahlen der Beleuchtungsstrahlen, die das Präparat und die Frontlinse des Immersionsobjektivs durchsetzen, von der geschwärzten Stelle absorbiert und nur die abgelenkten Strahlen von den numerischen Aperturen 0,3–1,35 können in der Bildebene des Mikroskops zur Geltung gelangen; diese Strahlen erzeugen das ultramikroskopische Bild des Objekts.

Die numerische Apertur des Spezialkondensors wurde deshalb so klein gewählt, weil sie eine entsprechend geringe Aperturbeschränkung des Objektivs bedingte. Siedentopf verfolgte mit dieser Anordnung die Absicht, die Benutzungsfähigkeit des verwendeten Immersionsystems für gewöhnliche mikroskopische Beobachtungen möglichst wenig zu beeinträchtigen. Ein Kondensor von größerer numerischer Apertur in Verbindung mit einer entsprechend großen zentralen Abblendung im Beobachtungsobjektiv hätte wohl eine höhere Lichtstärke der Einrichtung im Gefolge gehabt, aber auch das verwendete Immersionsobjektiv zu einem Spezialobjektiv für diese ultramikroskopische Methode gemacht. Die Abblendung des Objektivs in dem bezeichneten Ausmaße setzt seinem Gebrauch bei gewöhnlichen mikroskopischen Beobachtungen keine Schranken. Bei der Untersuchung von gefärbten Präparaten, die mit weitgeöffneten Beleuchtungsbündeln, also mit voller Öffnung des Abbeschen Kondensors, vorgenommen wird, hat der Abschleiß an der Frontlinse nur einen sehr geringen, kaum merkbaren Lichtverlust zur Folge. Sollen dagegen Strukturen mit Beleuchtungsbündeln von geringerer numerischer Apertur aufgelöst werden, so genügt, wenn mit Kondensor gearbeitet wird, eine kleine seitliche Verschiebung der Irisblende, die eine geringe Schiefe der Beleuchtung bedingt, um ähnliche Verhältnisse wie bei zentraler Beleuchtung mit engen Bündeln herzustellen. Falls ohne Kondensor beobachtet wird, muß der Spiegel entsprechend seitlich verstellt werden.

Dieselben Erwägungen waren auch maßgebend bei der Konstruktion einer etwas abgeänderten Form des Siedentopfschen Ultramikroskops, die von der Firma C. Zeiß in Wehlar gebaut wurde. Zeiß nahm davon Abstand, die Frontlinse des Immersionsobjektivs abzuschleifen; er ersetzte den Abschleiß durch eine hinter der letzten Linse des Systems eingehängte Stempelblende, die nach Bedarf entfernt werden kann. Bei dieser Anordnung mußte aber die zentrale Aperturbeschränkung bei gleichbleibender Öffnung des Spezialkondensors vergrößert werden (bis auf 0,6), weil die Reflexe, die die nunmehr das ganze Objektiv durchgehenden Beleuchtungsbündel an den Linsenflächen hervorriefen, die Dunkelheit des Feldes sonst stark vermindert hätten. Durch die stärkere Abblendung wird daher die Lichtstärke dieser abgeänderten Einrichtung etwas herabgesetzt.

Es ist schon früher auf den Einfluß der Abblendung des Objektivs auf Form und Durchmesser des Beugungsscheibchens, was sowohl ihre Größe im Verhältnis zur Brennweite (die numerische Apertur) als auch ihre Gestalt anbezieht, hingewiesen worden (S. 17). Bei der zentralen Abblendung durch Abschleiß an der Frontlinse oder durch eine Stempelblende nimmt die Austrittspupille des Mikroskopobjektivs die Form eines Kreisrings an. Das Beugungsscheibchen behält seine kreisrunde Form, doch wird die Lichtverteilung in seinem Bezirk ganz erheblich verändert. Der innere Kern des Beugungsscheibchens nimmt an Lichtstärke bedeutend ab, dagegen nehmen die ihn umgebenden Beugungsringe an Intensität zu. Ultramikroskopische Teilchen erscheinen im Ultramikroskop nach Siedentopf als schwachleuchtende Pünktchen, die von einem, bei

größeren Teilchen von mehreren Lichtkreisen umgeben sind, die auch bei gewöhnlicher Okularvergrößerung und normaler Einstellung deutlich wahrgenommen werden können. Diese Verteilung der Helligkeit im Beugungsscheibchen setzt seine Lichtstärke ganz erheblich herab, weil die von dem Ultramikron ausgesendete Lichtmenge auf einen größeren Raum verteilt wird. Diese Methode ist daher für die Untersuchung kolloider Lösungen nicht anwendbar. Sie versagt sogar bei größeren ultramikroskopischen Objekten, z. B. bei der Beobachtung der Hämatoklonen im menschlichen Blut.

Dagegen ist sie seinerzeit zur Beobachtung von lebenden Batterien in natürlichem Zustand und auch von abgetöteten und gefärbten mit Erfolg herangezogen worden. Zwar erschienen ziemlich einfache Bakterienformen infolge der eigenartigen Beugungswirkung des Objektivs mit zentraler Blende in den absonderlichsten Gestalten. Alle waren aber von Beugungsstreifen umgeben, die sich den Umrissen des Batterienkörpers ziemlich genau anschniegten. Die Wahrnehmung einzelner Strukturen und Teile der Batterien war sehr erschwert, weil sie sich immer doppelt oder dreifach abbildeten. Feinere Bakterienarten, insbesondere Spirochaeten, waren nur schwer zu erkennen, teils weil sie wegen ihrer Feinheit bei der geringen Lichtstärke dieses Ultramikroskops überhaupt unsichtbar blieben, teils weil sie wegen der komplizierten Beugungsfigur ihres Bildes nur mit großer Mühe als Spirochaeten nachzuweisen waren. Auch sind die Geißeln gewisser Batterien, deren Sichtbarmachung mit Hilfe der neueren Methoden keine Schwierigkeiten bietet, an lebenden Objekten nicht gesehen worden.

Selbst bei mikroskopischen Objekten von beträchtlicher Größe, z. B. bei Blutkörperchen, machten sich die Beugungsercheinungen sehr stark bemerkbar. Benachbarte, einander berührende Blut- oder Speichelförperchen erschienen wie eine stilisierte Acht mit mehrfachen Konturen, in denen aber die Bewegung der Protoplasmaföner eben wegen der stark ausgeprägten Beugungsringe um den Kern des Beugungsscheibchens der einzelnen Körnchen auffallend leicht bemerkbar war.

Mit dem Ultramikroskop nach Siedentopf sind seinerzeit zahlreiche Bakterien-Untersuchungen ausgeführt worden, insbesondere von Raehmann und Gaidukov. Gaidukov¹¹⁾ benutzte diese Einrichtung mit großem Erfolg zum Studium der Bewegung der Protoplasmateilchen in Algen, z. B. bei *Spirogyra*. Der Inhalt dieser Pflanzenzellen, zum großen Teil aus größeren Ultramikronen bestehend, tritt trotz der festen Zellenwand, die die beleuchtenden Strahlen durchdringen müssen und die im Bilde deutlich wahrnehmbar ist, klar hervor. Immerhin können auch bei diesen schwierigen Objekten, für deren Beobachtung das Ultramikroskop nach Siedentopf gewisse, nicht zu leugnende Vorzüge besitzt, auch Spiegellondensoren mit Erfolg verwendet werden.

Gegenwärtig ist diese Einrichtung zur Dunkelfeldbeleuchtung nicht mehr im Gebrauch. Sie hat den lichtstärkeren Spiegellondensoren den Platz räumen müssen. Während das Ultramikroskop nach Siedentopf nur in Verbindung mit stärkeren Lichtquellen (Bogenlampen mit 20–30 Ampere Stromstärke) gebraucht werden konnte, leisten die heutigen Spiegellondensoren mit Schwachstrom-

bogenlampen (4—8 Ampere Stromstärke) bedeutend mehr. Außerdem entfallen bei den Spiegelfondensoren die störenden Beugungstreifen bei Objekten von mikroskopischer Ausdehnung und bei Ultramikronen die den Kern des Beugungsscheibchens umgebenden lichtstärkeren Beugungsringe. Das Bild ultramikroskopischer Teilchen ist bei den Spiegelfondensoren dem im Spaltultramikroskop durchaus gleich. Es zeigt im Gegenfals zu dem im Ultramikroskop nach Siedentopf entstehenden Bild einen hellen Kern, umgeben von lichtschwächeren, nur schwach bemerkbaren Beugungsringen.

II. Das Ultramikroskop von Cotton und Mouton.

Während das Spaltultramikroskop den reinsten Typus der rechtwinkligen Anordnung der Achsen von Beleuchtungs- und Beobachtungsbündeln darstellt, ist das Siedentopfsche Ultramikroskop das ausgesprochene Beispiel einer Dunkelfeldbeleuchtung mit gleichachziger Anordnung.

Cotton und Mouton, zwei französische Forscher, haben bei der Konstruktion ihres Ultra-

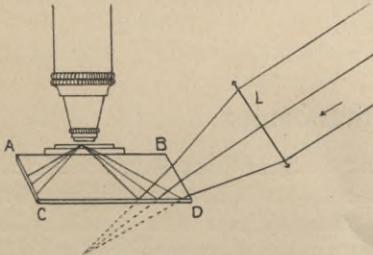


Abb. 25. Schema des Ultramikroskops nach Cotton und Mouton. A B D C Beleuchtungskörper, L Beleuchtungslinse.

mikroskops insofern einen Mittelweg beschritten, als sie der Achse der zur Beleuchtung des Objekts dienenden Strahlenbündel eine geneigte Lage gaben. Die Neigung der Achse wurde durch den Grenzwinkel der Totalreflexion bestimmt.

Das hauptsächlichste Hilfsmittel bei der Einrichtung von Cotton und Mouton¹²⁾ ist ein rautenförmiger Glaskörper A B D C, wie er in Abb. 25 dargestellt ist. Das beleuchtende Strahlenbündel, dessen Achse einen Winkel von 39° mit Ebene des Objektivs bildet, auf dem der Glaskörper liegt, tritt senkrecht zu der Fläche B D in den letzteren ein. Die Dimensionen des Glaskörpers und die Brennweite der als Kondensor dienenden Linse (durch L angedeutet) sind so bemessen, daß das von der Linse L erzeugte Bild der Lichtquelle in die Achse des zur Beobachtung dienenden Mikroskopobjektivs fällt. Die beleuchtenden Strahlen erleiden vor dem Durchsetzen des Objektivs eine totale Reflexion an der unteren Fläche C D des Glaskörpers. Eine zweite totale Reflexion tritt nach der Durchdringung des Objektivs an der oberen Seite des Deckglases, in der Nähe des durch die Linse L erzeugten Bildes der Lichtquelle, ein. Schließlich treffen die beleuchtenden Strahlen auf die geschwärzte Fläche A C des Glaskörpers, wo sie absorbiert werden.

Die Oberseite des Glaskörpers muß mit dem auf ihr ruhenden Objektträger durch Zimmer-

fionsöl optisch verbunden werden, damit sämtliche Strahlen des Beleuchtungskegels ungeschwächt in das Präparat eintreten können. Die Dunkelfeldbeleuchtung wird in der Hauptsache durch Totalreflexion am Deckglas erzielt.

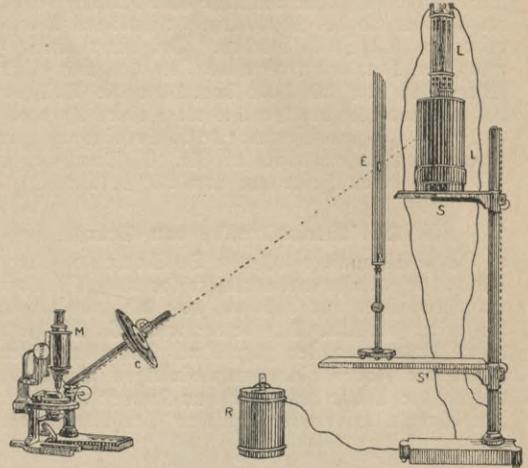


Abb. 26. Ultramikroskop nach Cotton und Mouton. M Mikroskop, C Beleuchtungslinse, E Schirm, L Lampe, S und S' verstellbare Träger für Lampe und Schirm.

Die äußere Gestaltung dieses Ultramikroskops, das von bemerkenswerter Einfachheit ist, geht aus Abb. 26 hervor. Die von einem Blendschirm umgebene Beleuchtungslinse C ist auf einem langen, verstellbaren Arm angeordnet, der an einem neben dem Mikroskop stehenden Halter sitzt. Die Linse kann zum Zwecke der Einstellung des Lichtquellenbildes längs des Armes verschoben werden.

Mit diesem „vereinfachten“ Ultramikroskop haben Cotton und Mouton die Ergebnisse, die die bereits beschriebenen Einrichtungen gezeitigt hatten, zum Teil überprüft und bestätigt, zum Teil haben sie mit seiner Hilfe neue Wege beschritten. Sie gestalteten nämlich den Glaskörper, der den Hauptteil ihrer Einrichtung bildet, so aus, daß sie Untersuchungen über den „elektrischen Transport“ von Ultramikronen beim Durchgang eines elektrischen Stromes durch das Präparat vornehmen konnten. Dazu verbreiterten sie den

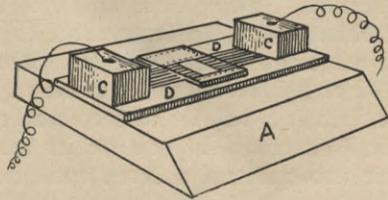


Abb. 27. Einrichtung zur Beobachtung des „elektrischen Transports“ mit dem Ultramikroskop von Cotton und Mouton. A Beleuchtungskörper, C Klemmen zur Verbindung der Stromquelle mit den Elektroden, D Elektroden.

Glaskörper A (Abb. 27), so daß auf ihm zwei Platinfolien von sehr geringer Dicke in Form zweier, in der Mitte getrennter Bänder D Platz finden konnten. Zwei Metallklötze C, an welchen die Zuführungsdrähte des Stromes befestigt waren, standen mit den Folien in leitender Verbindung. Der Raum zwischen den beiden Platin-

bändern wurde mit der zu untersuchenden Flüssigkeit, einer kolloiden Metalllösung, ausgefüllt und mit einem Deckglase überdeckt. Wurde nun ein Strom von ungefähr 30 Volt Spannung durch die Lösung geleitet, so konnte neben der Brownschen Bewegung eine deutliche Wanderung aller im Gesichtsfeld des Mikroskops befindlichen Ultramikronen festgestellt werden. Bei einer Entfernung der Platinelektroden von 15 mm und einer Spannung von 30 Volt brauchten die Teilchen zur Überquerung des Gesichtsfeldes eines Apochromaten von 16 mm Brennweite in Verbindung mit einem Kompensationsokular Nr. 6 (Durchmesser 1,3 mm), einen Zeitraum von 20 Sekunden.

III. Das Ultramikroskop von Scarpa.

Das Ultramikroskop von D. Scarpa unterscheidet sich von dem Ultramikroskop nach Cotton und Mouton nur dadurch, daß die erste totale Reflexion fortfällt. Das beleuchtende Bündel wird dem Objekt von unten zugeführt. Der Glaskörper besitzt die Form eines rechtwinkligen Prismas, das an die Stelle des Abbeschen Kondensors tritt. Im übrigen waren die optischen Verhältnisse die

gleichen wie bei der vorherbeschriebenen Einrichtung. Nur die äußere Gestaltung und die Beleuchtung des Objekts sind verändert worden.

* * *

Auch die Konstruktionen von Cotton-Mouton und Scarpa teilten das Schicksal des Siedentopfschen Ultramikroskops; sie wurden bald nach ihrer Entstehung durch die Spiegelkondensoren verdrängt. Vor der Dunkelfeldbeleuchtung mit zentraler Abbildung im Objektiv hatten sie zwar den Vorteil voraus, daß bei ihnen, wie beim Spaltultramikroskop, die störenden Beugungerscheinungen fortfielen. Dafür trat bei ihnen, wenn es sich nicht gerade um die Abbildung von Ultramikronen handelte, der Azimutfehler, hervorgerufen durch einseitige Beleuchtung, sehr störend auf, was sie für die Beobachtung fadenförmiger ultramikroskopischer Gebilde ganz ungeeignet machte. Sie bilden aber den Übergang zu den Spiegelkondensoren, die die Vorzüge des Ultramikroskops nach Siedentopf mit denen der letztangeführten Konstruktionen vereinen, ohne ihre Fehler zu besitzen.

Fünftes Kapitel.

Der Reichertsche Spiegelkondensor.

I. Die Vorläufer der Spiegelkondensoren.

Die alte Erfahrung, daß die praktische Entwicklung eines Zweiges der Technik oder der Wissenschaft vielfach der theoretischen voraneilt, findet auch in der Geschichte der mikroskopischen Technik ihre Bestätigung. Lange bevor Abbe seine grundlegenden Abhandlungen über die Bildentstehung im Mikroskop veröffentlicht hatte, war den praktischen Mikroskopikern die Abhängigkeit der Auflösungskraft des Mikroskops von der Richtung der beleuchtenden Bündel gegen die aufzulösenden Strukturen des Objekts, also der Wert der schiefen Beleuchtung, bekannt. Insbesondere waren es englische Mikroskopiker, Fachleute und Liebhaber, die sich mit diesen Fragen befaßten. Den Arbeiten dieser Männer verdankte es die englische optische Industrie, daß ihr in der vorabbeschen Zeit die Führerrolle auf dem Gebiet der Mikroskopie und auch auf anderen optischen Gebieten zufiel.

Bereits im Jahre 1838 tat Reade den Schritt von der schiefen Beleuchtung im hellen Felde zur Dunkelfeldbeleuchtung. Er bediente sich dabei sehr einfacher Mittel, nämlich einer Beleuchtungslinse, deren Achse schief zum Mikroskopisch und der Achse des Beobachtungsobjektivs gerichtet war. In der Folgezeit ließen es sich fast alle englischen Optiker angelegen

sein, die Methoden der Dunkelfeldbeleuchtung durch mehr oder minder komplizierte Konstruktionen zu bereichern. Mit den Verhältnissen, unter denen der mikroskopische Abbildungsvorgang verläuft, Verhältnissen, bei denen die Beugung des Lichtes die größte Rolle spielt, war man damals noch nicht vertraut. Man glaubte, zu einer gesteigerten oder gar vollständigen Auflösung der Strukturen des Objekts zu gelangen, wenn man durch möglichst starke Bestrahlung des letzteren unter Ausschaltung des beleuchtenden Lichtes eine diffuse Strahlung, eine Art Selbstleuchten des Objekts hervorriefe. Diese Methode, die heute bei ultramikroskopischen, diskreten Objekten mit großem Erfolg angewendet wird, mußte bei gewöhnlichen mikroskopischen Objekten — damals kamen nur solche in Betracht — aus den früher angeführten Gründen (s. S. 14) versagen.

Unter den zahllosen Konstruktionen, die der Readeschen Einrichtung folgten, ragen zwei besonders hervor, weil sie mit den einfachsten Mitteln ein Maximum der beabsichtigten Wirkung erreichten. Es sind dies das Paraboloid von Wenhams, in seiner vollkommensten Gestalt im Jahre 1856 angegeben, und die Spiegellinse von Stephenson, die in ihrer ursprünglichen Form als „catroptic immersion condensor“ bezeichnet und im Jahre

1879 beschrieben wurde. Wenhams nahm an, daß die beleuchtenden Strahlen das Objekt schräg von oben treffen, nachdem sie am Deckglase eine totale Reflexion erlitten haben. Wenn eine kleinere, punktförmige Lichtquelle zur Bestrahlung verwendet wird, so ist diese Art der Beleuchtung bei passender Auswahl der Objektträgerdicke leicht durchzuführen.

Der dioptrische Kondensator im Abbeschen Beleuchtungsapparat, mit dessen Hilfe alle Grade der schiefen Beleuchtung und die Dunkel-feldbeleuchtung selbst mit leichter Mühe hervorgerufen werden können, verdrängte diese Einrichtungen mit einem Schlage, so daß sie fast ganz in Vergessenheit gerieten. Nur das Wenhamsche Paraboloid, seinerzeit das bekannteste und am meisten angewendete Hilfsmittel zur Dunkel-feldbeleuchtung, wurde als Beispiel einer fehl gegangenen Entwicklung in die meisten Lehrbücher und Kompendien der mikroskopischen Technik aufgenommen und war deshalb auch jenen Optikern bekannt, die die historische Entwicklung der englischen Mikroskopie nicht kannten.

Auf die Stephenson'sche Linse traf das leider nicht zu und so sah sich Verf. bei der Einführung der Spiegellkondensatoren in die ultramikroskopische Technik genötigt, dieses Hilfsmittel „nacherfinden“ zu müssen, eine recht dankbare Aufgabe. Die ersten auf diesen Gegenstand bezüglichen Arbeiten fielen in das Jahr 1903. Sie sind durch die zu jener Zeit schon bekannten Arbeiten von Siedentopf und Zsigmondy nicht beeinflusst worden. Verf. trug sich damals mit dem Gedanken, einen Ersatz für den dreiteiligen Abbeschen Kondensator mit der numerischen Apertur 1,4 zu schaffen und zwar sollte der Teil des Strahlenkegels mit der numerischen Apertur 1,4—1,0 durch Spiegelung an einer Kugelfläche, der Bezirk von 1,0—0 durch vorgeschaltete Linsen, also durch Brechung, erzeugt werden. Dieser Gedanke wurde fallen gelassen; er ist aber später bei der Konstruktion der Reichert'schen Universal-kondensatoren verwertet worden. Die erste Anwendung der noch von diesen Versuchen her vorhandenen Spiegellinien für ultramikroskopische Zwecke wurde im Jahre 1905 gemacht, wobei folloide Lösungen zur Untersuchung gelangten. Im folgenden Jahre wurden die Versuche durch eine Anregung Schaudinns, des Entdeckers der Spirochaete pallida, auf lebende Bakterien ausgedehnt; dabei wurde die besondere Eignung des neuen, „alten“ Hilfsmittels für bakteriologische Untersuchungen festgestellt.

Seimstädt, Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie.

II. Der Reichert'sche Spiegellkondensator.

Die optische Wirkungsweise des Spiegellkondensators — unter diesem Namen wurde diese Einrichtung von der Firma C. Reichert in Wien in die mikroskopische Technik eingeführt — ist schon im ersten Kapitel erläutert worden. Auf seine ursprüngliche Form, die von der gegenwärtigen in mehr als einer Beziehung stark abweicht (insbesondere in Bezug auf Brennweite, Objektträgerdicke und Montierung), soll nicht näher eingegangen werden. Die derzeitige Ausführungsform dieser Spiegellkondensatoren ist folgendermaßen beschaffen:

Die in Abb. 10 dargestellte Spiegellinse, deren Spiegelbelag durch einen Lacküberzug geschützt ist, wird in einen Träger aus Glas eingekittet, dessen Gestalt aus Abb. 28 hervorgeht.

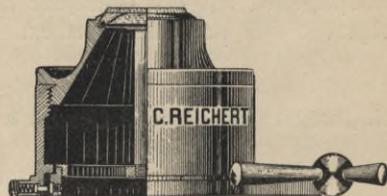


Abb. 28. Reichert'scher Spiegellkondensator, teilweise geöffnet, um die Spiegellinse und ihre Träger zu zeigen.

Die seitlichen Begrenzungsflächen dieses Trägers sind, damit sie besser gefaßt werden können, konisch abgeschragt. Damit die zur Reinigung des Kondensators dienenden Flüssigkeiten (Xylol, Benzin, Spiritus) nicht in die Kittfuge eindringen und die Kittung auflösen können, ist die Oberfläche des Trägers und des Kondensators, die in einer Ebene liegen, mit einer dünnen Schutzplatte aus Glas versehen, die durch eine Kittschicht aus Kanadabalsam mit der Kondensatorfläche verbunden ist. Das Ganze wird von einer Metallfassung gehalten, deren unterer, röhrenförmiger Teil genau in die Schiebehülse des Abbeschen Kondensators paßt. Der Kondensator muß so justiert werden, daß seine Oberfläche in die Tischenebene des Mikroskops zu liegen kommt und seine optische Achse mit der des Mikroskops zusammenfällt. Der untere Rand der Fassung trägt ein Scharnier, an dem ein ringförmiger, mit einer Einschnappvorrichtung versehener sternblendenförmiger Halter ausklappbar angeordnet ist. Der mittlere Teil dieses Halters trägt eine dünne, hohle Säule, die zur Aufnahme einer Stempelblende dient, welche mittels federnder Zungen in der Höhlung der Säule festgehalten wird. Jedem Kondensator werden zwei Stempelblenden beigegeben. Die eine, mit einem Durchmesser von

9,5 mm, wird eingesteckt, wenn mit Trockenobjektiven beobachtet werden soll. Die zweite, deren Durchmesser 11 mm beträgt, dient zur Beobachtung mit Immersionsobjektiven. Wird die Stempelblende ausgeklappt und beiseite geschlagen, so kann zur ungefähren Einstellung und zum Vergleich mit gewöhnlicher Spiegelbeleuchtung bei durchfallendem Licht gearbeitet werden.

Die Konstanten der Spiegellinse sind so bemessen, daß Objektträger von 1 mm Dicke benutzt werden können. Dieser Wert darf nur um ein geringes, etwa um 0,1 mm, überschritten werden. Dagegen können dünnere, bis zu 0,7 mm dicke Objektträger ohne Nachteil verwendet werden. Die Oberfläche des Kondensors muß durch eine möglichst dünne Schicht Immersionsflüssigkeit mit der Unterseite des Objektträgers optisch verbunden werden.

III. „Äußere“ und „innere“ Apertur des Spiegelfondensors.

Gewisse Arten von Spiegelfondensoren, nämlich die Paraboloiden (s. S. 50), erlauben es, die numerische Apertur des zur Beleuchtung verwendeten Strahlenkegels auf ihren Höchstwert, der gleich dem Brechungsindex des verwendeten Kronglases bzw. der Immersionsflüssigkeit, also = 1,51 ist, zu steigern. Mit Rücksicht darauf, daß der Objektträger eine nicht zu geringe, handliche Dicke aufweisen muß, ist man bisher nie über die numerische Apertur von 1,4 für die äußeren Strahlen des Beleuchtungskegels hinausgegangen. Da aber die Objekte, zu deren Untersuchung der Spiegelfondensor verwendet wird, zum allergrößten Teil in Wasser oder wässrigen Lösungen und in Flüssigkeiten, z. B. natürlichem Serum, eingebettet sind, deren Brechungsindex nicht allzu sehr von dem des Wassers abweicht, so ist es ganz unnötig, die „äußere“ numerische Apertur der Spiegellinse größer als den Brechungsindex des Wassers, also größer als 1,33, zu wählen. Die Strahlen mit einer numerischen Apertur über 1,33 würden nur verschleiernd wirken, weil sie durch Unvollkommenheiten und Unreinlichkeiten der Objektträgeroberfläche abgelenkt werden, ohne daß sie, wie die unter 1,33, zur Erhöhung der Lichtstärke der beobachteten Objekte beitragen. Der Wert der numerischen Apertur für die äußersten Strahlen des Beleuchtungskegels ist bei der Mehrzahl der Spiegelfondensoren = 1,3.

Die „innere“ numerische Apertur des Spie-

gelfondensors ist von wesentlich anderen Faktoren abhängig. Sie ist zunächst durch die numerische Apertur des zur Beobachtung verwendeten Objektivs begrenzt, weil diese, soll überhaupt eine Beleuchtung im dunklen Felde zustande kommen, kleiner sein muß, als die innere numerische Apertur des Kondensors. Die Eigenart der in Betracht kommenden Objekte bringt es mit sich, daß fast immer mit stärkeren Vergrößerungen, also mit Objektiven von höherer numerischer Apertur, beobachtet wird. Deshalb hat man der inneren Apertur der Spiegelfondensoren mit nur einer Blende durchweg den Wert 1,0 gegeben. Es kann dann kein Strahl des beleuchtenden Kegels aus dem Präparat heraustreten, so lange das Beobachtungsobjektiv ein Trockensystem ist. Wird der Spiegelfondensor mit mehreren Stempelblenden ausgerüstet, wie es bei den Reichert'schen Universalfondensoren der Fall ist, so wird die kleine Blende so bemessen, daß sie noch Strahlen von kleinerer Apertur als 1,0, im angeführten Falle noch Strahlen mit einer Apertur von 0,9 passieren läßt. Werden Objekte mit einem geringeren Öffnungswinkel gebraucht, so wird dadurch die Lichtausbeute etwas günstiger.

Die Erfahrung hat gelehrt, daß die Dunkelheit des Feldes und damit die Kontrastwirkung der leuchtenden Objekte umso größer wird, je mehr sich die innere Apertur des Spiegelfondensors von der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs unterscheidet. Bei feinen Objekten, z. B. sehr kleinen Ultramikronen, Bakterieneiweißn u. a., zu deren Wahrnehmung die Kontrastwirkung gegenüber dem dunklen Untergrund besonders groß sein muß, müssen besondere Hilfsmittel herangezogen werden, durch die entweder die innere Apertur des Kondensors erhöht oder die Apertur des Beobachtungsobjektivs herabgesetzt wird. Das erstere läßt sich sehr leicht dadurch erzielen, daß der hohle Kegel des Beleuchtungsbündels durch größere Stempelblenden entsprechend eingengt wird. Bei den Zweiflächenfondensoren (s. S. 55), die ausnahmslos mit fester Blende versehen werden, wird die numerische Apertur des Objektivs durch eine hinter die Objektivlinsen in die Fassung eingeschraubte Rohrbende, die später beschrieben werden wird (s. Abb. 29), verringert. Durch beide Maßnahmen, die so ziemlich die nämliche Wirkung haben, wird die Lichtstärke bedeutend herabgesetzt, weil gerade die vom Objekt abgelenkten Strahlen größter Intensität, die in der Richtung der beleuchtenden

Büschel verlaufen, von der Bilderzeugung ausgeschaltet werden.

Andererseits hat sich gezeigt, daß die deutliche Wahrnehmung größerer Objekte nicht an die Erfüllung der Bedingung, die absolute Dunkelheit des Feldes verlangt, geknüpft ist. Es ist eben nur erforderlich, daß der Gegensatz zwischen dem weniger dunklen Untergrund und dem leuchtenden Objekt genügend groß ist. Bei stärkeren Lichtquellen, schon bei Schwachstrom-Bogenlampen, kann das Feld ein beinahe milchiges Aussehen haben. Trotzdem ist es möglich, besonders unter Anwendung von Immersionsobjektiven, selbst feinere Objekte, wie *Spirochaeta pallida*, ohne Mühe festzustellen. Unzweifelhaft leidet ein solches mikroskopisches Bild an dem Schönheitsfehler der mangelnden Dunkelheit des Hintergrundes, der sich aber mit einfachen Mitteln leicht beseitigen läßt.

Bei länger dauernden Beobachtungen, wie sie zur Verfolgung gewisser Vorgänge in lebenden Zellkörpern nötig sind, ist eine schwache Aufhellung des dunklen Feldes und die damit Hand in Hand gehende Verminderung der Kontrastwirkung sogar von Vorteil, weil dann die Augen des Beobachters weniger angestrengt werden. Tritt im Verlaufe der Untersuchung ein Stadium ein, in dem zum Zwecke deutlicherer Wahrnehmung stärkere Kontrastwirkung notwendig ist, so kann man durch Einschaltung größerer Blenden die Dunkelheit des Feldes vergrößern. In dieser Hinsicht sind die Kondensoren mit veränderlicher innerer Abblendung denen mit fester Blende gegenüber im Vorteil.

IV. Verwendung von Immersionsobjektiven mit Rohrblende.

Ist das Beobachtungsobjektiv ein Immersionssystem, das aus dem Beleuchtungsbandel auch Strahlen mit einer größeren numerischen Apertur als 1,0 aufnehmen kann, so muß es durch eine röhrenförmige Blende so abgeblendet werden, daß die beleuchtenden Strahlen in ihrer Gesamtheit im Objektiv zurückgehalten werden. Abb. 29 verdeutlicht die Anordnung einer Rohrblende im Immersionsobjektiv. Die Öffnung der Rohrblende *b* läßt ein Strahlenbandel passieren, dessen numerische Apertur höchstens 0,8—0,9 beträgt. Dadurch sinkt das Immersionsobjektiv, was seine Auflösungsfähigkeit anbelangt, auf die Stufe eines stärkeren Trockensystems hinab. Soll es wieder seine höchste Leistungsfähigkeit entfalten, so muß die Rohrblende entfernt werden.

Ein derart abgeblendetes Immersionsobjektiv hat für ultramikroskopische Zwecke den schätzenswerten Vorteil, erheblich lichtstärker

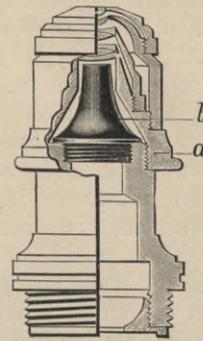


Abb. 29. Immersionssystem mit Rohrblende. *a* Gewindestück, das beim Einsetzen der Rohrblende abgeschraubt werden muß. *b* Rohrblende.

zu sein, als ein Trockensystem mit gleicher numerischer Apertur. Das läßt sich dadurch erklären, daß besonders beim Gebrauch von homogenen Immersionen die Verluste durch Spiegelung an der Oberfläche des Deckglases und an der ebenen Fläche der Frontlinse des Objektivs gänzlich entfallen. Bekanntlich wächst die Größe des Lichtverlustes durch Spiegelung bei der Brechung eines Strahlenbündels an einer polierten Fläche mit der Neigung des Bündels gegen diese. Der Unterschied der Brechungsindizes der Medien, die durch die Fläche von einander geschieden werden, spielt gleichfalls eine große Rolle. Demnach werden bei einem Trockensystem gerade die Strahlen größter Neigung gegen die optische Achse des Mikroskops durch die zweifache Spiegelung stark geschwächt, ein Nachteil, der sich beim Vergleich der Wirkungsweise eines entsprechend abgeblendeten Immersionsobjektivs und eines Trockensystems sehr stark bemerkbar macht, besonders dann, wenn man die Vergrößerung in beiden Fällen gleich groß wählt. Die Verwendung der Immersionsobjektive hat noch den Vorzug der stärkeren Vergrößerung, wobei die höhere Lichtstärke dieser Anordnung sehr zu ihren Gunsten in die Waagschale fällt.

Die Abblendung der beleuchtenden Strahlenbündel durch die hinter die Linsen des Objektivs geschaltete Rohrblende hat gegenüber der Abblendung durch Totalreflexion den in Betracht der Lichtstärke dieser Einrichtung nicht schwerwiegenden Nachteil, daß sich ein absolut dunkles Feld nicht erzielen läßt, wenn man nicht eine Rohrblende mit besonders enger Öffnung verwendet. Die die Randteile des Objektivs durchsetzenden beleuchtenden Strah-

len veranlassen die Bildung von Spiegelbildern innerhalb des Objektivs. Die von diesen Spiegelbildern ausgehenden Strahlen können die Rohrblende zum Teil passieren und hellen dadurch den dunklen Untergrund etwas auf.

Nach W. von Ignatowski läßt sich dieser Übelstand dadurch vermeiden, daß die Ablendung innerhalb des Objektivs vorgenommen wird. Ignatowski versteht zu diesem Zwecke die Objektivlinse, einschließlich der Frontlinse, an ihren Rändern mit einem Lackring, der die numerische Apertur des Immersionssystems genau wie die Rohrblende auf 0,9—0,95 herabsetzt. Es entsteht dann ein vollkommenes, dunkles Feld wie bei der Ablendung durch Totalreflexion am Deckglas. Diese Methode, die zur Zeit die optisch vollkommenste ist, hat nur den einen Nachteil, daß das in seiner numerischen Apertur beschränkte Immersionsobjektiv zu einem Spezialobjektiv für Dunkelfeldbeleuchtung wird und an Auflösungskraft nur einem starken Trockensystem gleichkommt.

Da bei der Ablendung der Beleuchtungsbündel im Immersionssystem die Randteile des Objektivs in stärkerem Maße zur Erzeugung des Bildes herangezogen werden, ist es zweckmäßig, apochromatische Immersionen zu verwenden. Bei diesen ist die Güte des Bildes stark beeinträchtigende chromatische Differenz der sphärischen Aberration so weit als möglich herabgemindert. Auch wenn Trockensysteme (bei der Ablendung durch Totalreflexion) verwendet werden und auf Farbenreinheit des Bildes Wert gelegt wird, ist es angezeigt, Apochromate und Kompensationsokulare zur Beobachtung zu wählen. Um die Kontrastwirkung möglichst zu steigern, kann auch bei diesen Objektiven eine Rohrblende eingeschaltet werden.

V. Die Immersion zwischen Objektträger und Kondensor.

Wie schon auf S. 34 angeführt, ist es unerlässlich, daß die Oberfläche des Spiegellkondensors mit der Unterseite des Objektträgers optisch verbunden ist. Bleiben diese beiden Flächen durch eine noch so dünne Luftschicht getrennt, so findet eine Beleuchtung des Objekts nicht statt. Abb. 30 zeigt das sehr anschaulich. L ist die Spiegellinse des Kondensors, an deren versilberter Kugelfläche N die beleuchtenden Strahlen so reflektiert werden, daß sie nach einer totalen Reflexion an der ebenen Vorderfläche der Linse L das Objekt im Punkte B treffen. Bei A verlassen sie den Körper der Spiegellinse und treten in den Ob-

jektträger Ot ohne Lichtverlust ein, wenn für die Immersion eine Flüssigkeit verwendet wird, deren Brechungsindex mit dem des Glases genau übereinstimmt. Man kann auch Wasser als Immersionsflüssigkeit verwenden. In diesem Falle findet jedoch eine teilweise Reflexion der Strahlen sowohl an der Oberfläche des Kondensors als auch an der Unterseite des Objektträgers statt. Die durch die zweifache Spiegelung herbeigeführte Lichteinbuße ist bedeutend, weil der Neigungswinkel der beleuchtenden

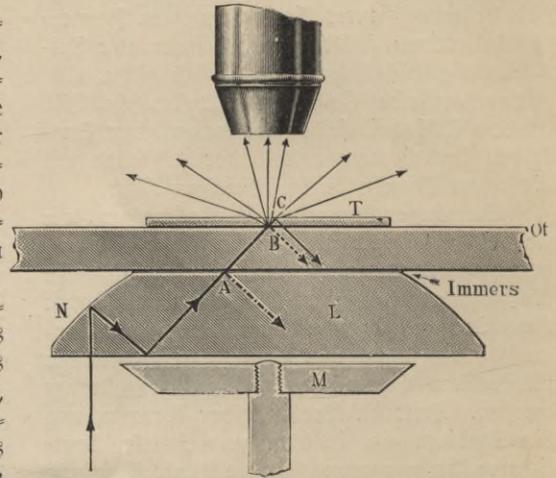


Abb. 30. Strahlengang in einem Spiegellkondensor nach seiner Verbindung mit Objektträger und Deckglas durch eine Immersionsflüssigkeit. L Spiegellinse, Ot Objektträger, T Deckglas, M Blende, Immers Immersionsflüssigkeit.

Strahlen ziemlich groß ist und weil die Brechungsindizes von Glas und Wasser nicht unbeträchtlich von einander abweichen. Wenn es darauf ankommt, die größte Lichtstärke zu erzielen, wie zum Beispiel bei Momentaufnahmen lebender Bakterien, so ist unbedingt Zedernöl als Immersionsflüssigkeit zu benützen. Für gewöhnliche Beobachtungen, insbesondere mit stärkeren Lichtquellen, genügt dagegen Wasser vollständig. Es wird sogar mit Vorliebe verwendet, weil sich Kondensor und Objektträger dann leichter reinigen lassen und weil die so störenden Luftblasen in der Immersionsschicht in weit geringerem Maße auftreten als bei Öl.

Beim Eintritt der Strahlen in das Präparat bei B findet ebenfalls eine Schwächung der beleuchtenden Strahlenbündel durch teilweise Reflexion statt. Diese Schwächung läßt sich nicht vermeiden, es sei denn, daß ein höherbrechendes Medium als Wasser (etwa Glycerin) zur Einbettung der ultramikroskopischen Objekte verwendet wird. Bei C endlich erleidet das be-

leuchtende Strahlenbündel an der Oberfläche des Deckglases T eine totale Reflexion und kehrt dann in die Spiegellinse zurück.

VI. Die optischen Fehler der Spiegellinse.

Für das Verständnis der Wirkungsweise der Spiegelfondensoren ist die Kenntnis der Art und Weise, in der sie das Bild der Lichtquelle in der Ebene des Präparates abbilden, von Wichtigkeit. Das Lichtquellenbild entsteht im Präparat unter Vermittlung einer Beleuchtungslinse, deren Entfernung von der Lichtquelle so bemessen wird, daß sie entweder parallele Lichtbündel auswendet oder ein reelles Bild der Lichtquelle in der Eintrittsöffnung des Spiegelfondensors entwirft. Im ersten Falle entsteht in der Präparatebene ein Bild der Lichtquelle. Im zweiten dagegen wird die Beleuchtungslinse im Präparat abgebildet. Die beträchtlichen Verschiedenheiten beider Anordnungen sollen später eingehend behandelt werden (s. S. 39). Zunächst wollen wir uns mit dem Einfluß der optischen Fehler der Spiegellinse auf die Beleuchtung des Objekts beschäftigen.

Die wirksame Fläche der Spiegellinse hat Kugelform. Sie ist also nicht imstande, ein parallelstrahliges Lichtbündel in einem Punkt zu vereinigen, d. h. ein scharfes Bild einer unendlich weit entfernten Lichtquelle zu liefern. Vielmehr schneiden sich alle Strahlen eines aus dem Unendlichen kommenden Lichtbündels auf der Fläche eines Körpers, dessen Querschnitt die Katakaustik der Kugeloberfläche genannt wird und der eine Kollkurve darstellt, die ihrer Herzform wegen den Namen Kardioide führt. Diesen Abbildungsfehler, der durch die nicht punktförmige Vereinigung paralleler Strahlen entsteht, nennt

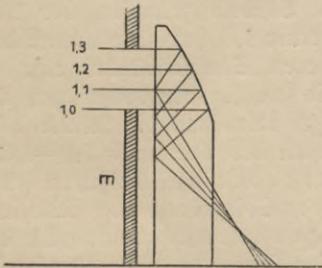


Abb. 31. Sphärische Aberration der Spiegellinse.

man Kugelgestaltsfehler oder sphärische Aberration. Abb. 31 verdeutlicht die Entstehung und das Wesen dieses Fehlers. Die Ablenkung der Spiegellinse ist hier so bemessen, daß sie eine „äußere“ numerische Aper-

tur von 1,3 hat, während durch die Stempelblende m die „innere“ numerische Apertur auf 1,0 festgesetzt wird. Der Verlauf der Strahlen, die an den Rändern der Kreisringblende vorübergehen, ist berechnet und in die Abbildung eingetragen. Die äußeren Strahlen vereinigen

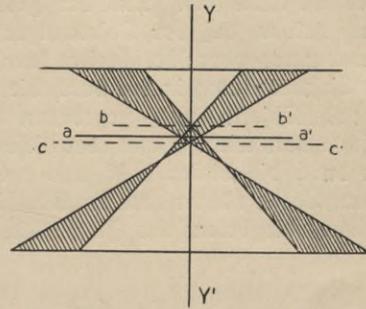


Abb. 32. Strahlengang bei der Spiegellinse; der von den beleuchtenden Strahlen erfüllte Raum ist schraffiert.

sich nach Eintritt in den Objektträger in kürzerer Entfernung von der Spiegellinse als die inneren. Die mittleren, mit den numerischen Aperturen 1,1 und 1,2, gelangen zwischen ihnen zur Vereinigung. Abb. 32 zeigt den Querschnitt des von den beleuchtenden Strahlen erfüllten Raumes, der durch Schraffierung hervorgehoben ist.

Siedentopff¹⁴⁾ hat ein Verfahren zur objektiven Herstellung des Strahlengangs und der Aberrationen angegeben. Es besteht darin, daß eine schlitzförmige Blende vor den Kondensorgeschaltet wird, die gewissermaßen einen Querschnitt aus den beleuchtenden Bündeln vor und nach der Spiegelung herauschneidet. An die Stelle des Objektträgers tritt eine fluoreszierende Flüssigkeit, in der sich der Weg, den die durch die Schlitzeblende begrenzten Strahlenbündel nehmen, deutlich abzeichnet, so daß er photographiert werden kann. W. von Ignatowski hat die fluoreszierende Flüssigkeit durch eine objektträgerähnliche Platte aus dem außerordentlich stark fluoreszierenden Uran-glas ersetzt. Der Weg der beleuchtenden Strahlen wird durch eine zur Schlitzeblende parallele, polierte Fläche beobachtet und photographiert. Die schraffierte Fläche in Abb. 32 zeigt deutlich, wie der Strahlenverlauf im Objektträger und Präparat der Spiegellinse aussieht.

Die Spiegellinse liefert demnach im Aperturbereich 1,3—1,0 von einer punktförmigen, weit entfernten Lichtquelle keinen Brennpunkt, sondern einen Lichtfleck. Dieser Fleck hat seine kleinste seitliche Ausdehnung in der durch die Linie a a' bezeichneten Ebene, der Ebene des kleinsten Zerstreu-

ungskreis, die man in erweitertem Sinne als Brennebene des Kondensors bezeichnen kann. In diese Ebene wird man zweckmäßig den zu beleuchtenden Dünnschnitt verlegen; sie liegt ungefähr 0,9 mm über der Oberfläche des Kondensors. Dieser Betrag ist dann die mittlere Dicke des Objektträgers. Aus der Zeichnung geht auch hervor, daß der Objektträger diese Dicke etwas unter- oder überschreiten kann, ohne daß die Lichtverteilung in der durch die Oberfläche des Objektträgers gegebenen Ebene wesentlich anders wird. Wenn aber diese Ebene sich den durch die Linien $b\ b'$ und $c\ c'$ angedeuteten Lagen nähert oder darüber hinausgeht, nimmt die beleuchtete Fläche die Form

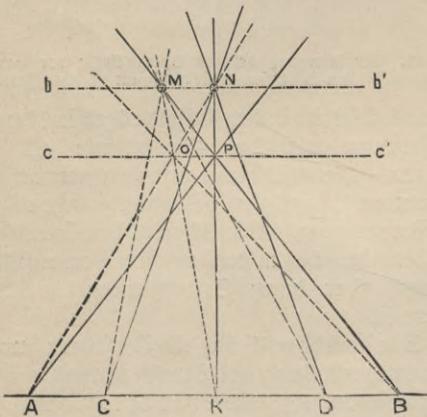


Abb. 33. Darstellung des Beleuchtungsvorganges bei einer ausgehenderen Lichtquelle.

eines Kreisrings an. Die Mitte des Bildfeldes bleibt dann dunkel. Diese Art der Lichtverteilung macht es erklärlich, daß der Kondensor mit Spiegellinse nicht so empfindlich in bezug auf genaue Einhaltung der Objektträgerdicke ist.

Wenn man annimmt, daß sich das sichtbar zu machende ultramikroskopische Teilchen auf der Achse $y\ y'$ des Spiegellinse befindet und zwar innerhalb der durch die Linien $b\ b'$ und $c\ c'$ festgelegten Ebenen, so ist es augenscheinlich, daß die Bestrahlung des Teilchens bei Anwendung einer kleinen, unendlich fernen Lichtquelle nur sehr mangelhaft sein kann. Liegt das Teilchen in der Ebene $b\ b'$, so wird es nur von den inneren Strahlen mit der numerischen Apertur 1,0 beleuchtet. In der Ebene $c\ c'$ treffen es nur die äußeren Strahlen des Beleuchtungsbündels mit der Apertur 1,3. In der bevorzugten Ebene $a\ a'$ kommen dagegen Strahlen einer mittleren Apertur zur Geltung. Damit ein beispielsweise in der Ebene des kleinsten Zerstreungskreises $a\ a'$ befindliches

Teilchen von Strahlen aller numerischen Aperturen zwischen 1,3 und 1,0 getroffen wird, muß die Lichtquelle eine gewisse Ausdehnung besitzen. Abb. 33 soll diesen Punkt näher erläutern.

$K\ N$ sei darin die Achse des Spiegellinse, $A\ B$ die äußere und $C\ D$ die innere Blende. Der Schnittpunkt der Strahlen, die die numerische Apertur 1,3 haben, sei in P gelegen. Die Brennebene dieser Strahlen ist dann durch die Linie $c\ c'$ bezeichnet. Die Linie $b\ b'$ gibt die entsprechende Ebene für die Strahlen geringster Neigung an, die sich in N schneiden. Befindet sich im Punkt N ein ultramikroskopisches Teilchen, so wird es durch die Strahlen niedrigster Apertur allein beleuchtet, wenn man zu diesem Zweck ein achsenparalleles Beleuchtungsbündel, das durch die ausgezogenen Linien dargestellt wird, verwendet.

Hat aber die Lichtquelle eine solche Ausdehnung, daß bei ihrer Abbildung durch die Spiegellinse noch Strahlenbündel nutzbar werden, deren Hauptstrahl die durch $K\ M$ bezeichnete Neigung aufweist, so ergeben sich folgende Verhältnisse:

Die Strahlen des schiefen, von einem seitlichen Punkt der Lichtquelle ausgehenden Bündels (punktiert gezeichnet) schneiden sich im Punkte O der Ebene $c\ c'$ und im Punkte M der Ebene $b\ b'$. Der den Punkt O passierende Strahl $A\ N$ des schiefen Bündels mit einer numerischen Apertur 1,3 trifft das Teilchen N , das demnach auch von Strahlen der höchsten Apertur, die die Spiegellinse liefert, beleuchtet wird. Dafür wird das benachbarte Teilchen M , das gleichfalls in der Vereinigungsebene der Strahlen niedrigster Apertur gelegen ist, von dem durch P gehenden Strahl $B\ M$ des achsenparallelen Bündels getroffen, der die numerische Apertur 1,3 hat. Die Punkte der Lichtquelle, deren Strahlenbündel eine Neigung haben, die zwischen den Richtungen $K\ N$ und $K\ M$ liegt, beleuchten die Punkte N und M mit Strahlen der Aperturen 1,0—1,3, so daß beide trotz der sphärischen Aberrationen der Spiegellinse von Strahlen aller Neigungen beleuchtet werden, die die kreisringförmige Blende des Spiegellinse passieren. Durch ein Bündel, dessen Hauptstrahl symmetrisch zu $K\ M$ liegt, werden dem Punkt N ebenfalls Strahlen der Apertur 1,30 zugeführt, die eine gleiche, aber entgegengesetzte Neigung wie der Strahl $A\ N$ haben.

Hierbei ist stillschweigend vorausgesetzt worden, daß eine Lichtquelle zur Verfügung steht,

die eine gewisse seitliche Ausdehnung hat und dabei gleichmäßig leuchtet. Diese Voraussetzung trifft nicht immer zu. Sie ist eigentlich nur dann vollkommen erfüllt, wenn mit Gasglühlicht gearbeitet wird. Wendet man aber, wie das meistens der Fall ist, eine Schwachstrombogenlampe an, so werden nur die in unmittelbarer Nähe der Kondensorachse liegenden Punkte von Strahlen aller Aperturen zwischen 1,0 und 1,3 getroffen. Die außerhalb des Punktes M gelegenen Punkte in der Ebene $h\ h'$ werden überhaupt nur von Strahlen höherer Apertur (Strahl BO) getroffen. Daraus ergibt sich bei Lichtquellen geringerer Ausdehnung ein merkbarer Lichtabfall der beleuchteten Fläche nach ihren Rändern zu, den man sehr gut wahrnehmen kann, wenn man den vom Kondensor in der Präparatenebene erzeugten Lichtfleck bei schwacher Vergrößerung (Objektiv von 18—20 mm Brennweite, Okular II) beobachtet.

VII. Der Einfluß der Beleuchtungslinse auf die Lichtstärke des Spiegelfondensors.

Für die Beleuchtung des Objekts durch eine Lichtquelle von mittlerer seitlicher Ausdehnung, z. B. eine Schwachstrombogenlampe, kommen vier Möglichkeiten in Betracht.

Zunächst kann man die Lichtquelle ohne Zuhilfenahme einer Beleuchtungslinse im Präparat abbilden (Beleuchtung durch divergente Strahlenbündel). Diese Art der Beleuchtung deckt sich praktisch mit der auf S. 37 besprochenen, durch eine kleine, mehr oder weniger weit entfernte Lichtquelle. Der durch die Spiegellinse erzeugte Lichtfleck ist dann nicht viel größer als der, den ein achsenparalleles, aus dem Unendlichen kommendes Strahlenbündel erzeugen würde. Da aber, wie vorher gezeigt worden ist, das Bild der Lichtquelle im Präparat eine größere Ausdehnung haben muß als der kleinste Zerstreungskreis, damit ein Punkt in der Präparatenebene von Strahlen aller im Beleuchtungsbündel vorkommenden numerischen Aperturen getroffen wird, so liefert die Beleuchtung mit divergierenden Strahlen ganz unzureichende Ergebnisse. Sie kommt daher für die Praxis nicht in Betracht.

Aus diesen Ausführungen ergibt sich, daß man dafür Sorge tragen muß, daß das Bild der Lichtquelle in der Präparatenebene vergrößert wird. Das erreicht man am einfachsten durch Einschaltung einer Beleuchtungslinse in den Strahlengang. In bezug auf die Lichtquelle wirkt diese Linse wie eine Lupe, die jene nach

Maßgabe ihrer Brennweite, die gewöhnlich 80 mm beträgt, vergrößert. Die Einschaltung einer solchen Beleuchtungslinse hat die nämliche Wirkung, als wenn eine Lichtquelle von bedeutend größerer Fläche ohne Beleuchtungslinse angewendet wird.

Ist die Lichtquelle im Abstand der Brennweite vor der Linse angeordnet, so tritt aus dieser ein paralleles Strahlenbündel aus; die Lichtquelle liegt also scheinbar im Unendlichen. Bei dieser Anordnung, nämlich bei entsprechender Vergrößerung der Lichtquelle durch die Beleuchtungslinse und Beleuchtung mit parallelen Strahlen, ist die Lichtverteilung in der Präparatenebene derart, daß alle Punkte des Objekts in der Nähe der Mikroskopachse, die bei stärkeren Vergrößerungen zur Abbildung gelangen, von Strahlen der numerischen Aperturen 1,0—1,3 getroffen werden.

Man ist aber noch im Stande, die Ausdehnung der gleichmäßig beleuchteten Fläche im Präparat darüber hinaus zu vergrößern und zwar durch die Anwendung konvergenter Strahlenbündel zur Beleuchtung des Objekts. Die Entfernung der Beleuchtungslinse von der Lichtquelle wird dann so bemessen, daß das vergrößerte Bild der letzteren in der Nähe der Eintrittspupille des Spiegelfondensors erzeugt wird, gewöhnlich auf dem Planspiegel des Mikroskops. Unter diesen Umständen übertrifft die Größe der beleuchteten Fläche im Präparat den Durchmesser des mikroskopischen Gesichtsfelds um ein Vielfaches.

Ein Sonderfall der Beleuchtung mit konvergenter Strahlen ist dann gegeben, wenn das von der Beleuchtungslinse entworfene Bild in die Eintrittsöffnung, genauer gesagt, in die Hauptebene des Spiegelfondensors fällt. In diesem Fall wird die Austrittsöffnung der Beleuchtungslinse im Präparat abgebildet. Das von der Beleuchtungslinse erzeugte Lichtquellenbild muß dann so groß sein, daß die äußere Öffnung des Spiegelfondensors von ihm vollständig ausgefüllt ist. Da der Durchmesser der äußeren Öffnung der Reichertischen Spiegelfondensoren etwa 13 mm beträgt, so darf der Durchmesser des von der Beleuchtungslinse entworfene Lichtquellenbildes nicht kleiner sein. Die Konzentration der beleuchtenden Strahlen auf dem Mikroskopspiegel hat dieselbe Wirkung. Sie wird überall da angewendet, wo die höchste Lichtstärke gebraucht wird. Das ist z. B. der Fall bei Momentaufnahmen lebender Bakterien, kinematographischen Aufnahmen schnell ablaufender Vorgänge und dergleichen.

Für die Zwecke der gewöhnlichen (visuellen) Beobachtung hat die Methode der Beleuchtung mit konvergenten Strahlen einen schwerwiegenden Nachteil. Die verhältnismäßig große Ausdehnung der beleuchteten Fläche im Präparat hat eine starke Wärmezufuhr im Gefolge, da fast alle von der Beleuchtungslinse ausgehenden Strahlen in das Präparat gelangen. Die Verteilung der dem Objekt mit den beleuchtenden Strahlen zugeführten Wärmemenge durch Ableitung auf die nichtbeleuchteten Stellen des Präparats kann nicht so rasch erfolgen, als bei der Beleuchtung mit parallelen Strahlen, wobei die beleuchtete Fläche eine bedeutend geringere Ausdehnung hat. Deshalb tritt bei konvergenter Beleuchtung eine schnelle Erhitzung der in der Nähe der optischen Achse gelegenen Präparatstellen ein, die einerseits Strömungen in der Einbettungsflüssigkeit hervorruft, andererseits physiologische Veränderungen an den Zellen und Organismen im Gefolge hat. Rote Blutkörperchen nehmen beispielsweise bei Beleuchtung mit konvergenten

Strahlen bald die bekannte Stechapfelform an; weiße Blutkörperchen zerfallen sehr rasch, während Bakterien ihre Bewegung nach kurzer Zeit einstellen und absterben. Deshalb ist es zweckmäßig, bei Beleuchtung mit konvergenten Strahlen die Wärmestrahlen durch Absorption in einer Flüssigkeitsschicht (Wasserkammer) zurückzuhalten.

Die große Ausdehnung der beleuchteten Fläche im Präparat hat durch Reflexbildung innerhalb der Linjen des Objektivs eine schwache Aufhellung des dunklen Hintergrundes zur Folge, die aber wegen der außerordentlichen Leuchtkraft der bestrahlten Objekte nicht sehr ins Gewicht fällt. Bei der Beobachtung mit freiem Auge ist diese übermäßige Lichtstärke, wenn nicht gerade schwächere Lichtquellen zur Verwendung gelangen, eher schädlich als nützlich. Es ist deshalb zu empfehlen, die Beleuchtung mit parallelen oder nur schwach konvergierenden Strahlen zu wählen, besonders wenn stärkere Lichtquellen (Bogenlampen) zur Verfügung stehen.

Sechstes Kapitel.

Die Handhabung des Spiegelkondensors.

I. Die Lichtquellen.

Die große Lichtstärke der Spiegelkondensoren erlaubt die Anwendung auch relativ schwacher Lichtquellen, sogar von solchen mit geringerer spezifischer Intensität, beispielsweise des Gasglühlichts. Eine Klasse von Lichtquellen, die elektrischen Glühlampen, kommt jedoch überhaupt nicht in Betracht. Obwohl ihre spezifische Intensität genügend groß wäre, ist ihre Form, nämlich die einfache Schlinge der Kohlenfäden und Zickzackaufhängung des Drahtes der Metallfadenlampen, nicht dazu geeignet, der Forderung einer gleichmäßigen Lichtverteilung in der Eintrittsöffnung des Kondensors zu genügen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß in Zukunft für die besonderen Zwecke der Dunkelfeldbeleuchtung mittels Spiegelkondensoren geeignete Metallfadenlampen geschaffen werden, deren Leuchtdraht etwa die Form einer Spirale mit engen Windungen besitzt. Eine solche Lampe könnte durch einen kleinen Akkumulator gespeist werden. Sie würde also von einem Leitungsnetz unabhängig sein.

Das dem elektrischen Glühlicht verwandte Kernlicht kann dagegen zur Anwendung gelangen. Am besten eignet sich die Form der

Kernlampe für unsere Zwecke, die drei sternförmig angeordnete Glühstäbe besitzt. Auch die von A. Köhler¹⁵⁾ angegebene, für mikroskopische Zwecke bestimmte Ausführungsform der Kernlampe (Abb. 53), die nur einen Leuchstab besitzt, kann zur Dunkelfeldbeleuchtung verwendet werden. Eine Beschreibung dieser Lampe findet sich auf S. 54.

Die etwas umständliche Inbetriebsetzung der Kernlampe und ihre schwache Lichtausbeute, die darin ihre Ursache hat, daß der größte Teil der leuchtenden Stäbe zur Beleuchtung des Präparats nichts beiträgt, haben sie gegenüber der Bogenlampe vollständig in den Hintergrund gedrängt. Am besten eignen sich für Spiegelkondensoren die sogen. Schwachstrombogenlampen mit rechtwinkliger Kohlenstellung, die fast allen Anforderungen der Praxis, sowohl in bezug auf Lichtstärke, wie auf einfache Handhabung und geringen Stromverbrauch genügen. Sie können an jede Zimmerleitung angeschlossen werden, gleichviel, ob es sich um Gleich- oder Wechselstrom handelt. Wegen ihrer besonderen Eignung selbst für schwierige Arbeiten sollen sie weiter unten ausführlich beschrieben werden. Starkstrombo-

genlampen bis zu einer Stromstärke von 25 Ampere finden bei Spiegelfondensoren nur ausnahmsweise Verwendung. Ihre spezifische Intensität ist nicht viel größer als die der Schwachstrombogenlampen, und da ihre größere Lichtstärke nur auf der größeren Ausdehnung der lichtausstrahlenden Fläche, des Kraters der positiven Kohle, beruht, kommt sie beim Arbeiten mit dem Spiegelfondensor nicht zur Geltung. Man verwendet die Starkstrombogenlampe infolgedessen nur noch für kinematographische Aufnahmen, wobei aber die Wärmestrahler des Beleuchtungsbündels nicht nur mit Rücksicht auf die lebenden Objekte, sondern auch auf den Spiegelfondensor selbst durch eine Wasserkammer, die womöglich eine wärmeabsorbierende Flüssigkeit (schwache Lösung von Kupfervitriol) enthält, tunlichst ausgeschaltet werden müssen.

Die Sonne, die stärkste Lichtquelle, die wir überhaupt besitzen, kann auch, ebenso wie bei dem Spaltultramikroskop, zur Beleuchtung der Objekte mit dem Spiegelfondensor herangezogen werden. Es ist angezeigt, sich dabei eines Heliostaten oder wenigstens eines ebenen Hilfsspiegels zu bedienen, der die Sonnenstrahlen auf den Spiegel des Mikroskops oder direkt in den Kondensor wirft, weil das Arbeiten in der Sonne nicht sehr angenehm ist und auch sonst nachteilige Wirkungen (Reflexe auf dem Deckglase und an den Metallteilen des Mikroskops) im Gefolge hat. Wegen der Kleinheit des Sonnenbildchens im Präparat tritt der früher besprochene Fall ein, daß das in der Ebene des kleinsten Zerstreungskreises befindliche Objekt nicht von Strahlen aller im Beleuchtungskegel des Spiegelfondensors vertretenen Neigungen getroffen wird, sondern nur von einem Teil mit bestimmtem, engem Aperturbereich. Bei der großen Intensität des Sonnenlichtes ergibt sich trotzdem noch eine außerordentlich starke Beleuchtung über das ganze Gesichtsfeld des Mikroskops. Die nahe dem Rande des Gesichtsfeldes gelegenen Objekte werden aber nur einseitig beleuchtet. Das führt zur Entstehung des Azimutsehlers und einer mangelhaften Abbildung von fadenförmigen und flächenhaften Objekten.

Durch Anwendung von Beleuchtungslinien kann dieser Fehler behoben werden; außerdem wird dadurch die Lichtstärke vermehrt. Die Beleuchtungslinien müssen bei Anwendung von Sonnenlicht eine ziemlich große Brennweite besitzen, damit das von ihnen vor dem Spiegelfondensor erzeugte Sonnenbild genügende Größe

hat. Sie dürfen auch keinen zu kleinen Durchmesser haben.

Wenn es sich nur um Beobachtungen handelt, kommen für das Arbeiten mit dem Spiegelfondensor eigentlich nur zwei Lichtquellen in Frage: das Gasglühlicht und die Schwachstrombogenlampe. Das Gasglühlicht wird am besten von einem Brenner mit hängendem Strumpf geliefert, dessen spezifische Intensität etwas größer ist als die der Auerlampe mit stehendem Strumpf. Die große Ausdehnung der Lichtquelle und ihres durch den Spiegelfonden-

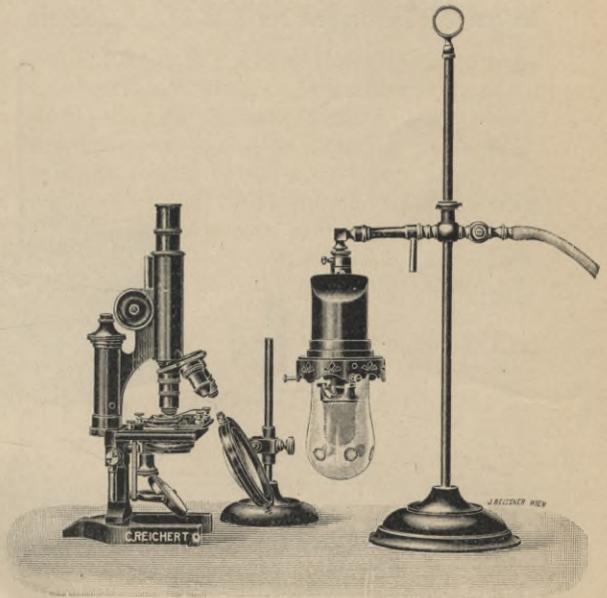


Abb. 34. Dunkelheldbeleuchtung mit Gasglühlicht.

for im Präparat erzeugten Bildes macht das Gasglühlicht für das Arbeiten mit den mit sphärischen Aberrationen behafteten Kondensoren besonders geeignet. Trotz der großen beleuchteten Fläche im Präparat ist die Wärmeentwicklung in diesem nur sehr gering, so daß man ohne Kühlmittel auskommt.

Die Beleuchtung mittels Gasglühlichtes wird durch Abb. 34 veranschaulicht. Die Lampe ist etwa 30 cm von dem Mikroskopstativ entfernt aufzustellen; ihr Licht wird durch eine Beleuchtungslinse auf den Mikroskopspiegel geworfen. Ob die die Beleuchtungslinse verlassenden Strahlen divergent, parallel oder konvergent sind, ist wegen der Größe der leuchtenden Fläche gleichgültig. Überhaupt stellt diese Art der Beleuchtung die geringsten Anforderungen an die Übung und Geschicklichkeit des Beobachters, zumal sie nicht zur Einhaltung der beim

Gebrauch stärkerer Lichtquellen unerlässlichen Vorsichtsmaßregeln zwingt. Die erreichbaren Resultate sind dafür nur mäßig. Man kann das Gasglühlicht nur zur Beobachtung größerer Objekte verwenden, z. B. zur Untersuchung von Blut- und Körperzellen, größeren Bakterien u. a. m. Nur unter besonders günstigen Umständen ist es möglich, auch feinere Bakterienarten, z. B. *Spirochaete pallida*, mit Gasglühlicht sichtbar zu machen, nämlich dann, wenn spirochaetenreiches Material mit größeren Individuen zur Verfügung steht. Enthält aber das Präparat, wie das bei den meisten in der Praxis anzustellenden Beobachtungen der Fall ist, zahlreichere

quelle, des Kraters der oberen Kohle, in der Achse des gesamten Systems gewährleistet. Die Lichtschutzkappe *m* trägt vorn eine Beleuchtungslinse *n*, die in ihrer Fassung verschiebbar angeordnet ist. Mit Hilfe der Schraube *a* wird die Lampe an ihrem Ständer in beliebiger Höhe festgeklemmt, während die Klemmschraube *b* der ganzen Einrichtung eine beliebige Neigung gegen die Tischfläche zu geben gestattet. Der Nachschub der Kohlen vom Mikroskop aus kann eventuell durch einen Hooke'schen Schlüssel *d* bewirkt werden.

Diese Handlampen, denen ein Beruhigungswiderstand vorgeschaltet werden muß,

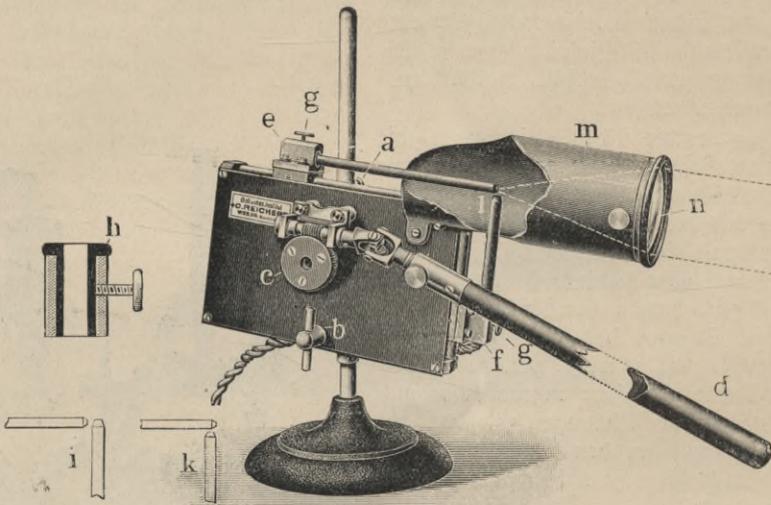


Abb. 35. Handbogenlampe für 3—8 Amp. *h* Hilfsfutter für dünnere Kohlen. *i* und *k* falsche Kohlenstellungen.

größere Gewebstücke, Blutkörperchen und Eiterzellen, die das lichtschwache Bild der Spirochaete überstrahlen, so muß man zu einer Schwachstrombogenlampe greifen, wenn man die Spirochaeten sichtbar machen will.

Passende Schwachstrombogenlampen werden von allen optischen Werkstätten geliefert. Die einzelnen Konstruktionen unterscheiden sich nicht sehr voneinander; sie haben fast alle die durch Abb. 35 veranschaulichte Form. Die Kohlen stehen rechtwinklig zueinander. Der Krater der oberen, bei Gleichstrom positiven Kohle ist die eigentliche Lichtquelle. Die Schrauben *g* klemmen die Blöcke *e* und *f* fest. Ein im Innern des Gehäuses verborgenes, durch das Handrädchen *c* zu betätigendes Kettengetriebe verschiebt die Blöcke *e* und *f* längs ihrer Führungen parallel zu den Kohlenachsen. Durch diese Kohlenbewegung ist das Verharren der Licht-

brennen bei einer Stromstärke von 3—8 Ampere mit Gleich- oder Wechselstrom. Sie können also an jede Zimmerleitung angeschlossen werden. Der Nachschub der Kohlen ist so eingerichtet, daß die obere Kohle wegen des stärkeren Abbrandes bei Gleichstrom einen größeren Weg zurücklegt als die senkrecht stehende. Bei Gleichstrom und einer bestimmten Stromstärke haben beide Kohlen gleiche Dicke. Sie können aber nach Netzspannung und Stromstärke in ihrer Dicke sehr stark abweichen, und es ist notwendig, sich an die von der liefernden Firma gegebenen Vorschriften zu halten. Verwendet man Wechselstrom, so muß die obere Kohle bedeutend dünner sein als die senkrechte, weil sie schneller abbrennen muß, um den größeren Vorschub auszugleichen. Damit die dünnere Kohle in dem Einspannungsblock *e* einen sicheren Halt hat, wird sie darin mit einem Hilfsfutter *h*

(Abb. 35) befestigt. Die beiden Nebenfiguren i und k dieser Abbildung veranschaulichen, wie die Kohlen nicht stehen sollen; die richtige Kohlenstellung ist in der Hauptfigur angedeutet. Für Gleichstrom werden diese Bogenlampen auch mit selbsttätiger Regulierung geliefert.

In letzter Zeit hat die Firma E. Leitz in Wezlar eine Schwachstromlampe mit selbsttätigem Vorschub der Kohlen durch ein Uhrwerk auf den Markt gebracht. Bei dieser Uhrwerkslampe läßt sich der Vorschub der Kohlen durch ein Regelwerk vergrößern und verkleinern.

Die Firma E. Reichert empfiehlt für ihre Spiegellondensoren die Anwendung fast paralleler Lichtbündel zur Beleuchtung. Bei der Reichertschen Schwachstrom-Bogenlampe steht daher der Krater der wagerechten, positiven Kohle nahezu in der Brennebene der Beleuchtungslinse, so daß aus dieser nur ein schwach konvergierendes Beleuchtungsbündel austritt. Die Lampe wird so aufgestellt, daß das Lichtbündel den Spiegel des Mikroskops bedeckt, oder, bei stärkerer Konvergenz der beleuchtenden Büschel, die Mitte des Spiegels trifft. Das in der Präparatebene entstehende Bild wird dann mit Hilfe eines schwächeren Objektivs (Reichert Nr. 1—3) betrachtet und in die Mitte des Bildfeldes gebracht. Es ist dabei zweckmäßig, die feinere Zentrierung des Bildes nicht durch Bewegung des Mikroskopspiegels, sondern durch Verschieben des Mikroskopstativs auf seiner Standfläche zu bewirken. Die Federung des Spiegels macht eine genaue Einstellung des Lichtbündels in die Mitte des Gesichtsfeldes zu einer mühseligen Arbeit, die man sich durch den erwähnten Kunstgriff ersparen kann.

Die beleuchtete Fläche des Präparats muß bei der angewandten schwachen Vergrößerung als kreisrunder Fleck erscheinen, der nach den Rändern zu an Helligkeit abnimmt. Die Schatten der Spreizen, die die Stempelblende halten, teilen dann das Gesichtsfeld in drei gleiche Kreisabschnitte.

II. Die Objektträger.

Wenn die Dicke des verwendeten Objektträgers von der mittleren Dicke (= 0,9 mm; s. S. 34) sehr stark abweicht, so hat die beleuchtete Fläche nicht die Form eines Kreises, sondern eines Kreisringes mit einem dunklen Kern in der Mitte des Gesichtsfeldes. Geht man von der schwachen zu einer stärkeren Vergrößerung über, so erhält man ein mehr oder minder dunkles Gesichtsfeld mit einem hellen Rande. Die Ursache dieser Erscheinung

wurde schon auf S. 37 (Abb. 32) klargelegt. Es ist dabei gleichgültig, ob der Objektträger zu dick oder zu dünn ist. In beiden Fällen bildet sich die beleuchtete Fläche als Kreisring aus, dessen innerer dunkler Raum um so größer ist, je mehr die Dicke des Objektträgers von der normalen abweicht.

Ist der Objektträger zu dünn, so kann man sich leicht dadurch helfen, daß man den Beleuchtungsapparat des Mikroskops mit dem Spiegellondensor nach unten bewegt, sofern der Beleuchtungsapparat durch Zahn und Trieb oder durch eine mehrgängige Schraube verstellbar ist. Natürlich darf es sich bei dieser Verstellung nur um Millimeterbruchteile handeln, weil der Raum zwischen Kondensoroberfläche und Objektträgerunterseite mit Immersionsflüssigkeit ausgefüllt bleiben muß. Man darf mit dem Zedernöl nicht sparen, muß aber mit größter Vorsicht verfahren. Wenn nämlich der Zwischenraum über 0,1 mm beträgt, so ist es schon sehr schwierig, eine luftblasenfreie Immersionschicht zu erhalten. Die Luftblasen beeinträchtigen aber nicht nur die Lichtstärke des Kondensors, indem sie in ihrem Bereich den beleuchtenden Strahlen den Zutritt zum Objekt verwehren, sondern sie sind auch der Anlaß zur Entstehung des Azimutfehlers, weil sie Strahlen von bestimmten Neigungen aus dem Beleuchtungsbüschel ausschalten und dadurch eine einseitige Bestrahlung bewirken. Abweichungen in der Objektträgerdicke von über 0,3 mm lassen sich auf die beschriebene Weise nicht korrigieren. Objektträger, die dünner als 0,7 mm sind, sind infolgedessen nicht zu verwenden.

Ist der Objektträger dicker als vorgeschrieben, so ist es ausgeschlossen, die sich daraus ergebende kreisringförmige Beleuchtung des Präparats zu beheben. Man kann sich in diesem Falle dadurch helfen, daß man durch Verstellung des Spiegels oder Verschiebung des Mikroskops einen Teil des Kreisrings in das Gesichtsfeld bringt, also gewissermaßen eine Dezentrierung des Beleuchtungskegels hervorruft. Dieses Verfahren ist aber nur ein Notbehelf. Wie aus Abb. 36 hervorgeht, wird dann ein in der Mitte des Gesichtsfeldes liegendes Objekt nicht mehr von Strahlen aller Azimute getroffen, sondern nur von einem geringen Teil des gesamten Beleuchtungskegels. Die zur Beleuchtung beitragenden Strahlen sind in der Abbildung mit Pfeilspitzen versehen. Diese Art der Beleuchtung, die mit der einiger früherer Ultramikroskope (Cotton und Mouton) Ähnlich-

feit besitzt, hat drei Nachteile. Zunächst wird die Lichtstärke herabgesetzt, weil der größte Teil des Beleuchtungsbündels an der Bestrahlung des Objektes nicht beteiligt ist. Ferner tritt der Azimutfehler auf, der zur Folge hat, daß fadenförmige Objekte nur dann abgebildet werden, wenn ihre Längsausdehnung senkrecht oder

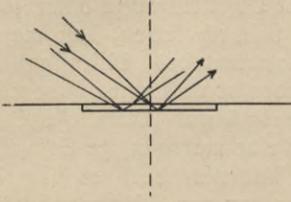


Abb. 36. Schiefe Beleuchtung und Azimutfehler bei mangelnder Zentrierung der Lichtquelle.

nahezu senkrecht zur Richtung der beleuchtenden Strahlen gerichtet ist. Spiralig gewundene Objekte (Spirochaeten) werden als eine Reihe von Punkten oder parallelen Strichen abgebildet, während stäbchenförmige Organismen sich unter Umständen der Wahrnehmung überhaupt entziehen.

Zusammen mit dem Azimutfehler macht sich ein anderer Fehler recht unliebsam bemerkbar, der dem Mikroskopiker von der schiefen Beleuchtung mit durchfallendem Licht her bekannt ist. Er ist auf die chromatischen Aberrationen der Strahlen zurückzuführen, die die Randpartien des Mikroskopes durchsetzen. Bei flächenhaften Gebilden von größerer Ausdehnung, z. B. Blutkörperchen, zeigen sich farbige Säume auf der Seite des Objektes, die den einfallenden Beleuchtungsstrahlen abgekehrt ist. Diese Erscheinung läßt sich dadurch erklären, daß die abgelenkten Strahlen in der Richtung der beleuchtenden ihre größte Intensität haben, und infolgedessen bei einseitiger Beleuchtung auch durch das Mikroskopobjektiv einseitig abgebildet werden. Ruft man den Azimutfehler künstlich dadurch hervor, daß man den Kondensor durch ein vorgehaltenes Stück schwarzes Papier oder dergl. etwa auf ein Viertel abblendet, und betrachtet man bei herausgenommenem Okular nach erfolgter Einstellung des Objektes die hintere Brennebene des Mikroskopobjektives, so sieht man deutlich, daß die dem lichtgebenden Teil des Spiegelkondensors abgekehrte Seite des Objektives heller leuchtet, während die hintere Brennebene des Objektives bei allseitiger Beleuchtung des Objektes gleichmäßig von Licht erfüllt ist.

Es ist deshalb zweckmäßig, die Objektträger lieber etwas dünner zu wählen als die

äußerste Grenze (1,1 mm) gestattet. Wenn die größte Stempelblende von 11 mm Durchmesser in Verbindung mit Immersionsobjektiven zur Beobachtung gebraucht wird, ist es geraten, mit der Objektträgerdicke auf den Betrag von 0,7 bis 0,9 mm herunterzugehen. Denn die größere Stempelblende setzt die innere Apertur der beleuchtenden Strahlenkegel auf etwa 1,15 herauf. Dadurch nähert sich die Ebene der kleinsten Zerstreungskreise der Oberfläche des Kondensors, und der Objektträger muß etwas dünner gehalten werden.

Jedem Spiegelkondensor werden Objektträger von bestimmter Dicke beigegeben. Doch können, weil die Dicke ja innerhalb der angegebenen Grenzen schwanken kann, auch die im Handel erhältlichen Objektträger verwendet werden, sofern sich ihre Dicke nur in den Grenzen 0,7—1,1 mm hält. Es ist aber unerlässlich, diese Objektträger vor dem Gebrauch daraufhin zu prüfen, ob sie frei von Narben, Kratzern und ähnlichen Unvollkommenheiten der Oberfläche sind. Nur solche Objektträger sind zum Arbeiten mit Spiegelkondensoren geeignet.

Alle Objektträger müssen vor dem Gebrauch einer gründlichen Reinigung unterzogen werden, die sie vor allen Dingen von den sehr schwer zu beseitigenden Fetteilchen befreit. Durch die Verschiedenheit ihres Brechungsvermögens gegenüber dem Glase, an dem diese haften, und der wäbrigen Flüssigkeit, in der sich das Präparat gewöhnlich befindet, rufen sie eine starke Abbeugung der beleuchtenden Strahlen hervor, wodurch die Fetteilchen bei Einstellung auf die Oberseite des Objektträgers sehr leicht sichtbar werden. Da aber die Dicke auch des dünnsten Präparats die „Sehiefe“ stärkerer Mikroskopobjektive bedeutend übersteigt, so kommen die Abbildungen der anhaftenden Schmutz- und Fetteilchen nicht direkt zur Wahrnehmung; das von ihnen ausgesandte, abgelenkte Licht hellt jedoch den dunklen Untergrund des Gesichtsfeldes auf, so daß bei größerer Verunreinigung die Beobachtung feinsten Objekte unmöglich wird.

III. Die Deckgläser.

Das eben Gesagte gilt auch von den Deckgläsern, die bei Beobachtungen im Dunkelfeld verwendet werden. Auch sie müssen frei von Oberflächenfehlern sein und vor Gebrauch gut gereinigt werden. Wenn man kein Objektiv mit Korrektionsfassung besitzt, so müssen die Deckgläschen auch genau auf ihre Dicke geprüft werden. Sie muß möglichst genau 0,17 mm

betragen, weil alle zum gewöhnlichen Gebrauch bestimmten Mikroskopobjektive für diese Deckglasdicke korrigiert sind.

Den Einfluß des Deckglases auf die Güte des vom Objektiv entworfenen Bildes zeigen die Abb. 37 und 38 sehr deutlich. Die Strahlen,

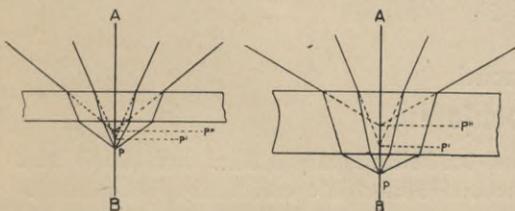


Abb. 37. Einfluß der Deckglasdicke auf den Kugelgestaltfehler.

die von einem auf der optischen Achse AB gelegenen Punkt P ausgehen, verbreiten sich im Raum in Form einer Kugelwelle, deren Mittelpunkt der Punkt P ist. Trifft diese Kugelwelle auf eine planparallele Platte, so zeigt sie nach dem Durchdringen eine Abweichung von der Kugelgestalt: die sphärische Aberration. Die Normalen der sich hinter der Platte ausbreitenden Welle schneiden sich dann nicht mehr in einem Punkt, sondern in einer kaudistischen Fläche. In Abb. 37 ist der Strahlengang bei der Brechung an einer planparallelen Platte, beispielsweise einem Deckglase von vorgeschriebener Dicke, dargestellt. Die angezogenen Linien bezeichnen den Verlauf zweier Strahlenpaare, von denen das eine geringere, das andere höhere Apertur besitzt. Die gestrichelten Linien geben die Vereinigungspunkte dieser Strahlenpaare nach der doppelten Brechung an den beiden Grenzflächen der Platte an und zwar ist P' der Schnittpunkt des Strahlenpaares von geringerer Apertur auf der Achse AB, P'' der des Strahlenpaares von höherer Apertur. Wie schon bemerkt, ist diese Deformation der von einem Objektpunkt ausgehenden Welle durch das Deckglas bei der Konstruktion der starken Trockensysteme berücksichtigt.

Ist aber das Deckglas dicker als 0,17 mm — diesen Fall stellt Abb. 38 dar — so wird die Deformation der Kugelwelle stärker, und zwar wächst sie proportional mit der Dicke des Deckglases. Die größere Differenz der Punkte P' und P'' ruft dann einen Fehler in der Korrektur des Objektivs hervor, den man als „Überkorrektur“ bezeichnet. Den entgegengesetzten Fehler, der durch ein zu dünnes Deckglas hervorgerufen wird, bezeichnet man als „Unterkorrektur“.

Eine Unter- bzw. Überkorrektur des Objektivs kann auch dadurch zustande kommen, daß die Tubuslänge, für die das betreffende Objektiv korrigiert ist (gewöhnlich 160 mm), nicht eingehalten wird. Bei zu kurzem Tubus treten die Merkmale der Unterkorrektur auf, während bei zu langem Auszug sich Überkorrektur bemerkbar macht. Diese Eigenschaft der stärkeren Objektive wird allgemein dazu benützt, geringe Abweichungen in der Deckglasdicke zu korrigieren. Ein zu dünnes Deckglas (unter 0,17 mm) erfordert einen längeren Tubusauszug, während man bei einem etwas dickeren Deckglase den Tubus einschieben muß.

Wie Siedentopf nachgewiesen hat, hat die Über- oder Unterkorrektur des Objektivs charakteristische Veränderungen des Beugungsscheibchens eines Ultramikrons zur Folge. Diese Veränderungen, die bei scharfer Einstellung nicht so sehr ins Auge fallen, treten dann auf, wenn infolge extra- oder intrafokaler Einstellung das Beugungsscheibchen vergrößert erscheint. Im Falle der Unterkorrektur tritt bei extrafokaler Einstellung, bei der das Objektiv vom Präparat eine größere Entfernung hat als bei scharfer Einstellung, anstatt der Ringbildung um den Kern des Beugungsscheibchens eine Verschwommenheit des letzteren auf, so daß Kern und Ringe nicht mehr gesondert wahrgenommen werden, sondern wie ein nebliger Fleck erscheinen. Bei intrafokaler Einstellung, wobei das Objektiv dem Objekt über den gewöhnlichen Arbeitsabstand genähert ist, ist der Kern des Scheibchens von mehreren stark sichtbaren Ringen umgeben.

Der umgekehrte Fall tritt bei Überkorrektur des Objektivs ein. Die verstärkte Ringbildung zeigt sich dann bei extrafokaler Einstellung, während bei intrafokaler Einstellung die Beugungsscheibchen die Gestalt eines Nebelflecks annehmen.

Ist der Korrektionszustand des Objektivs bei einer Deckglasdicke von 0,17 mm und bei vorgeschriebener Tubuslänge normal, so hat eine Veränderung der Einstellung nach beiden Seiten hin die nämliche Wirkung. Es treten dann bei zu hoher und zu tiefer Einstellung dieselben Veränderungen des Beugungsscheibchens auf, die sich nur in einer Verbreiterung der Ringe äußern.

Es kommt nicht selten vor, daß die käuflichen Deckgläschen nicht planparallel, sondern an der einen Seite etwas dicker sind als an der anderen. Sie zeigen dann eine schwache Keilform, die sich bei gewöhnlichen Beobach-

tungen nicht störend bemerkbar macht, wenn der gerade im Gesichtsfelde des Mikroskops befindliche Teil des Deckglases von der normalen Dichte nicht allzusehr abweicht. Bei der ultramikroskopischen Abbildung hat dieser Fehler dagegen nach Siedentopfs Untersuchungen eine eigentümliche Verzerrung des Beugungsscheitens zur Folge. Die Ringe erscheinen nicht

kreisrund, sondern oval, und der Kern liegt nicht in der Mitte, sondern gegen die weniger dicke Seite des keilförmigen Deckglases hin. Die gleiche Erscheinung tritt auf, wenn das Präparat auf der einen Seite etwas dicker ist, so daß das sonst einwandfreie Deckglas nicht mehr senkrecht zur optischen Achse des Mikroskops liegt.

Siebtens Kapitel.

Plattenkondensoren.

I. Einfache Plattenkondensoren.

Eine besondere Klasse der Beleuchtungseinrichtungen für ultramikroskopische Zwecke bilden die Spiegellkondensoren in Plattenform, kurz „Plattenkondensoren“ genannt. Vor den vorher beschriebenen Spiegellkondensoren haben sie den Vorteil voraus, daß sie von den Beleuchtungsapparaten des Mikroskops vollständig

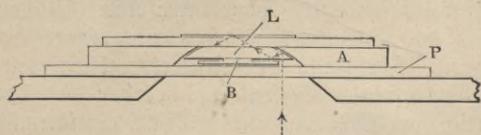


Abb. 39. Querschnitt durch einen Plattenkondensator aus Glas. L Spiegellinse, B Blende, A Tragkörper aus Glas, P Grundplatte.

unabhängig sind. Ihre Anwendung hat nur das Vorhandensein des Mikroskopspiegels und einer genügend (etwa 15 mm) großen Tischöffnung zur Voraussetzung. Sie können infolgedessen selbst mit den einfachsten Stativen gebraucht und jederzeit nachgeliefert werden, da eine Anpassung des Kondensators an das Stativ nicht notwendig ist.

Die einfachste Form der Plattenkondensoren ist in Abb. 39 im Querschnitt dargestellt. Die versilberte Fläche der Spiegellinse L ist durch Einkitten in die Glasplatte A, die mit einem entsprechenden Ausschnitt versehen ist, vor Beschädigungen geschützt. Die Blende B, die T-förmigen Querschnitt besitzt, und die direkten Strahlen und alle Strahlen von geringerer numerischer Apertur als 1,0 abhält, ist genau zentrisch auf die untere, plane Fläche der Spiegellinse gefittet. Der Glasblock A ist auf die ebenfalls aus Glas bestehende Platte P gefittet, die den die Blende umschließenden Hohlraum äußeren Einflüssen entzieht. Die Platte P ragt beiderseits etwas über den Block A hinaus. Sie dient zu gleicher Zeit als Auflage für die Tischklappen, die den Kondensator auf dem Objekt-

traher des Mikroskops festhalten. Neuerdings wird die die Spiegellinse enthaltende Glasplatte A noch mit einer dünnen Schutzplatte bedeckt.

Vor dem Gebrauch muß dieser Kondensator zunächst zentriert werden, d. h., die Achse der Spiegellinse muß mit der Mikroskopachse zum Zusammenfallen gebracht werden. Um diese Arbeit zu erleichtern, ist auf der Kondensatoroberfläche ein kleiner Kreis eingeritzt, dessen Mittelpunkt sich mit der optischen Achse der Spiegellinse deckt. Diese Marke wird mit Hilfe eines schwachen Objektivs in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht und dabei gleichzeitig der Spiegel des Mikroskopes so gerichtet, daß die Spitze des von dem Kondensator erzeugten Lichtkegels in die Mitte der Marke fällt. Ist das erreicht, so ist die Zentrierung beendet.

Die äußere Form dieses einfachen Plattenkondensators, der von Reichert in Wien als Plattenkondensator Fd geliefert wird, ergibt sich aus Abb. 40. Die Spiegellinse hat dieselben Abmessungen wie die des auf S. 33 beschriebenen Kondensators A von Reichert. Infolgedessen müssen auch Objektträger



Abb. 40. Reichert'scher Plattenkondensator Fd.

ger derselben Dicke (1 mm) verwendet werden. Die sonstige Handhabung beider Einrichtungen und der zugehörigen Hilfsapparate (Lichtquellen, Beleuchtungslinsen) unterscheidet sich nicht.

Die Plattenkondensoren haben vor den Einsteckkondensoren auch noch den Vorteil voraus, daß die Unterseite des Objektträgers die Kon-

densoberfläche fast in ihrer ganzen Ausdehnung berührt. Deshalb kommt man mit einer sehr geringen Menge Immersionsflüssigkeit aus und kann trotzdem den Objektträger ausgiebig verschieben, ohne befürchten zu müssen, daß Blasenbildung in der Immersion auftritt. Wird Zedernöl verwendet, so ist die nach dem Gebrauch nötige Reinigung des Kondensors leicht zu bewerkstelligen, da seine Oberfläche eine ausgedehnte, fugenlose Glasfläche bildet.

Bei der in Abb. 41 im Schnitt dargestellten zweiten Ausführungsform der Reichert'schen Plattenkondensoren ist die untere Glasplatte durch eine Metallplatte D mit Ausläufern Z ersetzt, die den den Kondensor auf dem Objektträger festhaltenden Tischklemmen als Auflage dienen. Die schräg angeschliffene Glasplatte A wird durch die Leisten F gegen ihre Unterlage gepreßt. Die Platte D zeigt in der Mitte eine kreisrunde Öffnung, die durch das Fenster M, das zwecks Reinigung herausgeschraubt werden kann, geschlossen wird. An der rückwärtigen, schmälern Seite ist die Platte A zweimal durchbohrt; die Löcher sind dazu bestimmt, die Klemmen aufzunehmen, durch die das Präparat auf dem Kondensor festgehalten wird.

Der Vorteil dieses in der Reichert'schen Liste als Plattenkondensor F bezeichneten Kondensors vor dem ganz aus Glas hergestellten Kondensor Fd besteht darin, daß er zwecks Reinigung vollständig auseinandergenommen werden kann; auch ist er in seiner Metallfassung besser vor Beschädigungen geschützt.

Die eben beschriebene Ausführungsform des Plattenkondensors F ist neuerdings durch die in Abb. 42 dargestellte Konstruktion ersetzt worden, die sich von der vorherbeschriebenen durch

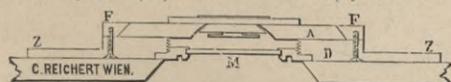


Abb. 41. Querschnitt durch einen Plattenkondensor mit metallener Grundplatte.
F Anschlagleisten, A Glasträger, D Grundkörper mit Ausläufern Z, M Verschlußstück.

eine verbesserte Haltevorrichtung und durch die Anbringung einer sogenannten Schieberblende mit zwei verschieden großen Blendscheiben unterschiedet.

Die untere Metallplatte, auf der die Spiegelrinne montiert ist, läuft nämlich in zwei sich seitlich rückwärts erstreckende Arme aus, die zwei Klemmschrauben tragen. Auf den Spindeln die-

ser Schrauben gleiten zwei geschlitzte, an ihrer Unterseite mit Einsteckstiften versehene Arme. Die Stifte werden in die Löcher des Objektträgers eingeführt und halten den Kondensor auf der Tischplatte fest.

Die Zentrierung dieses Instruments geschieht folgendermaßen: Hat man die Stifte der beweglichen Arme in die Klemmlöcher des Objektträgers gesteckt, so wird der Kondensor, bei gelösten Schrauben, solange verschoben, bis die eingritzte Marke in die Mitte des Gesichtsfeldes fällt. Sodann werden die beiden Schraubenköpfe fest angezogen, die Zentrierung nochmals kontrolliert und nötigenfalls nach vorichtigem Vorf-



Abb. 42. Reichert'scher Plattenkondensor mit Schieberblende und neuer Befestigungsvorrichtung.

kern der Schrauben richtiggestellt. Wird der Kondensor stets mit dem gleichen Mikroskop verwendet, so braucht er nur einmal zentriert zu werden, vorausgesetzt, daß sich die Klemmschrauben nicht lockern und das Abnehmen des Instruments nach der Benutzung sehr behutsam erfolgt.

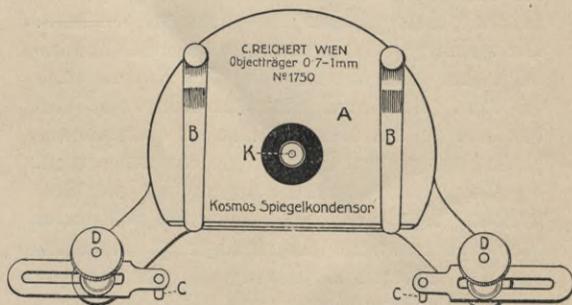


Abb. 43. Der „Kosmos“-Spiegelkondensor.

Eine Sonderform dieses Kondensors stellt der in Abb. 43 gezeigte, von der Geschäftsstelle des „Mikrokosmos“ für Mitglieder dieser Vereinigung und des „Kosmos“ (Gesellschaft der

Naturfreunde, Stuttgart) in den Handel gebrachte „Kosmos“-Kondensor dar, der gleichfalls von Reichert konstruiert worden ist. Außer durch seine Form unterscheidet sich der „Kosmos“-Kondensor von dem eben beschriebenen Plattenkondensor nur dadurch, daß er keine Schieberblende besitzt. Im optischen Teil ist er genau so gebaut, wie der im V. Kapitel besprochene Spiegelfondensor A. Für die Zentrierung gelten die im vorigen Abschnitt gegebenen Regeln. Hervorgehoben sei, daß der „Kosmos“-Kondensor der billigste aller zurzeit im Handel befindlichen Dunkelfeld-Kondensoren ist, ohne daß er deshalb den übrigen Spiegelfondensoren an Güte und Brauchbarkeit nachsteht.

Die Firma Leitz hat gleichfalls einen Spiegelfondensor in Plattenform konstruiert (vgl. Abb. 44), bei dem ein Zweiflächensystem als

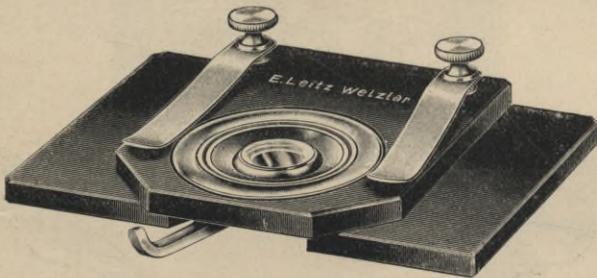


Abb. 44. Plattenkondensor (Spiegelfondensor B) von Leitz.

sammelndes Mittel dient. In einer mit niedrigen, als Auflage für die Tischklemmen dienenden Ausläufern versehenen Grundplatte aus Hartgummi ist ein rundes Metallstück eingelassen, das an der Innenseite mit einem Gewinde von hoher Steigung versehen ist. In diesem Gewinde bewegt sich als Mutter die eigentliche Fassung eines Zweiflächensondensors, die durch Drehen des auf Abb. 44 vorn am Kondensor sichtbaren kleinen Hebels gehoben und gesenkt werden kann. Die Hebung bzw. Senkung des Kondensors beträgt bei vollem Ausschlag des Hebels etwa 0,3 mm. Um soviel kann der Kondensor also von dem auf der oberen Fläche der Hartgummiplatte aufliegendem Objektträger entfernt werden.

Der Zweck dieser Einrichtung ist, die Verwendung besonderer, auf Hundertstel Millimeter genau abgestimmter Objektträger zu umgehen, die für Spiegelfondensoren des Zweiflächensystems sonst notwendig sind. Mit dem Plattenkondensor kann man insofern auch dünnere Objektträger als die normalen verwenden. Die günstigste Entfernung des Kondensors vom Objektträger wird mit Hilfe eines schwachen Objektivs und eines ebensolchen Oku-

lars aufgesucht, und zwar muß der Hebel so lange verstellt werden, bis das Bild der Lichtquelle als Punkt erscheint, ohne Spuren einer Ringbildung zu zeigen. Selbstverständlich darf hier mit der Immersionsflüssigkeit nicht gespart werden. Selbst dann ist es schwierig, die Immersionsflüssigkeit bei einer größeren Dicke als 0,1 mm dauernd blasenfrei zu erhalten.

II. Universalfondensoren.

Anfänglich wurden die Plattenkondensoren immer nur mit einer Blende versehen. Da Versuche aber zeigten, daß die Verwendung verschiedener großer Blenden bei verschiedenen starken Lichtquellen sehr zweckmäßig ist, wurden die Reichertschen Plattenkondensoren später so umgestaltet, daß Blenden verschiedener Größe vor die Spiegellinse geschaltet werden können. Dazu wurden die Kondensoren mit einer Revolverzscheibe versehen, die am Rande Blenden von 8, 9, 10 und 11 mm Durchmesser trägt. Gleichzeitig wurde dafür Sorge getragen, daß auch Beobachtungen in durchfallendem Licht angestellt werden können, ohne daß der Kondensor von seinem Platz entfernt zu werden braucht. Auf diese Weise entstanden die sog. Universalfondensoren, mit denen man nicht nur Beobachtungen im Dunkelfeld, sondern auch solche mit wenig geöffneten Lichtbündeln (gewöhnliche Spiegelbeleuchtung) und solche mit weitgeöffneten Lichtbündeln (Beleuchtung durch Abbe-Kondensor) vornehmen kann. Bei ihnen trägt die Blenden-

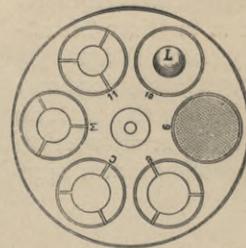


Abb. 45. Blendenscheibe für Universalfondensoren.

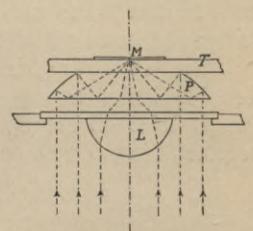


Abb. 46. Spiegellinse mit vorgeschalteter Linse. P Spiegellinse, L Hilfslinse, T Objektträger, M Objekt-punkt.

scheibe, wie Abb. 45 zeigt, außer den vier Dunkelfeldblenden noch eine planparallele Scheibe aus mattem oder blauem Glase und eine stark sammelnd wirkende, auf eine Glasplatte gefittete Linse L, die, wenn sie vor die Spiegellinse tritt, im Verein mit dieser wie ein Abbescher Kondensor mit der numerischen Apertur 1,4 wirkt (vgl. Abb. 46).

Die Spiegellinse ist wie bei den einfachen Plattenkondensoren in eine Glasplatte gefittet, die auf einer Metallplatte befestigt ist. Diese Metallplatte bildet den Deckel eines sehr flachen Kästchens, in dessen Innern die Blenden Scheibe drehbar angeordnet ist, deren Rand an der vorderen Seite des Kästchens hervorragt (vgl. Abb. 47). Eine Druckfeder, die in entsprechende Einschnitte eingreift, zeigt die zentrische Stellung der Blenden bezw. der Linse L an.

Die 8 mm-Sternblende wird vor die Spiegellinse geschaltet, wenn mit Trockensystemen und relativ schwachen Lichtquellen gearbeitet werden soll. Die Blenden von mittlerem Durchmesser (9 und 10 mm) werden bei Beobachtungen mit Trockenobjektiven und stärkeren Lichtquellen (Bogen- oder Sonnenlicht) benutzt, während die 11 mm-Blende zum Arbeiten mit Immersionssystemen dient. Die Zahlen, die beim Drehen der Revolverblende am Rande des Kästchens erscheinen (s. Abb. 47), geben den Durchmesser der gerade vor der Spiegellinse befindlichen Sternblende an. Tritt der Buchstabe M hervor, so befindet sich das blaue oder matte Glas vor dem Kondensor. In diesem Falle ist die einfache Spiegelbeleuchtung eingeschaltet. Die von dem Hohl- oder Planspiegel des Mikroskops kommenden Strahlen der Lichtquelle werden durch das Glas geschwächt und durchsetzen den als planparallele Scheibe wirkenden Glaskörper der Spiegellinse ohne nennenswerte Veränderung. Erscheint der Buchstabe C am Rande des Kästchens, so ist die Glasplatte mit der Linse L vor den Kondensor getreten, der dann als Abbescher Kondensor wirkt und zur Untersuchung gewöhnlicher, gefärbter Präparate gebraucht werden kann.

Der Strahlengang im Kondensor bei vorgeschalteter Linse L wird durch Abb. 46 verdeutlicht. Die spiegelnde Fläche der Spiegellinse P sammelt die vom Mikroskopspiegel kommenden äußeren Strahlen des Beleuchtungsbündels im Objektpunkt M, und zwar beleuchtet die Spiegellinse das Präparat mit Strahlen von der numerischen Apertur 1,4 (1,33 bei in Wasser befindlichen Objekten) bis zur numerischen Apertur 0,85. Die vorgeschaltete Linse L hat eine Apertur von etwa 0,6; sie beleuchtet das Präparat infolgedessen mit Strahlen von der Apertur 0,6—0. Es fehlt also in dem vollen Beleuch-

tungs Bündel ein Teil von der numerischen Apertur 0,6—0,85. Bei Beobachtungen mit Immersionsobjektiven fällt dieser Umstand nicht besonders ins Gewicht, da die große Lichtstärke der Spiegellinse diesen Mangel ausgleicht. Nur bei der Beobachtung gefärbter Präparate mit stärkeren Trockenobjektiven macht er sich durch geringere Helligkeit des Bildfeldes bemerkbar.

Es empfiehlt sich, bei Beleuchtung des Objekts mit durchfallendem Licht und vorgeschalteter Linse immer einen Tropfen Zedernöl zwischen den Objektträger T und die Oberfläche der Spiegellinse zu bringen.

Hat das Stativ, mit dem der Kondensor ver-

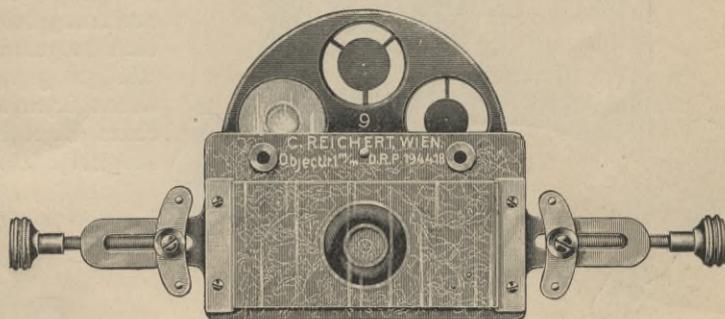


Abb. 47. Reichert'scher Universalcondensator mit Befestigung durch Schrauben.

wendet wird, keinen Abbeschen Beleuchtungsapparat oder nur einen einfachen, bei dem die Irisblende an der Fassung befestigt ist, so kann die Abblendung durch eine in den Boden des Plattenkondensorkästchens eingefügte Irisblende erfolgen, die durch einen seitlich angebrachten Hebel betätigt wird. Ist das Stativ dagegen mit einem großen Abbeschen Beleuchtungsapparat versehen, bei dem die Irisblende vom Kondensor unabhängig ist, so kann diese zur Abstimmung der Lichtzufuhr benutzt werden. Mit Rücksicht darauf werden von der Firma C. Reichert zwei Ausführungsformen des Universalcondensators bereitgehalten. Die eine mit Irisblende für einfache Stativ ohne Beleuchtungsapparat, die andere ohne Irisblende für größere Stativ.

Die den Boden des Kästchens bildende Metallplatte läuft, wie Abb. 47 zeigt, in zwei seitliche Laschen aus, die je mit einem Schlig versehen sind. In diesen Schlitzen gleitet ein um den führenden Knopf drehbarer, sichelförmig gestalteter Halter aus Metall, an dessen Enden sich aus Fibel gefertigte, zylindrische Rollen befinden, die sich beim Auflegen des Kondensors auf den Objektträger gegen dessen Ränder legen und durch Druckschrauben fest angepreßt werden

können. Die Muttern dieser Druckschrauben sind gleichfalls in dem Schlitze der seitlichen Lajchen beweglich und durch Knöpfe feststellbar. Für sichere Befestigung des Apparats auf dem Tisch ist besonders Sorge zu tragen, damit die Zen-

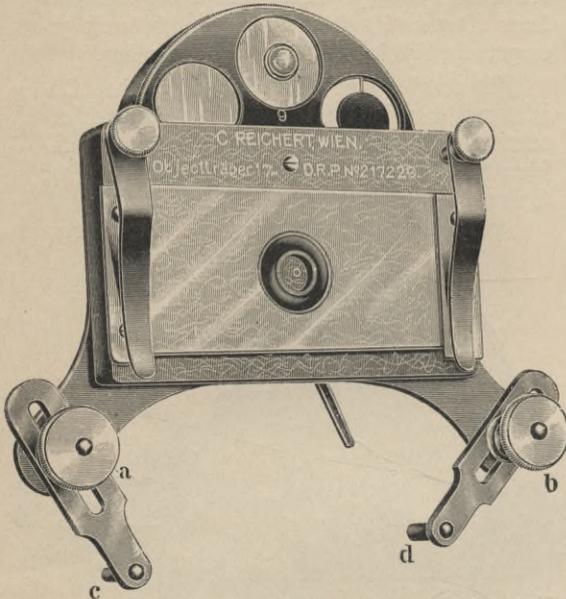


Abb. 48. Universalkondensor, der mit Hilfe der Einstellstifte d befestigt wird.

trierung des Instruments bei der Drehung der Blendscheibe nicht Schaden leidet.

Das Befestigen und Zentrieren des Kondensors nimmt man am zweckmäßigsten auf folgende Weise vor: Zuerst löst man die Klemmschrauben und schiebt die beiden Rollenhalter so weit als möglich nach außen. Dann legt man den Kondensor auf den Objektisch und bringt seine Achse nach dem Augenmaß mit der des Mikroskops zusammen. Nun drückt man die Rollenhalter an den Tisch, klemmt sie fest und bringt dann den kleinen auf der Spiegellinse eingerichteten Kreis mit Hilfe der Druckschrauben genau in die Mitte des Gesichtsfeldes. Das geschieht, wie beim Plattenkondensor, mit Hilfe eines schwachen Objektivs.

Die Universalkondensoren werden auch mit der auf S. 47 beschriebenen Befestigungsvorrichtung geliefert, also mit beweglichen, feststellbaren Armen, die in die Klemmenlöcher des Objektisches eingesteckt werden. Diese Ausführungsform des Universalkondensors ist in Abb. 48 wiedergegeben. Erwähnt sei noch, daß bei Mikroskopstativen mit beweglichem Tisch der Bewegungsmechanismus des Tisches zur Zentrierung des Kondensors herangezogen werden kann. Nach der Zentrierung dürfen die Bewegungsschrauben natürlich nicht mehr betätigt werden. Selbst die geringste Verschiebung des Objektträgers muß vielmehr von Hand vorgenommen werden. Da eine systematische Durchmusterung des Objektes auf diese Weise jedoch nicht vorgenommen werden kann, wird der in Abb. 49 gezeigte Universalkondensor, der die Katalogbezeichnung Fb führt, auf Wunsch mit einem Objektführapparat verbunden, der eine ausgiebige Bewegung des Objektes nach allen

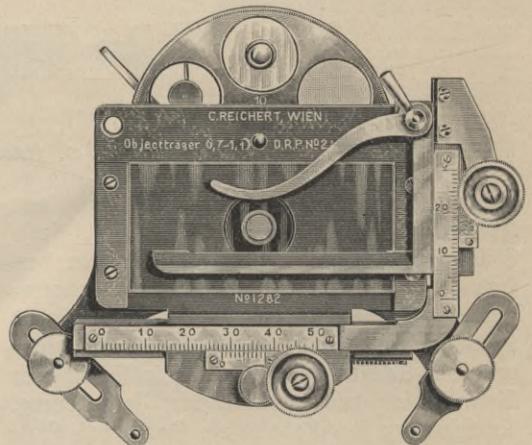


Abb. 49. Reichert'scher Universalkondensor mit beweglichem Objekthalter.

Seiten hin gestattet. In diesem Falle muß die Menge der aufgebrauchten Immersionsflüssigkeit vergrößert werden; das ist überhaupt bei allen Präparaten nötig, die bei der Untersuchung auf dem Kondensor stark verschoben werden sollen.

Achtes Kapitel.

Der Zeißsche Paraboloidkondensor.

Nach der Erfindung des Spaltultramikroskops regte Abbe an, auch die älteren Methoden der Dunkelfeldbeleuchtung auf ihre Eignung für die Zwecke der Ultramikroskopie zu untersuchen.

Er empfahl insbesondere die Anwendung des jedem Mikroskopiker bekannten Paraboloids von Wenhams. Ob daraufhin in den Zeißschen Werkstätten Versuche gemacht worden sind, diese

Methode für die Praxis auszubauen, ist nicht bekannt, doch wird von *Zigmond* gelegentlich erwähnt, daß die damals gebräuchliche Dunkelfeldbeleuchtung (gemeint ist wahrscheinlich die Abblendung durch zentrale Blende im Abbeschen Kondensor) eine Wahrnehmung von Ultramikronen in kolloiden Lösungen nicht ermöglicht. Daraus muß man auf ungünstig verlaufene Versuche schließen, die dann wohl zur Ansicht geführt haben, daß die älteren Methoden der Dunkelfeldbeleuchtung in der Ultramikroskopie keine Rolle spielen könnten.

Wie *Cotton* und *Mouton*²³⁾ mitteilen, sind in Frankreich Versuche unternommen worden, das *Wenhamsche* Paraboloid den Zwecken der Ultramikroskopie nutzbar zu machen. Diese Versuche lieferten aber kein zufriedenstellendes Resultat. Die Schuld an den Fehlschlägen wurde — ganz mit Unrecht — den eigentümlichen Aberrationen des Paraboloids beigemessen. Das *Wenhamsche* Paraboloid ist nämlich nur imstande, eine punktförmige, auf einer Achse gelegene Lichtquelle in seiner Brennebene scharf abzubilden. Von einer seitlich ausgedehnten Lichtquelle wird, wie bei der *Stephensonschen* Spiegellinse, ein Lichtfleck erzeugt, den man nur mit Vorbehalt als Abbildung der Lichtquelle ansprechen kann.

Die weitere Entwicklung der Spiegelfondensoren hat gezeigt, daß die optischen Unvollkommenheiten dieser Hilfsmittel eine verhältnismäßig geringfügige Rolle spielen. Das deutet darauf hin, daß die Ausführung der bei den erwähnten Versuchen benutzten Paraboloiden zu wünschen übrig ließ, daß also mechanische Unvollkommenheiten schuld an den Mißerfolgen trugen. Schon ganz geringe Politurefehler (bei dem Schleifen von nichtsphärischen Flächen hat man mit der Kantenbildung zu kämpfen) können bei den Spiegelfondensoren eine wirkliche Dunkelfeldbeleuchtung illusorisch machen. Für die Entwicklung der Spiegelfondensoren ist es deshalb von ganz besonderer Bedeutung gewesen, daß der Verfasser, ohne allerdings *Stephensons* Vorarbeiten zu kennen, dessen Spiegellinse zur Konstruktion der ersten Spiegelfondensoren benutzte. Die Spiegellinse bietet dem ausführenden Optiker keinerlei Schwierigkeiten, weil die wirksame Fläche eine Kugelfläche ist. Daher ergaben schon die ersten damit angestellten Versuche einwandfreie und entscheidende Resultate.

Als diese Ergebnisse feststanden, ging die Firma *Zeiß* daran, das *Wenhamsche* Paraboloid zur Konstruktion eines Spiegelfondensors zu verwenden. Siedentopf gelang es, die

technischen Schwierigkeiten, die sich der Herstellung dieses Hilfsmittels entgegenstellten, in verhältnismäßig kurzer Zeit zu überwinden, so daß schon wenige Monate nach Bekanntgabe der *Reichertschen* Spiegelfondensoren die neuen Paraboloidkondensoren von *Zeiß* erhältlich waren.

Über die optischen Eigenschaften des Paraboloidkondensors ist folgendes zu sagen: Ein Rotationsparaboloid hat die Eigenschaft, ein in der Richtung seiner Achse verlaufendes, paralleles Strahlenbündel in ein konvergentes umzuwandeln. Das in dem Brennpunkt des Paraboloids entstehende Bild der unendlich kleinen, auf der Achse des Paraboloids gelegenen Lichtquelle, von der das parallele Strahlenbündel ausgeht, ist dabei frei von sphärischen Aberrationen. Leider besteht die aberrationsfreie Abbildung aber nur für die Punkte der Lichtquelle, die auf der Achse des Paraboloids oder in unendlich kleiner Entfernung von ihr liegen. Eine Lichtquelle von endlicher seitlicher Ausdehnung wird nur sehr unvollkommen abgebildet, weil die verschiedenen Zonen des Paraboloids Bilder von verschiedener Größe erzeugen. Das hat seine Ursache darin, daß die *Abbesche* *Helmholtzsche* Sinusbedingung bei dem Paraboloid nicht erfüllt ist.

Soll ein optisches System ein Objekt von endlicher Ausdehnung scharf abbilden, so muß es den von *Abbe* festgelegten Bedingungen des *Aplanatismus* genügen. Das in der Brennebene des Systems entstehende Bild des Objekts muß zunächst frei von sphärischen und chromatischen Aberrationen sein. Ferner ist es erforderlich, daß die Brennweiten der einzelnen Zonen des Systems, die in verschiedenen Abständen von

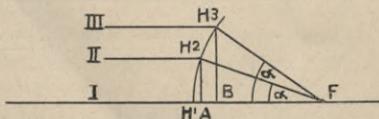


Abb. 50. Lage der Hauptpunkte der einzelnen Zonen bei erfüllter Sinusbedingung.

der Achse liegen, gleich sind. Diese Forderung ist, wie sich aus Abb. 50 ergibt, mit der Erfüllung der Sinusbedingung identisch.

In dieser Abbildung wird das parallele Lichtbündel mit den Strahlen I, II und III durch ein beliebiges optisches System in ein konvergentes mit dem Brennpunkt *F* umgewandelt. Die Brennweite des Strahls I, der sehr nahe der optischen Achse des Systems verlaufen soll, wird von dem Punkte *H*₁ an gerechnet, den wir als den Hauptpunkt des Systems bezeichnen. Die Brennweite der Strahlen II und III wird dadurch ge-

funden, daß man ermittelt, wo sich ihre Fortsetzungen nach der Ablenkung mit den Strahlen selbst schneiden. Soll die Sinusbedingung erfüllt sein, so müssen diese Schnittpunkte auf einem um den Punkt F mit dem Radius FH₁ geschlagenen Kreisbogen liegen. Denn dann ist

$$H_3 B : H_3 F = \sin \alpha_1.$$

und

$$H_2 A : H_2 F = \sin \alpha.$$

Die Erfüllung dieser Bedingung bietet die Gewähr, daß alle Zonen des optischen Systems, die durch die verschiedenen Einfallshöhen des parallelen Strahlenbündels gegeben sind, in der durch den Punkt F senkrecht zur optischen Achse gelegten Brennebene des Systems Bilder von gleicher Größe erzeugen. Dann decken sich alle von einem seitlich ausgedehnten Objekt herrührenden Abbildungen durch die einzelnen Zonen des Objektivs: das System liefert ein scharfes Bild des Objekts bezw. der Lichtquelle.

Das Wenham'sche Paraboloid gehört zu jenen optischen Systemen, die der Sinusbedingung nicht genügen, und zwar gibt es kein zweites System, dem dieser Fehler in gleich ausgeprägtem Maße anhaftet.

der Augenschein lehrt, ist dies nicht der Fall, vielmehr weichen beide Strecken ganz beträchtlich von einander ab. Die durch den Punkt D festgelegte Zone des Paraboloids hat eine kürzere Brennweite als die Zone bei C, trotzdem die Neigung des reflektierten Strahles DF und damit seine numerische Apertur größer ist als die des Strahles CF.

Das Wenham'sche Paraboloid verhält sich demnach umgekehrt wie normale optische Systeme, bei denen den abgelenkten und im Brennpunkt vereinigten Strahlen von größerer Neigung auch eine größere Einfallshöhe zukommt. Bei einem normalen System, beispielsweise einer Linse, bei der die Sinusbedingung im Vergleich zum Paraboloid wenigstens annähernd erfüllt ist, würde die der Neigung des Strahles DF entsprechende Zone die durch IIa gekennzeichnete Lage haben. Die Einfallshöhe wäre größer als die des Strahles I und der Hauptpunkt der Zone läge in D', wobei, wenigstens annähernd, D'F gleich CF wäre.

Das um F geschlagene Kreisbogenstück D'C gäbe dann den Ort der Hauptpunkte eines Systems an, bei dem eine scharfe Abbildung der Lichtquelle zustande käme. Beim Paraboloid ist aber der Ort aller Hauptpunkte das Parabelstück CD, das zu CD' einen fast entgegengesetzten Verlauf hat. Die Folge davon ist, daß die Zone C des Paraboloids ein größeres Bild der Lichtquelle erzeugt als die Zone D, und zwar verhalten sich die Größen beider Bilder wie die Strecken CF und CD. Durch die Überlagerung der verschieden großen Bilder der Lichtquelle entsteht daher von einer seitlich ausgedehnten Lichtquelle ein heller Fleck, dessen Lichtstärke, genau wie bei der Spiegel linse, von innen nach außen abnimmt. Dieser Abfall der Lichtstärke ist bei einer Betrachtung des Lichtquellenbildes bei schwacher Vergrößerung deutlich wahrnehmbar. Auch die Lichtverteilung innerhalb des Fleckes ist so beschaffen, daß, mit Ausnahme des mittleren Teiles des Gesichtsfeldes, ein Punkt des Objekts nicht von einem Punkt, sondern von einem größeren Flächenstück der Lichtquelle beleuchtet wird. Unter sonst gleichen Verhältnissen, nämlich bei gleichen Lichtquellen, gleicher Beleuchtungsart (paralleles oder konvergentes Licht) und gleicher mittlerer Brennweite liefert das Paraboloid als Beleuchtungssystem dasselbe Ergebnis wie die Spiegel linse.

Die Herstellung eines Paraboloids, dessen spiegelnde Flächen den Anforderungen der Theorie genau entsprechen, ist eine der schwierigsten Aufgaben der ausführenden Optik. Wie

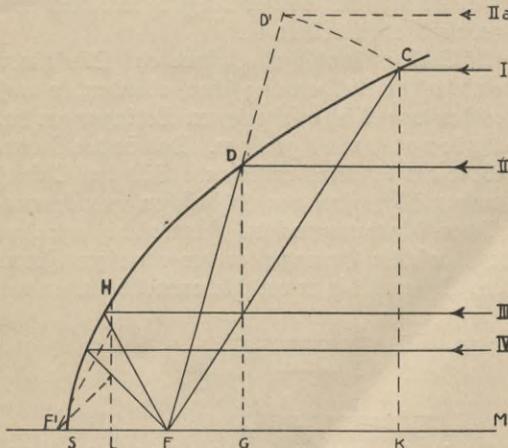


Abb. 51. Brennweitenaberration des Paraboloids.

Abb. 51 wird uns diese Behauptung beweisen. Das in Frage kommende Stück der Parabel CDS wird durch die Linien CK und DG abgegrenzt. Sämtliche in der Richtung der Achse SM verlaufende, durch Pfeilspitzen gekennzeichnete Strahlen werden im Brennpunkt F vereinigt. Der Strahl I hat die Brennweite CF, der Strahl II die bedeutend kürzere Brennweite DF. Wäre die Sinusbedingung erfüllt, so müßte, da C und D die Hauptpunkte der durch die Strahlen I und II bestimmten Zonen des Paraboloids vorstellen, CF gleich DF sein. Wie

die Paraboloiden nach Wenham, die in England als Reliquien ziemlich zahlreich sind, beweisen, haben die englischen Optiker jener Zeit diese Kunst verstanden. Die auf uns überkommenen Instrumente dieser Art sind wahre Meisterwerke und jedenfalls die Ergebnisse mühevoller Handarbeit. Die Paraboloiden der Firma Zeiß können dagegen nur bedingt als Paraboloiden bezeichnet werden. Siedentopf hat anscheinend von vornherein auf eine genaue Ausbildung des spiegelnden Körpers als Rotationsparaboloid verzichtet und eine höchst zweckmäßige Änderung vorgenommen: Er hat die Parabel durch ein ihr ähnliches Kreisstück ersetzt. Dadurch schuf er die Grundlagen für die rationelle Herstellung dieser Spiegelfondensoren. Der fragwürdige Vorteil der punktförmigen Abbildung der Lichtquelle in der Nähe der Achse ging zwar durch diese Abänderung verloren. Dafür sind diese „Paraboloiden“ aber viel gleichmäßiger in ihrer Wirkung herzustellen. Das ist besonders deshalb wichtig, weil dadurch die Verwendung gleich dicker Objektträger für alle Kondensoren dieser Art möglich wird.

Wie sich aus Abb. 51 ergibt, kann auch das Scheitelfstück der Parabel (Begrenzungslinie HL) zur Konstruktion eines Dunkelfeldkondensors herangezogen werden, dessen Form dann der sphärischen Spiegellinse sehr ähnlich wird. Die Fehler in der Erfüllung der Sinusbedingung sind in diesem Falle geringfügiger, und es entsteht ein fast einwandfreies, scharfes Abbild der Lichtquelle in der Ebene des Kondensorbrennpunktes F' . Die Herstellung eines solchen Paraboloids, das von der Kugelform nur wenig abweicht, ist aber dermaßen schwierig, daß die nur wenig erhöhte Lichtstärke eines derartigen Spiegelfondensors die Mühen und Kosten der Anfertigung nicht lohnt.

Abb. 51 verdeutlicht die Anordnung und den Strahlengang (Strahlen III und IV) in einem derartigen Paraboloid. Nach den vorangegangenen Ausführungen ist die Wirkungsweise ohne weiteres verständlich, zumal sie von der des Reichert'schen Spiegelfondensors nicht allzu sehr verschieden ist.

Der Glaskörper P des Zeiß'schen Paraboloids (Abb. 52) ist an seinen wirksamen Flächen versilbert und der Silberbelag durch eine Lackschicht geschützt. Der Glaskörper sitzt in einer Metallfassung, die nur die beiden planen Flächen freiläßt. Die Ablenkung aller Strahlen von der numerischen Apertur 0—1,10 erfolgt durch die Blende B, die aber nicht, wie beim Spiegelfondensor, die Form einer Stempelblende auf-

weist, sondern aus einer von P getrennten Glasplatte besteht, die auf ihrer Rückseite in entsprechendem Ausmaß versilbert ist. Dadurch soll verhütet werden, daß die Wärmestrahlen des durch die Blende zurückgehaltenen Lichtbündels den Kondensor erhizen. Die Pfeillinie stellt den Verlauf eines beleuchtenden Strahles dar. I ist die Immersionschicht, O der Objektträger.

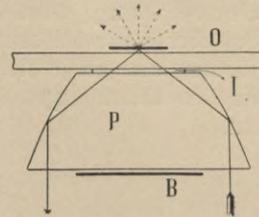


Abb. 52 Strahlengang im Paraboloid von Zeiß. O Objektträger, I Immersionschicht, P Paraboloid, B Blende. (Nach C. Zeiß, Ultramicroscopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Selt 4, S. 2).

Zeiß empfiehlt für die Paraboloiden im allgemeinen die Beleuchtung mit konvergentem Licht. Dadurch wird wohl die ganze Anordnung etwas lichtstärker, doch muß man entweder die größere Hitzeeinwirkung auf das Präparat in den Kauf nehmen oder eine Kühlvorrichtung zwischen Beleuchtungslinse und Mikroskopspiegel einschalten. Die Paraboloiden können ebenso wie die Spiegelfondensoren mit allen stärkeren Lichtquellen, vom Gasglühlicht angefangen, benützt werden. Die Beleuchtungslinse wird so weit entfernt von der Lichtquelle aufgestellt, daß auf dem Planspiegel des Mikroskops ein Bild der Lichtquelle entsteht.

Wenn die Sonne oder eine in größerer Entfernung vom Mikroskop aufgestellte Bogenlampe ohne Zwischenschaltung einer Beleuchtungslinse zur Beleuchtung verwendet wird, treten Verhältnisse ein, die von jenen bei sphärischen Kondensoren verschieden sind. Während diese infolge ihrer Fehler in der Achse, wie schon früher ausgeführt wurde, eine gleichmäßige, aber schwächere Beleuchtung des Objekts über das ganze Gesichtsfeld ergeben, erhellen die Paraboloiden nur einen beschränkten Raum in der Nähe der Achse des Mikroskops, dieser aber mit größerer Intensität.

In solchen Fällen müssen die Objektträger die auf die Kondensorfassung gravierte Dicke aufweisen, wenn keine ringförmige Beleuchtung des Objekts zustande kommen soll. Diese Art der Beleuchtung, ohne Zuhilfenahme von Beleuchtungslinsen, bildet aber eine Ausnahme, die in der Praxis selten vorkommen dürfte.

In allen den Fällen, wo die Lichtquelle durch eine Beleuchtungslinse in die Bildebene

des Mikroskops projiziert wird, sei es nun bei Beleuchtung mit parallelen oder konvergierenden Strahlen, ist es zweckmäßig, Objektträger von etwas größerer Dicke als vorgeschrieben zu gebrauchen. Der Unterschied zwischen diesen Werten und den das Maximum an Lichtstärke ergebenden kann bis zu 0,3 mm betragen. Doch spielen etwaige Unterschiede in den Objektträgerdicken bei Verwendung von Beleuchtungslinsen, ebenso wie bei den sphärischen Spiegelfondensoren, ebenso wie bei den sphärischen Spiegelfondensoren, keine große Rolle, vorausgesetzt, daß sich die Abweichungen in geringen Grenzen halten.

wird der Leuchtstab 10—30 mal vergrößert. Für die Zwecke der Dunkelfeldbeleuchtung genügt aber eine 10—15fache Vergrößerung, die durch eine bestimmte Einstellung des Beleuchtungssystems und die Einhaltung einer vorgeschriebenen Entfernung der Lampe vom Mikroskop gewährleistet wird.

Soll Gasglühlicht zur Beleuchtung verwendet werden, so empfiehlt es sich, Lampe und Mikroskop etwa 60 cm von einander entfernt aufzustellen und dazwischen eine in einem hölzernen Rahmen untergebrachte, mit Wasser gefüllte, gleichzeitig als Beleuchtungslinse und

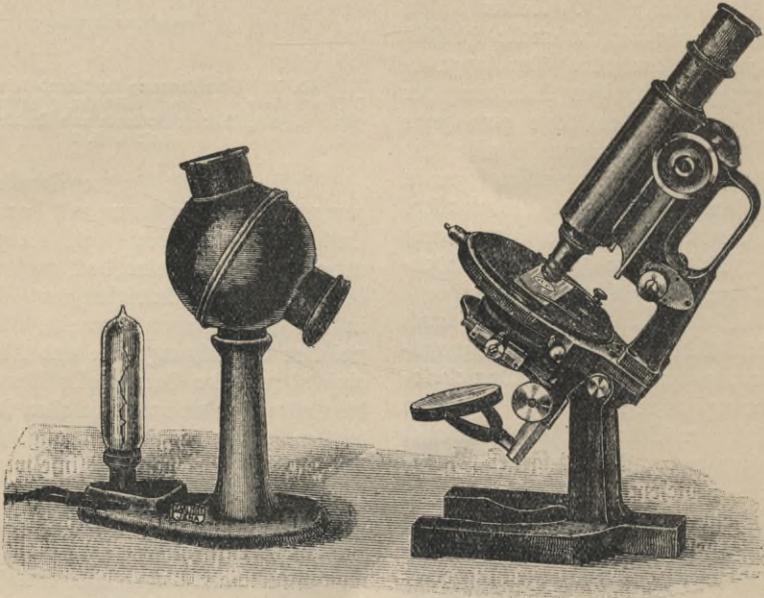


Abb. 53. Kernlampe in Verbindung mit Paraboloidkondensor.
(Nach G. Zeiß, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 4, S. 1.)

Das gilt sowohl bei der Verwendung von Schwachstrombogenlampen mit rechtwinkliger Kohlenstellung, als auch für die Kernlampe, die von Zeiß angelegentlich für die Zwecke der Dunkelfeldbeleuchtung empfohlen wird. Die äußere Form dieser Lampe ergibt sich aus Abb. 53. Über die Konstruktion sei bemerkt, daß sie nur einen Glühstab von 1,2 mm Durchmesser besitzt, der sich im Innern des kugelförmigen Gehäuses befindet. Das Licht tritt durch den schräg nach unten gerichteten Ansatz aus, der ein zweiteiliges Beleuchtungssystem von der numerischen Apertur von 0,6 und 27 mm Brennweite enthält. Dieses Beleuchtungssystem entwirft ein stark vergrößertes Bild des Leuchtstabs auf dem Mikroskopspiegel, das durch den Paraboloidkondensor im Präparat abgebildet wird. Je nach der Entfernung der Lichtquelle vom Mikroskop

Kühlgefäß wirkende Schusterkugel anzuordnen, wie es Abb. 54 zeigt. Auf der dem Mikroskop zugekehrten Seite trägt der Rahmen der Kugel ein dünnes als Lichtschirm dienendes Brett, dessen kreisförmiger Ausschnitt die Schusterkugel zur Hälfte hindurchtreten läßt. Das Mikroskop wird so aufgestellt, daß der von der Schusterkugel ausgehende Lichtschein den Mikroskopspiegel ganz ausfüllt. Die Objektträger können bei dieser Beleuchtungseinrichtung von ihrer mittleren Dicke ziemlich stark abweichen. Überhaupt kann als Regel gelten, und zwar nicht nur für die Paraboloidkondensoren, sondern für alle Spiegelfondensoren, daß die Objektträgerdicke um so genauer eingehalten werden muß, je kleiner das von dem Kondensor im Präparat erzeugte Lichtquellenbild ist.

Die Handhabung des Zeißschen Paraboloids

ist dieselbe wie die der Spiegelkondensoren (vgl. Kapitel VI). Wenn gleiche Lichtquellen, gleiche Art der Beleuchtung und gleiche Objektiv- und

eine in einiger Entfernung vom Mikroskop aufgestellte Bogenlampe ohne Zwischenschaltung einer Beleuchtungslinse als Lichtquelle verwendet werden, ist das Paraboloid lichtstärker.

Beim Gebrauch abgeblendeter Immersionsobjektive ist eine Heraussetzung der „inneren“ Apertur des Paraboloidkondensors von Vorteil. Dazu wird eine Frisblende benutzt, die entweder dem Beleuchtungsapparat des Mikroskops angehört oder am Paraboloid angebracht ist. Wie sich aus Abb. 51 ergibt, werden die Strahlen von geringerer Apertur im Gegensatz zu normalen optischen Systemen von den äußeren Randteilen des Paraboloids geliefert. Beim Schließen der Frisblende werden also die inneren Strahlen des Beleuchtungsbländels zuerst ausgeschaltet. Eine kleinere Öffnung der Frisblende beim Paraboloid entspricht daher der Einschaltung einer Stempelblende von größerem Durchmesser bei der Spiegellinse.

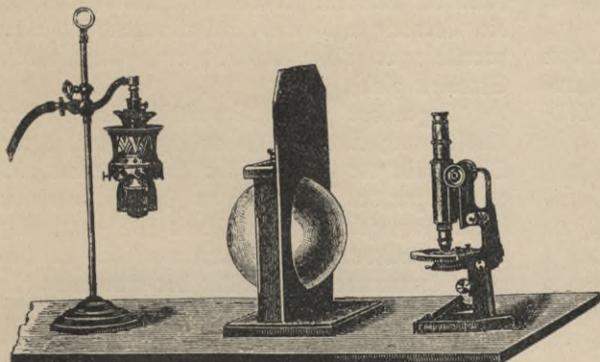


Abb. 54. Hängendes Gasglühlicht und Schusterkugel in Verbindung mit dem Paraboloidkondensor.
(Nach C. Zeiß, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung.)

Dokularkombinationen angewendet werden, sind die Ergebnisse ebenfalls gleich. Nur in dem auf S. 41 besprochenen Falle, daß die Sonne oder

Neuntes Kapitel.

Die Zweiflächenkondensoren.

I. Die Leissschen Zweiflächenkondensoren.

Die Zweiflächenkondensoren wurden zuerst von der Firma C. Leitz in Wezlar nach den Angaben W. von Ignatowski's ausgeführt. v. Ignatowski fußte auf den Untersuchungen des berühmten Göttinger Mathematikers Schwarzschild, der die Bedingungen für die aplanatische Abbildung durch spiegelnde Flächen in umfassender Weise formuliert hat. Für die Praxis schieben von vornherein alle jene Fälle aus, die zur Erreichung des erstrebten Zieles die Ausführung von nicht sphärischen Flächen nötig machten. v. Ignatowski¹⁷⁾ beschränkte sich zunächst darauf, die Bedingungen des Aplanatismus in seinen Kondensoren nur annähernd zu erfüllen. Mehr ist auch nicht notwendig, weil die praktische Ausführung, wenigstens mit den heutigen Mitteln, sehr weit hinter der theoretischen Vollkommenheit dieser Art von Spiegelkondensoren zurückbleibt.

Die ursprüngliche Form des Zweiflächenkondensors ist in Abb. 55 dargestellt. Der Körper des Kondensors besteht aus zwei durch eine ebene Fläche voneinander getrennten Teilen, die einen halbkugelförmigen Hohlraum einschließen, dessen obere, plane Fläche sorgfältig geschwärzt ist. Der Glaskörper steckt in einer Metallfassung, die die

dem Objektträger Q zugewandte Seite vollständig freiläßt. Der Verlauf der beleuchtenden Strahlen wird durch die mit Pfeilspitzen versehenen Linien angegeben.

Schon bei dieser ersten Form des Zweiflächenkondensors reichte die Vereinigung aller Beleuchtungsstrahlen im Objektpunkte P für die

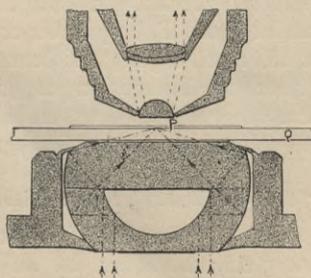


Abb. 55. Erste Ausführungsform des Leissschen Zweiflächenkondensors; schematisch.
P Objektpunkt, Q Objektträger.

Zwecke der Praxis vollkommen aus, doch hatte die Trennung der äußeren spiegelnden Fläche durch eine Ebene den Übelstand im Gefolge, daß beim Zusammenfitten beider Teilkörper leicht Zentrierungsfehler unterliefen, die eine Teilung des Beleuchtungskegels und damit eine unvollkommene Vereinigung der Strahlen im Punkte

P veranlaßten. Daß das sehr häufig der Fall war, hat Siedentopf mit Hilfe der von ihm angegebenen, auf S. 29 beschriebenen Einrichtung zur Sichtbarmachung des Strahlenverlaufs in der Nähe des Präparats nachgewiesen.

Um diesem Mangel abzuhelpfen, wählte von Ignatowski¹⁸⁾ später die in Abb. 56 veranschaulichte Ausführungsform, bei der die beiden Teil-

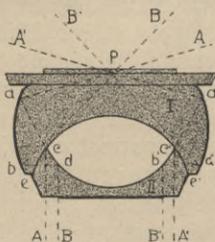


Abb. 56. Zweite Ausführungsform des Leitzschen Zweiflächenkondensors; schematisch.

körper I und II zur Herstellung des unbedingt erforderlichen Hohlraums des Kondensors durch eine Kugelfläche $e c c' e'$ getrennt sind. Die sammelnd wirkende Kugelfläche $a b d' a'$ ist dann ungeteilt, und die zerstörend wirkende Fläche $e c c'$ des Teilkörpers II kann beim Verkiten mit dem Körper I genau zentriert werden.

Der Strahlenverlauf in diesem Kondensor ist in Abb. 56 durch punktierte Linien angedeutet. Wie bei den Einflächekondensoren hält auch hier eine feste Blende den mittleren Teil des Beleuchtungsbündels ab. Die äußeren Strahlen nehmen den Weg $A c a P$, die inneren verlaufen die Linie $B d b P$ entlang. Die zwischen A und B in den Kondensor eintretenden Strahlen schneiden sich nach der zweimaligen Spiegelung wohl nicht genau im Punkt P, doch ist dieser Rest von sphärischer Aberration ganz unbedeutend. Desgleichen ist auch die Sinusbedingung fast erfüllt, so daß man diese Kondensoren als aplanatisch im strengen Sinne des Wortes bezeichnen kann.

II. Der Kardioidekondensor von Siedentopf.

In der Wirkung den Leitzschen Zweiflächenkondensoren gleich und ihnen im Äußeren sehr ähnlich ist der von Reiß nach Siedentopfs¹⁶⁾ Angaben hergestellte Kardioidekondensor. Siedentopf fand eine außerordentlich einfache Herleitung der aplanatischen Eigenschaften eines Systems aus zwei spiegelnden Flächen nach Ignatowskis Vorgang, indem er feststellte, daß eine absolut aplanatische Strahlenvereinigung dann stattfindet, wenn die sammelnde (äußere) Fläche des Kondensators durch eine Kardioide gebildet wird. Welche Rolle diese Kurve in der

geometrischen Optik spielt, ist auf S. 37 bereits gesagt worden. Bei einer bestimmten Entfernung der Spitze der Kardioide von dem Mittelpunkt der inneren, zerstreuenen Kreisfläche sind die Vereinigungs- und Brennweiten für alle parallel zur Achse des Systems einfallenden Strahlen gleich.

Wegen der großen Schwierigkeiten, die der Ausführung einer Fläche entgegenstehen, deren Querschnitt die Gestalt einer Kardioide hat und auch wegen des fragwürdigen Nutzens, den eine solche Formgebung der äußeren Fläche mit sich bringen würde, hat Siedentopf das in Betracht kommende Flächenstück der Kardioide für die Praxis durch eine Kugelfläche ersetzt. Die Fehler einer solchen Anordnung (sphärische Aberration und Abweichung von der Sinusbedingung) betragen weniger als den tausendsten Teil der Brennweite des Kondensors. Sie können praktisch vernachlässigt werden, weil die Ausführungsfehler viel größer sind.

Durch geschickte Wahl des Krümmungsverhältnisses beider Kugelflächen und des Abstandes ihrer Mittelpunkte voneinander ist es Siedentopf gelungen, wenigstens theoretisch eine Strahlenvereinigung höherer Ordnung dadurch herbeizuführen, daß er nicht nur zwei Strahlen, wie bei dem Leitzschen Kondensor, sondern deren drei zur Vereinigung brachte. Für die Wirksamkeit des Kondensors ist das belanglos, da ja, wie bereits gezeigt wurde, die sphärische Aberration bei ausgedehnten Lichtquellen eine sehr untergeordnete Rolle spielt und es außerdem dem praktischen Optiker unmöglich ist, mit den heute gebräuchlichen Mitteln bei optischen Systemen mit spiegelnden Flächen eine den Anforderungen der Theorie entsprechende Genauigkeit der Ausführung einzuhalten.

III. Der konzentrische Spiegelfondensor von Jenzsch.

Eine besondere und, wie gleich hervorgehoben werden soll, besonders einfache Ausführungsform des Zweiflächenkondensors stellt der konzentrische Spiegelfondensor von J. Jenzsch¹⁹⁾ dar, der von Reiß in letzter Zeit statt des Ignatowskischen ausgeführt wird. Die Konstruktion des Jenzschschen Kondensors ergibt sich aus Abb. 57. Von den beschriebenen Zweiflächenkondensoren unterscheidet sich die Jenzschsche Ausführungsform dadurch, daß „überhalb kugelige“ Flächen, wie sie der Glaskörper I des in Abb. 56 dargestellten Ignatowskischen Kondensors zeigt, ganz verschwunden sind. Infolgedessen lassen sich beide wirksamen Flächen auf einem einzigen Glaskörper

schleifen, was eine wesentliche Erleichterung für den ausführenden Optiker bedeutet. Beide Flächen, sowohl die innere zerstreuernde, forrigierend wirkende, als auch die äußere, sammelnd wirkende sind versilbert; der Belag ist durch Lacküberzüge geschützt. Auf den wirksamen Glaskörper ist ein

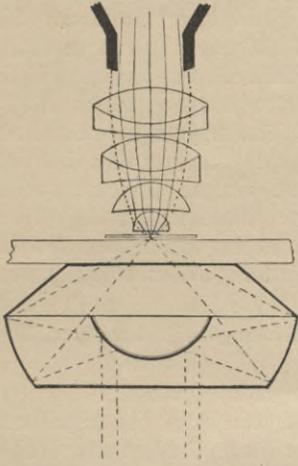


Abb. 57. Strahlengang im konzentrischen Kondensator nach Jenzsch (Leitz) in Verbindung mit einem durch eine Rohrblende abgeblendetem Immersionsobjektiv; schematisch.

zweiter von der Form eines Kegeltumpfes gefittet, der nur die Aufgabe hat, die Objektträgerdicke in erträglichen Grenzen zu halten. Der mittlere Teil der Unterseite dieses Körpers ist mattiert und sorgfältig geschwärzt, damit keine Reflexe an der den Hohlraum abschließenden Fläche die Dunkelheit des Feldes beeinträchtigen.

Wie der konzentrische Kondensator in Wirklichkeit aussieht, ergibt sich aus Abb. 58. Der Glaskörper des Kondensators sitzt in einer kräftigen Metallfassung, die den Deckel einer durch zwei Schrauben in der eigentlichen Fassung verschiebbaren Hülse bildet, so daß die Kondensatorachse leicht mit der des Mikroskops zur Deckung gebracht werden kann. Die ganze Einrichtung, die Leitz als Spiegelfondensator A bezeichnet, wird an Stelle des Abbeschen Kondensators in den Beleuchtungsapparat des Mikroskops eingeschoben.

Der Strahlengang im konzentrischen Kondensator ist in Abb. 57 durch punktierte Linien dargestellt. Das mitgezeichnete Objektiv ist eine homogene Immersion, deren numerische Apertur durch eine Rohrblende herabgesetzt wird. Es ist eine Eigenheit dieses Kondensators, daß bei ihm, wie Jenzsch nachgewiesen hat, die sphärischen Aberrationen gleich den Brennweitenaberrationen sind, d. h. die Sinusbedingung ist theoretisch und praktisch in vollkommener Weise erfüllt. Dabei sind die sphärischen Aberrationen

so geringfügig, daß sie nur ein Tausendstel der Brennweite ausmachen. Sie können nur dann auf einen noch geringeren Betrag zurückgeführt werden, wenn man die von Siedentopf bevorzugte Form des Zweiflächenkondensators wählt. Allerdings ergeben sich dann größere Abweichungen in der Sinusbedingung.

In beiden Fällen hat man es aber mit optischen Systemen zu tun, die infolge gänzlichen Fehlens der chromatischen Aberrationen (eine Eigenschaft, die allen Spiegelsystemen eigen ist) und der hochvollendeten sphärischen Korrektur unsere besten Objektive in dem verwendeten Aperturbereich bei weitem übertreffen. Die apochromatischen Immersionsobjekte zeigen erheblich größere Fehler. Man sollte insofern meinen, daß ein solches Zweiflächensystem, als Hilfsmittel für die Beobachtung, als Mikroskopobjektiv gebraucht, günstigere Ergebnisse liefern würde als unsere besten Objektive. Dem ist jedoch nicht so. Jenzsch hat gezeigt, daß man spiegelnde, bilderzeugende Flächen mit etwa sechsmal so großer Genauigkeit ausführen muß als brechende Flächen. Er verfolgte mit seinen Ausführungen zwar die Absicht, die Schwierigkeiten der Herstellung nichtsphärischer Flächen zu veranschaulichen (Schwierigkeiten, die dem ausführenden Optiker seit langem bekannt sind), doch kann man die Ergebnisse seiner Beweisführung ohne weiteres auf Kugelflächen übertragen.

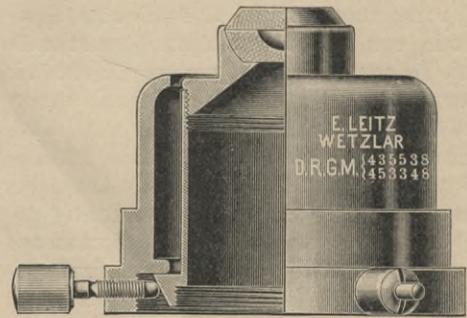


Abb. 58. Konzentrischer Kondensator von Jenzsch (Leitz); Fassung teilweise weggeschnitten, um die innere Einrichtung zu zeigen.

Um ein klares Bild der optischen Leistungsfähigkeit der Zweiflächensysteme und ihrer durch praktische Unzulänglichkeiten gezogenen Grenzen zu gewinnen, hat Verf. einige Versuche unternommen, die hier mitgeteilt werden sollen. Zunächst wurde ein Spiegelfondensator Jenzschscher Konstruktion unter Einhaltung der durch die Verwendung als Beleuchtungssystem bedingten Verhältnisse (z. B. „Deckglasdicke“ etwa 1 mm) untersucht, indem er als Mikroskopobjektiv bei

sehr geringer Okularvergrößerung gebraucht wurde. Eine Abbildung des Präparats war nur andeutungsweise wahrzunehmen, was nicht überraschen kann, da selbst bei sorgfältigster Ausführung die durch das „Deckglas“ hervorgerufenen Fehler genügen, um ein solches Ergebnis zu zeigten.

Im Anschluß daran ließ ich in den Reichert'schen Werkstätten ein Zweiflächenkondensoren-System in der Art des Zeunisch'schen Kondensors ausführen, das unter Einhaltung aller gebotenen Vorsichtsmaßregeln hergestellt wurde. Es hatte eine Brennweite von 2,5 mm, einen Aperturbereich von 1,0—1,35 und wurde wie ein Objektiv mit homogener Immersion an den Tubus des Mikroskops geschraubt. Deckglasdicke (0,17 mm) und Arbeitsabstand (0,3 mm) entsprachen auch den bei Objektiven dieser Art üblichen Werten. Die Ausführungsfehler waren so geringfügig, daß sie sich mit den heute zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln nicht erkennen ließen.

Diese homogene Spiegelimmersion wurde mit einer gewöhnlichen achromatischen Immersion $\frac{1}{12}$ “, bei der der Aperturbereich von 0—1,0 ebenso wie bei der Spiegelimmersion abgeblendet war, verglichen. Der Vergleich wurde bei vollgeöffnetem Abbeschen Kondensor (num. Apert. 1,40) vorgenommen.

In beiden Fällen trat das Dunkelfeldbild (positives Bild) gegenüber dem durch Hellfeldbeleuchtung zustande kommenden (negativem Bild) vollkommen zurück. Das mit dem Aperturbereich von 1—1,35 arbeitende Immersionsobjektiv lieferte eine Abbildung des Objekts, die sich von der gewöhnlichen nur dadurch unterschied, daß es nur halb so lichtstark war. Auch die Spiegelimmersion brachte ein Bild des Objektes zustande, dem aber leider das Wichtigste, die Auflösung, fehlte. Es wurden kräftig gefärbte Milzbrand- und Gonokokkenpräparate mit diesem System betrachtet. Größere, stark gefärbte Stellen des Objekts, z. B. Gewebestücke, konnten in ihren Umrissen ohne Mühe wahrgenommen werden. Dagegen blieben die Bazillen und Kokken selbst an Stellen, wo sie in größeren Mengen zusammenlagen, unsichtbar.

Die Vorteile der Spiegelimmersion, die vollständige Freiheit von chromatischen Fehlern, die geringe Abweichung von der Sinusbedingung (trotz einer von Siedentopf rechnergemäß nachgewiesenen starken Streuung bei der Abbildung seitlich gelegener Bildpunkte) und nicht zuletzt die große Lichtstärke traten voll und ganz in Erscheinung. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Herstellung von Systemen dieser Art, die die

Mikroskopobjektive ersetzen können und sie vielleicht in mancher Hinsicht übertreffen würden, später einmal unter Anwendung noch feinerer Hilfsmittel, als sie uns heute zur Verfügung stehen, gelingt.

Vorläufig zeigen diese Versuche nur, daß es zwecklos ist, die theoretische Verbesserung der Zweiflächenkondensoren bis an die Grenze des Möglichen zu treiben und die Fehler dieses Hilfsmittels, das doch letzten Endes nur eine Beleuchtungsanordnung darstellt, in Bruchteilen von Tausendsteln der Brennweite anzugeben, während die praktische Ausführung mit Fehlern von einigen Prozenten rechnen muß. Eine genaue Abbildung der Lichtquelle im Präparat ist außerdem vollkommen überflüssig. Das soll im folgenden Abschnitt gezeigt werden.

IV. Die Wirkungsweise der Zweiflächenkondensoren.

Im Gegensatz zu den Einflächekondensoren, deren optisch wirksamer Bestandteil entweder die Spiegellinse nach Stephenson oder das Wenham'sche Paraboloid ist, ist die Bilderzeugung durch den Zweiflächenkondensor trotz der ziemlich bedeutenden Ausführungsfehler als aplanatisch im Sinne Abbes zu bezeichnen. Während Einflächekondensoren nämlich nur einen Lichtfleck hervorrufen, dessen charakteristisches Merkmal darin besteht, daß seine Lichtstärke von der Mitte nach dem Rande zu abnimmt, erzeugen die Zweiflächenkondensoren ein scharfes Bild, dessen Umrisse durch die Form der Lichtquelle oder, bei Anwendung konvergenter Strahlen, durch die Abmessungen der Beleuchtungslinse gegeben sind. Ein bemerkenswerter Lichtabfall nach dem Rande zu tritt nicht auf. Infolgedessen ist man in der Lage, die beleuchtete Fläche des Präparats auf die Größe des Gesichtsfeldes der gerade gebrauchten Objektiv- und Okularkombination zu beschränken. Die Reflexbildung im Innern des Mikroskopobjektivs ist dann auf ein Minimum herabgesetzt, die Dunkelheit des Feldes und damit die Kontrastwirkung der beleuchteten Objekte aber am stärksten.

Es stehen mehrere Wege offen, um die Beschränkung des beleuchteten Feldes auf ein entsprechendes Maß herbeizuführen. Zunächst kann man die Vergrößerung der Lichtquelle durch die Beleuchtungslinse derart bemessen, daß das Gesichtsfeld des Mikroskops bei jeder Brennweite des Kondensors durch das Bild der Lichtquelle gerade ausgefüllt wird. Unter sonst gleichen Verhältnissen ist die beleuchtete Fläche um so kleiner, je geringer die Kondensorbrennweite ist.

Ein Blick auf die schematischen Darstellungen aller Zweiflächenkondensoren und ihres Strahlengangs lehrt jedoch, daß die Brennweite infolge der eigenartigen Konstruktion dieser Beleuchtungsvorrichtungen bei einem gegebenen äußeren Durchmesser stets kleiner ist als bei einem Kondensor mit nur einer wirksamen Fläche.

Abb. 59 soll dies näher erläutern. Der Weg, den der am Rande des Systems vorübergehende Strahl nimmt, ist durch die stark ausgezogene Pfeillinie bezeichnet. Die Brennweite dieses Randstrahls ist dann gegeben durch die Strecke HF, wobei H der Schnittpunkt des verlängerten, einfallenden Randstrahls mit dem zweimal gespiegelten ist. Die Brennweite des Strahls ist also gegenüber dem Durchmesser des Kondensors verhältnismäßig klein. Beispielsweise hat ein Einflächenskondensor von demselben Durchmesser fast eine doppelt so große Brennweite.

Dieser Umstand hat zur Folge, daß das von einem Zweiflächenkondensor mit gleichem Durchmesser entworfene Bild der Lichtquelle (oder, bei Beleuchtung mit konvergierendem Licht der Beleuchtungslinse) bedeutend kleiner ist als bei einem Einflächenskondensor, bei dem der Durchmesser der wirksamen Öffnung gleich dem Kondensordurchmesser ist. Es ist wohl möglich, allerdings unter größeren praktischen Schwierigkeiten, auch die Brennweite eines Einflächenskondensors so gering zu bemessen, daß sie der eines Immersionsobjektivs nahe kommt, wie es bei einem Zweiflächenkondensor der Fall ist. Infolge des mangelnden Aplanatismus ist aber das von dem ersten erzeugte Bild der Lichtquelle oder der Beleuchtungslinse in dem Präparat ausgehender als bei den Zweiflächenkondensoren, die Lichtkonzentration und damit die Lichtstärke geringer.

Die aplanatische Korrektur des Zweiflächenkondensors ist deshalb von besonderem Vorteil, weil sie die Möglichkeit schafft, die Größe der beleuchteten Fläche des Präparats auf ein der verwendeten Objektiv- und Okularkombination entsprechendes Maß zu beschränken, ohne daß, wie bei dem Paraboloid und der Spiegellinse, der der Beleuchtung des Präparats abträgliche Lichtabfall von der Mitte zum Rand der beleuchteten Fläche eintritt.

Bei stärkerer Vergrößerung ist aber das Gesichtsfeld des Mikroskops und ebenso die zu erleuchtende Fläche des Präparats ziemlich klein (Durchmesser 0,25 mm und darunter). Deshalb ist es bei Anwendung eines Zweiflächenkonden-

sors unbedingt nötig, daß dessen optische Achse mit der des Mikroskops genau zusammenfällt. Ist das nicht der Fall, so muß man den Licht-

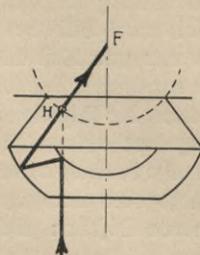


Abb. 59. Lage der Hauptpunkte bei einem Zweiflächenkondensor.

fleck mit Hilfe des Mikroskopspiegels oder durch Verschiebung des Mikroskops gegenüber der Lampe in die Mitte des Gesichtsfeldes bringen. Dabei tritt jedoch leicht eine einseitig schiefe Beleuchtung des Objekts und der damit verbundene Azimutfehler auf, der die Vorteile der stärkeren Bestrahlung vollständig aufhebt.

Das gleiche ist der Fall, wenn die Dicke des Objektträgers auch nur um ein Weniges von der vorgeschriebenen abweicht. Die erleuchtete Fläche bildet ja, wie bereits früher dargelegt wurde, die Spitze eines hohlen Kegels. Je kleiner nun der Raum ist, den diese Spitze einnimmt, desto eher tritt bei zu dünnem oder zu dickem Objektträger das Präparat aus der Ebene heraus, die die kleinsten Zerstreuungskreise des von der Lichtquelle ausgehenden und vom Kondensor gesammelten Strahlenbündels enthält. Die beleuchtete Fläche ist dann nicht mehr ein Kreis, sondern ein Kreisring, dessen dunkler mittlerer Teil um so ausgehender ist, je mehr der Objektträger von der vorgeschriebenen Dicke abweicht. Bringt man jetzt wieder einen Teil des Kreisrings in die Mitte des Gesichtsfeldes, so hat man wiederum einseitige Beleuchtung mit dem störenden Azimutfehler.

Ebenso muß stets dafür gesorgt werden, daß die Immersionschicht, die Objektträger und Kondensor verbindet, immer die gleiche Dicke hat. Diese Umständlichkeiten erschweren das Arbeiten mit den Zweiflächenkondensoren naturgemäß sehr.

Da die Zweiflächenkondensoren gegenüber den gewöhnlichen Spiegelskondensoren eine bedeutend kürzere Brennweite besitzen, so müssen bei der Beleuchtung des Objekts stets konvergente Strahlenbündel verwendet, d. h. das Bild der Lichtquelle muß in der Nähe der Eintrittspupille des Kondensors entworfen werden, so daß in der Präparatenebene die Beleuchtungs-

linse abgebildet wird. Werden parallele Lichtbündel benutzt, wobei die Lichtquelle selbst, bei Bogenlampen der Krater der positiven Kohle, im Präparat zur Abbildung gelangt, so entsteht ein sehr stark verkleinertes Bild des Kraters, das das Gesichtsfeld nur zum Teil ausfüllt. Außerdem werden, da der Krater der Kohle nur selten gleichmäßig leuchtet, die Ungleichmäßigkeiten der Lichtquelle infolge der aplanatischen Korrektur des Kondensors sehr deutlich wiedergegeben. Infolgedessen entsteht eine unruhige Beleuchtung, die sich bei feineren Objekten störend bemerkbar machen kann.

Das von der Beleuchtungslinse erzeugte Bild der Lichtquelle braucht nur wenig vergrößert zu werden, weil der äußere Durchmesser der Eintrittspupille bei Zweiflächenkondensoren bedeutend kleiner ist als bei Einflächekondensoren. Dieser Umstand erleichtert die Einstellung des Lichtquellenbildes im Präparat ungemein, so daß die Beleuchtung des Objekts mit konvergentem Licht sich gewissermaßen von selbst ergibt. Sollte eine vollständige Beleuchtung des Gesichtsfeldes in manchen Fällen nicht erwünscht sein, z. B. wenn gleichmäßig verteilte, aber äußerst feine Objekte (Kolloide) untersucht werden sollen, so kann die Fläche der Beleuchtungslinse durch entsprechende Blendevorrichtungen, am besten eine Irisblende, reduziert werden. Dadurch wird das durch den Kondensor in der Objektebene erzeugte Bild der lichtgebenden Fläche verkleinert.

Der Nachteil der schwierigeren Handhabung der Zweiflächenkondensoren verschwindet sofort, wenn die von ihm erhaltene Fläche des Präparats das Gesichtsfeld des Mikroskops an Größe übertrifft. Dieser Fall tritt ein:

1. wenn eine größere Lichtquelle, etwa Gasglühlicht, in Anwendung kommt;
2. wenn eine größere Beleuchtungslinse (Schusterkugel) verwendet wird;
3. wenn man die Beleuchtungslinse sehr nahe an das Mikroskop heranschiebt;
4. wenn man für den Kondensor eine größere Brennweite wählt.

Dann verhält sich der Zweiflächenkondensor mit Bezug auf Zentrierung, Einhaltung der Objektträgerdicke und Einstellung des Lichtflecks fast ebenso wie ein Einflächekondensor, hat aber dann auch eine etwas verminderte Lichtstärke. Der Zweiflächenkondensor kann eben nur dann seine Vorzüge voll entfalten, wenn die Lichtquelle in Präparat fast punktförmig abgebildet wird.

Wegen ihrer schwierigen Handhabung sind die Zweiflächenkondensoren mehr ein Hilfsmittel

der exakten Forschung, während die Einflächekondensoren infolge ihrer einfacheren Behandlung bei vollständig ausreichender Lichtstärke besser den Bedürfnissen der Praxis entsprechen.

V. Der Universal-kondensor nach W. v. Ignatowski.

Nach den Angaben W. von Ignatowski¹⁸⁾ hat die Firma Leitz ihren Zweiflächenkondensor neuerdings so ausgestaltet, daß er auch als Abbescher Kondensor verwendet werden kann, wenn die Dunkelfeldblende weggeklappt wird. Zu diesem Zwecke wurde der Kondensor mit längerer Brennweite und größerem Durchmesser ausgeführt. Dadurch ergab sich die Möglichkeit, in dem vergrößerten Hohlraum zwei Sammel-

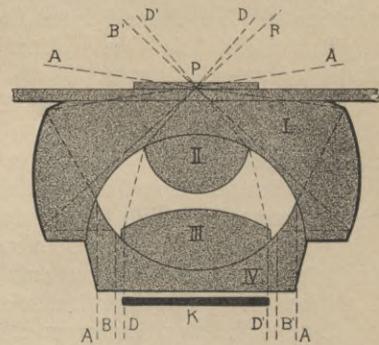


Abb. 60. Universal-kondensor nach v. Ignatowski (Leitz). Nach Entfernung der Blende K als Abbescher Kondensor zu verwenden; schematisch.

linsen unterzubringen (vgl. Abb. 60), und zwar wurde die stärkere Linse II auf den Teilkörper I, die schwächere Linse III auf den Teilkörper IV des Kondensors gefittet. Wird der Kondensor zur Erzeugung eines Dunkelfeldes verwendet, so tritt die Blende K vor seine Mitte. Nach Ausschaltung der Blende können die Lichtstrahlen das Linsenpaar II und III passieren. Sie werden dadurch zu einem konvergierenden Bündel, dessen äußerste Strahlen durch DD und D'D' bezeichnet werden, vereint, dessen Brennpunkt ebenfalls in P liegt. Die spiegelnden Flächen der Teilkörper I und IV erzeugen dann die Bündel mit den numerischen Aperturen 1,30—1,0, während die Linsen II und III ein Bündel mit der numerischen Apertur von etwa 0,80 liefern.

Die Lichtstärke dieses Universal-kondensors dürfte hinter der eines gewöhnlichen Zweiflächenkondensors etwas zurückstehen, weil eine vollkommene Dunkelheit des Feldes schwer zu erzielen ist. Zunächst bedingt die Einfügung der mittleren Linsen die Entstehung von Reflexen im Kondensor selbst, und ferner wird infolge der vergrößerten Brennweite ein größeres Flächen-

stück im Präparat beleuchtet, wodurch die Reflexbildung im Beobachtungsobjektiv begünstigt wird.

VI. Der Ultrakondensor von Jenzsch.

Zur Sichtbarmachung von ultramikroskopischen Teilchen, die sich in Gasen und Flüssigkeiten befinden, hat F. Jenzsch²⁰⁾ eine besondere Vorrichtung konstruiert, bei der der Spiegelfondensor und die Kammer für die zu untersuchenden Flüssigkeiten bezw. Gase miteinander vereinigt sind.

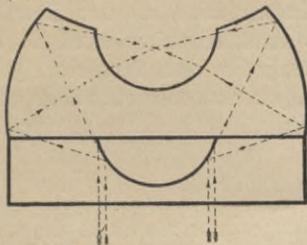


Abb. 61. Ultrakondensor von Jenzsch (Zets); schematisch.

Die Einrichtung des Ultrakondensors ergibt sich aus Abb. 61. Der Spiegelfondensor ist ein Zweiflächenkondensor besonderer Konstruktion, dessen oberer Teilkörper einen zur Aufnahme der zu untersuchenden Objekte bestimmten Hohlraum aufweist. Der Strahlengang ist durch die punktierten Linien angedeutet. Bevor die Strahlen das zu beleuchtende Teilchen treffen, werden sie zweimal gespiegelt und einmal gebrochen, wenn sich in dem Hohlraum Gase befinden oder Flüssigkeiten mit einem geringeren Brechungs-

index als Glas. Durch diese Anordnung wird, besonders bei Anwendung von Lichtquellen geringer Ausdehnung, gewissermaßen ein optischer Dünnschnitt in dem zu untersuchenden Medium erzeugt, ähnlich wie beim Spaltultramikroskop. Nur ist dieser Dünnschnitt in der Richtung der optischen Achse des Mikroskops ziemlich ausgedehnt und dann läßt er sich auch nicht wie beim Spaltultramikroskop beliebig vergrößern und verkleinern.

Der Glaskörper des Ultrakondensors ist in eine passende Metallfassung gefittet, die zentrisch auf den Tisch des Mikroskops gesetzt wird. Dann werden die Strahlen der Lichtquelle mit dem Mikroskopspiegel in den Kondensor geworfen. Die Zentrierung von Kondensor und Lichtquelle erfolgt in ähnlicher Weise wie bei den Spiegelfondensoren.

Der obere Hohlraum des Kondensors kann durch einen mit Gummidichtung versehenen Deckel, der mit Hilfe eines Bajonettverschlusses aufgesetzt wird, hermetisch abgeschlossen werden. In dem Deckel befinden sich zwei Öffnungen mit Ansatzröhrchen, durch die die untersuchenden Flüssigkeiten und Gase zugeführt und abgelassen werden. Durch ein in der Mitte des Deckels eingelassenes Quarzfenster wird beobachtet. Zur Beobachtung können nur schwächere Objektive mit größerem Objektabstand verwendet werden.

Will man den Ultrakondensor zur Untersuchung der Elektrodenzerstäubung beim Übergang elektrischer Funken benutzen, so wird der beschriebene Deckel durch eine Hartgummiplatte ersetzt, die die Anschlußklemmen und Elektroden trägt.

Zehntes Kapitel.

Dioptrische Kondensoren als Hilfsmittel zur Dunkelfeldbeleuchtung.

I. Der dreiteilige Abbesche Kondensor.

Die Methode der zentralen Abblendung im Abbeschen Kondensor zur Herbeiführung der Dunkelfeldbeleuchtung, auf die schon öfters hingewiesen wurde, steht schon lange in allgemeinem Gebrauch. Die optischen Werkstätten geben jedem größeren Stativ, das mit Abbekondensor versehen ist, eine in einen ausklappbaren Rahmen zu legenden Sternblende bei, die allerdings gewöhnlich so klein ist, daß sie nur bei schwächeren Objektiven (bis Objektiv Nr. 3) ein Dunkelfeld liefert, da sie dem Beleuchtungsband nur den zentralen Teil, etwa bis zu den numerischen Aperturen 0,5—0,6, entnimmt. Für wissenschaftliche

Zwecke war diese Methode deshalb nicht geeignet; sie hat auch nur wenig Anwendung gefunden.

Bereits im Jahre 1898 empfahl W. Gebhardt²¹⁾ eine zweckmäßige Abänderung der bis dahin gebräuchlichen Anordnung. Er schlug vor, zwischen Objektträger und Kondensoroberfläche eine Immersionschicht einzuschalten, damit die volle Apertur des Abbeschen Kondensors ausgenützt werde. Um auch mit stärkeren Trockensystemen beobachten zu können, benutzte er eine Sternblende von erheblich größerem Durchmesser, die alle Strahlen mit einer numerischen Apertur unter 1,0 zurückhielt. Er erhielt dadurch eine Abblendung der beleuchtenden Strah-

len durch Totalreflexion am Deckglas. Gebhardt führte auch als erster die Anwendung von abgeblendeten Immersionsystemen bei der Dunkelfeldbeleuchtung an und erläuterte die großen Vorteile dieser Einrichtung.

Schließlich wies er darauf hin, daß für viele Zwecke, insbesondere für die Auflösung feiner Strukturen, die positive Abbildung (bei Dunkelfeldbeleuchtung) geeigneter ist als die negative (Hellfeldbeleuchtung), weil die Strukturen bei jener verbreitert erscheinen und weil das Auge wegen der Dunkelheit des Feldes für die feinsten Einzelheiten empfänglicher ist als bei Hellfeldbeleuchtung.

E. Troester²²⁾ hat diese Dunkelfeldeinrichtung als erster angewendet, und zwar zur Untersuchung lebender Bakterien. Dies geschah schon 1905, also vor der Einführung des Spiegelkondensors. Troester benutzte zu seinen Versuchen Sonnen- und Bogenlicht, das er mit Hilfe eines kugelförmigen, mit Wasser gefüllten Gefäßes auf eine Mattscheibe konzentrierte. Der Hohlspiegel des dicht hinter dieser Scheibe stehenden Mikroskops warf dann das Licht in den

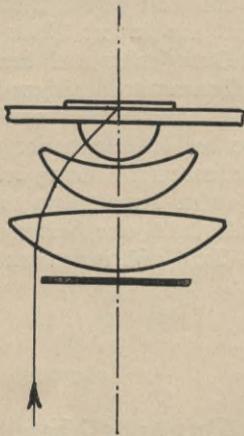


Abb. 62. Dreiteiliger Abbescher Kondensor mit Dunkelblende; schematisch.

mit einer größeren Sternblende versehenen Kondensor. Auf diese Weise erzielte Troester eine gleichmäßige, ruhige Beleuchtung des Präparats. Leider fanden diese Versuche aber nicht die ihnen gebührende Beachtung. Erst später, nach der Einführung des Spiegelkondensors, wurde diese einfachste Einrichtung zur Dunkelfeldbeleuchtung von Zeiß und Leitz empfohlen und bis zur Fertigstellung ihrer Spiegelkondensorkonstruktionen, des Paraboloids und des Zweiflächenkondensors ausgeführt.

Die Bezeichnung: „einfachste Einrichtung zur Dunkelfeldbeleuchtung“ erscheint insofern ge-

rechtfertigt, als jedes mit einem Abbeschen Beleuchtungsapparat versehene Mikroskop ohne weitere Befehle dazu verwendet werden kann. Es ist nur eine Sternblende von etwas größerem Durchmesser, als sie gewöhnlich den Mikroskopen beigegeben wird, notwendig. Für einen Abbeschen Kondensor von etwa 33 mm Durchmesser, wie ihn fast alle größeren Firmen herstellen, und der numerischen Apertur 1,4 soll der Durchmesser der Sternblende 24 mm betragen; sie hält dann alle Strahlen mit einer numerischen Apertur kleiner als 1,0 zurück, während die beleuchtenden Strahlen, wenn mit Trockenobjektiven beobachtet wird, an der Oberfläche des Deckglases total reflektiert werden. Selbstverständlich muß sich auch hier eine Flüssigkeitsschicht zwischen Kondensoroberfläche und Objektträger befinden. Abb. 62 zeigt eine solche Anordnung.

Diese Art der Dunkelfeldbeleuchtung wird nur dann angewendet, wenn es sich um die Beobachtung größerer Objekte beim Gebrauch von Lichtquellen geringer spezifischer Intensität handelt, denn sie ist aus mehreren Gründen den Spiegelkondensoren gegenüber im Nachteil. Zunächst läßt sich bei den dioptrischen Kondensoren mit eingelegter Zentralblende die Bedingung, daß kein Strahl der Beleuchtungsbündel in das Objektiv oder das Auge gelangen darf, nicht erfüllen. Die den Kondensor in seinen Randteilen durchsetzenden Lichtbündel rufen Spiegelungen an den Linsenflächen hervor, von denen Strahlen ausgehen, die eine geringere Apertur als 1,0 besitzen, infolgedessen aus dem Präparat austreten und durch das Objektiv in das Auge des Beobachters gelangen. Es ist deshalb mit diesem Hilfsmittel unmöglich, einen tief schwarzen Untergrund, auf dem sich die feinsten Objekte wirkungsvoll abheben, zu erlangen.

Des weiteren wirkt erschwerend, daß die Brennweite der Abbeschen Kondensoren im allgemeinen zu groß ist. Die bestrahlte Stelle des Präparats hat infolgedessen eine Ausdehnung, deren Größe die bei den Spiegelkondensoren erheblich überschreitet. Dieser Umstand, dessen nachteiliger Einfluß schon früher erwähnt wurde (vgl. S. 13), verstärkt noch die Wirkung der Reflexbildung im Kondensor. Man kann ihm zwar dadurch abhelfen, daß man das Bild der Lichtquelle im Präparat durch Fortlassen der Beleuchtungsklinse oder ähnliche Maßnahmen entsprechend verkleinert, doch treten dann die Fehler des dreiteiligen Kondensors, seine sphä-

rischen und chromatischen Aberrationen, störend in Erscheinung.

Die sphärischen Aberrationen des Kondensors, und zwar sowohl der Kugelgestaltsfehler auf der Achse als auch die Brennweitenaberrationen, sind geringer als bei den einflächigen Spiegelfondensoren. Beide bilden nur einen Bruchteil der Fehler einer sphärischen Spiegellinse nach Stephenson und eines Paraboloids nach Wenham.

Die chromatischen Aberrationen spielen bei den dioptrischen Kondensoren eine größere Rolle. Sie bewirken, daß der beleuchtete Fleck im Präparat von farbigen Säumen umgeben ist. Das Bild der Lichtquelle erscheint als ein heller Kreis, der zunächst durch einen grünen, dann durch einen roten Ring begrenzt ist. Das liegt daran, daß infolge des Mangels einer chromatischen Korrektur bei dem einfachen Abbeschen Kondensor das von den roten Strahlen der Lichtquelle erzeugte Bild eine größere Ausdehnung hat als das von den grünen und blauen hervorgerufene. Während sich aber die verschiedenfarbigen Bilder in der Mitte überdecken, ist das am Rande nicht der Fall, weil das blaue Bild der Lichtquelle kleiner ist als das grüne und rote. Infolge des Überwiegens der blauen Strahlen in der Mitte hat hier die beleuchtete Fläche, besonders beim Gebrauch von Bogenlampen, einen Stich in Blau.

Man muß die Beleuchtung des Objekts also so regeln, daß die farbigen Ränder des Lichtquellenbildes außerhalb des Gesichtsfeldes fallen. Mit anderen Worten: die beleuchtete Fläche des Präparats muß bedeutend größer sein als das Gesichtsfeld, was eben die bekannten Unzuträglichkeiten, nämlich die Entstehung starker Reflexbildungen im Objektiv, zur Folge hat.

II. Der aplanatische Kondensor.

Wenn man an Stelle des einfachen, dreiteiligen Abbeschen Kondensors einen sogenannten aplanatischen Kondensor verwendet, wie das C. Mez²³⁾ vorgeschlagen hat, so werden ähnliche Verhältnisse geschaffen, wie sie bei Zweiflächenkondensoren bestehen. Die aplanatischen Kondensoren sind eine vergrößerte Nachbildung der achromatischen Immersionsysteme. Sie werden besonders für mikrophotographische Zwecke verwendet. Die sphärischen und chromatischen Aberrationen sind bei ihnen in einer für Beleuchtungszwecke mehr als genügenden Weise behoben. Wegen ihrer größeren Linsenzahl werden sie mit einer etwas kleineren Brennweite ausgeführt als die einfachen Kondensoren. Sie haben gewöhnlich eine Brennweite von 8—9 mm,

eine numerische Apertur von 1,4 und eine Objektträgerdicke von 1,2 mm. Die Sternblende, die bei der Verwendung dieser Kondensoren als Hilfsmittel für Dunkelfeldbeleuchtung eingelegt wird, hat einen Durchmesser von 17 mm.

Die Strahlenvereinigung ist bei den aplanatischen Kondensoren von ähnlicher Vollkommenheit wie bei den Zweiflächenkondensoren, die Lichtstärke aber geringer. Der Grund dafür liegt vor allem darin, daß die Brennweite des aplanatischen Kondensors erheblich größer ist als die eines Zweiflächenkondensors. Die beleuchtete Stelle im Präparat ist daher ebenfalls wesentlich größer. Da die Anzahl der reflektierenden Flächen (sieben freie und zwei Mittflächen) beim aplanatischen Kondensor größer ist als beim einfachen, so tritt auch eine vermehrte Reflexbildung im Innern des Beleuchtungssystems auf. Ferner ist der Lichtverlust durch Reflexion und Absorption infolge der größeren Linsenzahl größer als bei den Spiegelfondensoren. Immerhin liefert die Anwendung eines aplanatischen Kondensors zur Dunkelfeldbeleuchtung bessere Ergebnisse, als die eines einfachen dreiteiligen Kondensors.

Übrigens gibt es ein einfaches Mittel, um den Hauptfehler der dioptrischen Kondensoren, die Reflexbildung innerhalb seiner Linsen, unschädlich zu machen. Es besteht darin, daß die Ablendung der mittleren Teile der beleuchteten Strahlenbündel nicht durch eine vor den Kondensorlinse angeordnete Stempelblende, sondern an der Frontlinse des Kondensors vorgenommen wird. Sie wird, ähnlich wie die Frontlinse des homogenen Immersionsobjektivs beim Ultramikroskop nach Siedentopf (Abb. 23) mit einem Abziff versehen, der ihren mittleren Teil so abblendet, daß aus dem Beleuchtungsbündel die Strahlen mit den numerischen Aperturen von 0—1,0 entfallen.

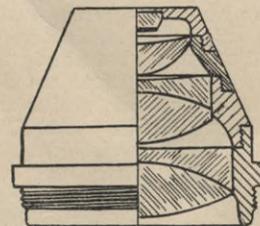


Abb. 63. Aplanatischer Kondensor mit abgeschliffener und abblendeter Frontlinse.

Bei dieser Einrichtung, die Abb. 63 an einem aplanatischen Kondensor zeigt, ist es ganz ausgeschlossen, daß das Objekt von Strahlen ge-

troffen wird, die eine geringere Apertur als 1,0 aufweisen, auch wenn sie von Spiegelbildern innerhalb der Kondensorlinen herrühren sollten. Selbst unter diesen günstigen Umständen ist die Lichtstärke des aplanatischen Kondensors aber geringer als die eines Spiegelfondensors, weil der Verlust an Licht durch Absorption größer ist als der Verlust durch Reflexion an den spiegelnden Flächen. Die größere Brennweite des aplanatischen Kondensors tut ein übriges, um seine Eignung als Hilfsmittel zur Beleuchtung im dunklen Felde herabzusetzen. Schließlich ist noch hervorzuheben, daß der Kondensor durch den Abschleiß der Frontlinse zu gewöhnlichen Arbeiten untauglich wird. Er wird dadurch zu einem kostspieligen Spezialinstrument, das den Spiegelfondensoren in mehrfacher Hinsicht unterlegen ist.

III. Immersionsobjektive als Kondensoren.

Wie wir sehen, kann man mit dioptrischen Kondensoren dieselben optischen Verhältnisse schaffen, die bei den Zweiflächenfondensoren obwalten. In den gewöhnlichen homogenen, achromatischen Immersionssystemen hat man Behelfe, die diesen Kondensoren in mancher Beziehung ähnlich sind. Ihre Brennweite ist z. B. bei dem Objektiv $\frac{1}{12}$ " mit der numerischen Apertur 1,30 bis 1,35 nur wenig geringer. Theoretisch stehen diese Objektive zwar den Zweiflächenfondensoren an

Leistungsfähigkeit nach; praktisch überragen sie die aber beträchtlich. Blendet man diese Objektive in derselben Art ab, wie es Abb. 63 für einen aplanatischen Kondensor zeigt, so erhält man einen für die Zwecke der Dunstfeldbeleuchtung geeigneten kurzbreitweitigen Kondensor. Von der Firma Reichert sind solche Kondensoren auf Veranlassung englischer Mikroskopiker hergestellt worden; die Immersionsobjektive wurden dabei mit einem die numerische Apertur im Ausmaße von 1,3—1,0 beschränkenden Abschleiß der Frontlinse versehen. Es braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden, daß diese Kondensoren nicht anders als mit einer Zentriervorrichtung benutzt werden können. Einen Fortschritt gegenüber den Spiegelfondensoren stellen sie aber durchaus nicht dar. Erstens kommt ihre vollkommene (praktische) Korrektur in keiner Weise zur Geltung, da die Zweiflächenfondensoren die Forderung, eine möglichst wenig ausgebeugte Abbildung der Lichtquelle im Präparat zu erzeugen, in genügender Weise erfüllen. Zweitens müssen die Objektträger wegen der geringen Fokaldistanz der homogenen Immersionsobjektive sehr dünn (0,3—0,5 mm) sein, und so dünne Objektträger sind unhandlich. Drittens ist der Lichtverlust durch Absorption und Reflexion größer als bei den Spiegelfondensoren, die daher unter sonst gleichen Verhältnissen lichtstärker sind. Schließlich bilden diese Systeme in Anbetracht des Umstandes, daß sie ihre Gebrauchsfähigkeit für Beobachtungszwecke wegen des ausgebeugten Abschleißes an der Frontlinse ganz einbüßen, ein im Vergleich zu den Spiegelfondensoren außerordentlich kostspieliges Hilfsmittel, dessen allgemeinere Anwendung nicht zu empfehlen ist.

Elftes Kapitel.

Das Kardioidultramikroskop.

Das von Zeiß ausgeführte Kardioidultramikroskop nach Siedentopf ist eine Verbindung des gewöhnlichen Ultramikroskops mit dem auf S. 56 beschriebenen Kardioidkondensor, die ausschließlich zur Untersuchung kolloider Lösungen bestimmt ist. Die Einrichtung unterscheidet sich von den übrigen Ultramikroskopen mit koaxialer Anordnung des Beobachtungs- und Beleuchtungssystems dadurch, daß die Objekte in einer Kammer aus Quarzglas untergebracht werden, die so beschaffen ist, daß die Schichtdicke des Präparats von äußeren Umständen unabhängig und unveränderlich ist. Sie bewegt sich in den Grenzen von 1 bis 2 μ , ist also nur wenig größer als die Sehtiefe der mittleren Objektiv- und Okularkombinationen. Daß als Material für die Kammer Quarzglas gewählt wurde, hat verschiedene Gründe. Zunächst ist Quarz bzw. Quarzglas widerstandsfähiger als Glas. Ein Objektträger aus Quarzglas behält selbst nach längerem Gebrauch bei entsprechender, sorgfältiger Behandlung einwandfreie Flächen. Ferner ist Quarzglas weniger empfindlich gegen die meisten in Laboratorien gebrachten Reagentien, gestattet eine gründlichere Reinigung als Glas und hat den großen Vorteil, daß es selbst bei sehr starker Bestrahlung, wie sie

die ultramikroskopischen Methoden erfordern, nicht fluoresziert.

Die Form der Kammer ergibt sich aus Abb. 64. Danach besitzt sie in ihrem mittleren Teile eine ringförmige Nut n , die eine sockelartige Erhöhung s konzentrisch umschließt. Die Oberfläche dieses Sockels wird durch nachträgliches Polieren um 1—2 μ niedriger geschliffen als die obere Fläche der Kammer. Wenn das Deckglas b , das 0,75 mm

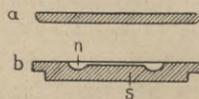


Abb. 64. Quarzkammer des Kardioidultramikroskops. a Kammer, b Deckglas, n Nut, s Sockel. (Nach G. Zeiß, Ultramikroskopie und Dunstfeldbeleuchtung, Heft 7, S. 6.)

dies ist und gleichfalls aus Quarzglas besteht, über die Kammer gelegt wird, so entstehen ausgeprägte, breite Newtonsche Ringe, ein Beweis für die geringe Dicke des zwischen den beiden Flächen vorhandenen Zwischenraumes. Ist dieser Raum beim Gebrauch der Kammer von der zu untersuchenden Flüssigkeit ausgefüllt, so verhindert die durch außergewöhnliche Dicke bedingte Starrheit des

Deckglases eine Durchbiegung, die bei einem dünneren Deckglas infolge von Adhäsionswirkungen unzweifelhaft auftreten würde. Der überschüssige Teil der Flüssigkeit fließt in den ringförmigen Raum, der die eigentliche Präparatfläche der Kammer umgibt. Auf diese Weise ist der so erzeugte „reelle Dünnschnitt“ stets von gleichmäßiger Dicke, die mittels der Feineinstellung eines besseren Mikrostops oder durch andere Hilfsmittel (Bestimmung der Breite der Newtonschen Streifen) bestimmt werden kann.

Der Umstand, daß die Kammer aus Quarzglas hergestellt ist, erlaubt, wie schon hervorgehoben, eine gründlichere Reinigung, als sie bei einer Glaskammer möglich wäre. Siedetopf empfiehlt die Reinigung auf nassem Wege. Kammer und Deckglas werden zunächst in gewöhnlicher Weise durch Wasser, Spiritus oder dergl. von gröbern Unreinlichkeiten gesäubert, getrocknet und mit einem weichen Pinsel sorgfältig abgestäubt und von Fasern befreit. Dann hängt man die beiden Teile der Kammer mit Hilfe einer Platindrachtschlinge mehrere Minuten lang in eine fast kochende Mischung von Schwefelsäure und Chromsäure, spült sie mit destilliertem Wasser und darauf mit absolut reinem Alkohol ab und trocknet sie möglichst rasch in einem warmen Luftstrom. Bei allen diesen Prozeduren hält man die Kammer an der Drahtschlinge und schließt sie sorgfältig vor der Berührung mit anderen Gegenständen. Nach der Trocknung bringt man die beiden Quarzglaskörper solange in die Flamme eines Bunsenbrenners, bis der Platindracht dunkelrot glüht, läßt sie an einem, von Luftströmungen freien, peinlich sauberen Ort abkühlen, legt beide Teile schließlich, wenn die Kammer nicht gleich wieder benützt wird, wie in der Gebrauchsstellung aufeinander und bewahrt sie so vor Staub geschützt auf. Werden beide Teile getrennt voneinander bewahrt, so empfiehlt es sich, sie mit einem schützenden Überzug von Kollodium zu versehen, der kurz vor dem Gebrauch entfernt wird.

Zur besseren Handhabung der Kammer wird sie in einem besonderen Halter verwendet, der in Abb. 65 dargestellt ist. Er besteht aus drei Teilen, einer kreisrunden Grundplatte d, die mit Hilfe von

drei Stellschrauben g genau senkrecht zur optischen Achse des Mikrostops ausgerichtet werden kann, einem Zwischenstück e und dem auf die Grundplatte geschraubten Ring f, der das Zwischenstück e sanft gegen die Kammer drückt und diese mit Hilfe eines in die Grundplatte eingelassenen Flansches fixiert. Die Stifte h bewirken es, daß das Zwi-

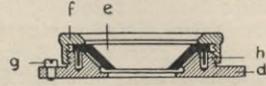


Abb. 65. Halter für die Kammer. d Grundplatte, g Stellschraube, e Zwischenring, f Anschraubring. (Nach C. Zeiß, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 7, S. 8.)

schonstück während der Drehung des Ringes f nicht mitgenommen wird. Bei der Fixierung der Kammer durch den Ring muß sehr vorsichtig verfahren werden, damit im Material des Halters und der Quarzkammer keine Spannungen entstehen, die heftige Strömungen im Präparat auslösen können.

Es ist zweckmäßig, bei dieser Untersuchungsmethode ein Mikroskop mit beweglichem Tisch zu benutzen, um die Kammer nach schnell verlaufenden Reaktionen um kleine Beträge verschieben zu können.

Das außergewöhnlich dicke Deckglas der Kammer macht die Verwendung eines besonders konstruierten Objektivs notwendig. Es ist ein apochromatisches Trockensystem mit der numerischen Apertur 0,90, die durch eine Rohrblende auf 0,80 herabgesetzt werden kann. Dadurch wird die Kontrastwirkung gesteigert. Die Dicke des Deckglases bringt es mit sich, daß die im Mikroskop entstehenden Beugungsscheibchen der Ultramikronen schon bei sehr geringer Schiefstellung der Kammer oder des Deckglases unsymmetrische Formen annehmen. Es ist deshalb genau darauf zu achten, daß das Deckglas zur Achse des Mikrostops senkrecht liegt. Ferner muß die für Objektiv und Deckglas günstigste Tubuslänge auf die früher (S. 44) erläuterte Weise ermittelt und stets eingehalten werden.

Wegen der großen Lichtstärke der Beugungsscheibchen im Kardiodultramikroskop können die stärksten Okulare (zweckmäßig verwendet man nur

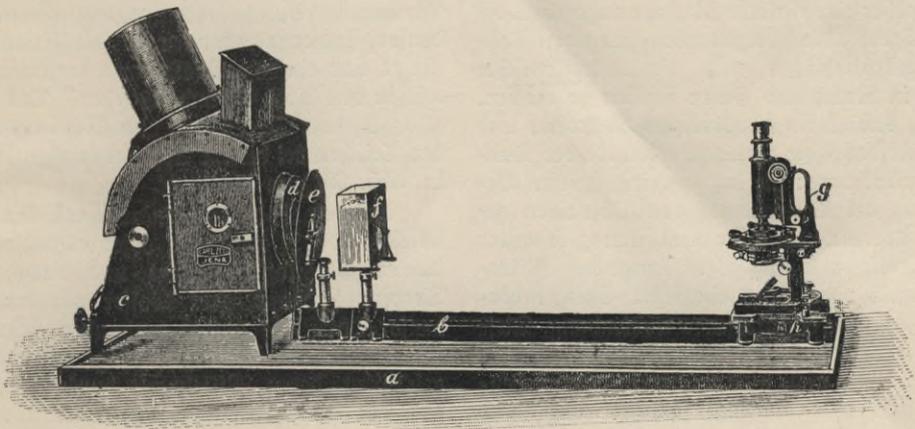


Abb. 66. Kardioidultramikroskop nach Siedetopf (Zeiss). c Lampe, d Blende, e Beleuchtungslinse mit Schirm, f Kühlgefäß, b optische Bank, a Grundplatte. (Nach C. Zeiss, Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 7.)

Kompensationsokulare) benutzt werden. Die Ausdehnung des beleuchteten und beobachteten Raumes kann durch Okularmikrometer in der auf S. 24 beschriebenen Weise festgestellt werden.

Abb. 66 veranschaulicht die Anordnung der einzelnen Teile des Radioidultramikroscopes. Die Bogenlampe *c* steht auf einem langen Brett *a*, das auch die optische Bank *b* trägt. Reiß empfiehlt für das Radioidultramikroskop eine Gleichstrombogenlampe von 20 oder mehr Ampere Stromstärke, deren Lichtkegel durch eine feste Blende *d* entsprechend eingeschränkt wird. In der Nähe der Blendenöffnung steht eine Sammellinse großer Lichtstärke, die von einem, störendes Nebenlicht zurückhaltenden Blendschirm *e* umgeben ist. Die optische Achse der Beleuchtungslinse ist geneigt, so daß die von ihr ausgehenden Lichtbündel den tief liegenden Beleuchtungspegel des Mikroskops treffen. Zwischen diesem und der Sammellinse wird ein Kühlgefäß aufgestellt, in dem sich eine die Wärmestrahlen absorbierende Flüssigkeit, z. B. eine Lösung von Eisenammoniumsulfat 5:1, befindet.

Wie schon hervorgehoben, muß die Zentrierung des Lichtquellenbildes in der Präparatebene bei den Zweiflächenkondensoren, insbesondere bei dem Radioidkondensor, viel sorgfältiger geschehen als bei den andern Spiegelkondensoren. Im übrigen sind die Methoden dieselben. Man kontrolliert die Einstellung des Lichtkegels bei schwacher Vergrößerung und achtet vor allem darauf, daß er möglichst klein ist (richtige Bemessung der Dicke der

Immersionschicht zwischen Kondensoroberfläche und Unterseite der Kammer). Ferner muß er vollkommen rund erscheinen und das Gesichtsfeld gleichmäßig ausfüllen oder dessen Mitte erleuchten. Durch Einfügung einer Blende (am besten einer Fresnelblende) zwischen Wasserkammer und Mikroskop, kann die Größe des beleuchteten Teiles des Gesichtsfeldes beliebig verringert werden.

Soll Sonnenlicht gebraucht werden, so ist die Verwendung eines Heliostaten anzuzuführen. Auch muß man in diesem Falle eine sammelnde Hilfslinse von solcher Brennweite vor den Kondensor schalten, daß das Sonnenbild, das in der Eintrittsöffnung des Kondensors entstehen soll, diese vollständig ausfüllt.

Reiß empfiehlt das Radioidultramikroskop nur für die Zwecke der Kolloidchemie, die früher ausschließlich das Spaltultramikroskop benutzte. Wie bei diesem, so ist es auch bei dem Radioidultramikroskop wegen der unveränderlichen Schichtdicke möglich, quantitative Bestimmungen vorzunehmen, obwohl das Spaltultramikroskop in dieser Hinsicht immer noch die besten Dienste leistet.

Mit Hilfe der Quarzkammer kann man den Verlauf chemischer Reaktionen in feinen Zerteilungen bequem beobachten. In das Deckglas werden zu diesem Zwecke zwei feine Löcher gebohrt, durch die die Reaktionsflüssigkeit eingebracht wird. Siedentopf²⁴) hat mit Hilfe des Radioidultramikroskops auch Lichtreaktionen, die sich an lichtempfindlichen Kolloiden vollziehen, untersucht.

Zwölftes Kapitel.

Nebenapparate.

I. Gaskammer von Reichert.

Eine Einrichtung, mit deren Hilfe man die in gasförmigen Medien suspendierten Teilchen durch Dunkelfeldbeleuchtung sichtbar machen kann, ist im Reichertschen Ultrakondensor (S. 61) bereits beschrieben worden. S. Molisch hat schon früher eine einfache Methode angegeben, die es ermöglicht, die Molekularbewegung von Teilchen mikroskopischer und ultramikroskopischer Größe in Rauch und Gasen sichtbar zu machen. Molisch benützt ein gewöhnliches Mikroskop und gebraucht dabei die einfachste Methode der Dunkelfeldbeleuchtung: die der einseitig schiefen Beleuchtung bei Verwendung von Objektiven geringer Apertur. Zu ihrer Realisierung ist weiter nichts nötig als eine Verstellung des Mikroskopspiegels oder, falls ein fester Spiegel vorhanden ist, eine entsprechende Abblendung. Diese an Einfachheit wohl kaum zu übertreffende Einrichtung leistet nicht nur für den in Rede stehenden Zweck gute Dienste, sondern kann auch überall da mit Erfolg angewendet werden, wo nur mit schwachen Vergrößerungen beobachtet wird, z. B. bei Plankton- und Infusorienunter-

suchungen, beim Arbeiten mit dem Stereomikroskop nach Greenough usw.

Um diese Erscheinungen aber auch ohne Anwendung eines besonderen Kondensors, wie dies beim Ultrakondensor der Fall ist, also mit jeder beliebigen Einrichtung zur Dunkelfeldbeleuchtung (Spiegelkondensor, dioptrischem Kondensor) studieren zu können, hat die Firma Reichert eine einfache Gaskammer konstruiert, die wir in den Abb. 67 und 68 sehen. Das Prinzip, nach dem Beleuchtung und Sichtbarmachung der Teilchen bei diesem Apparat erfolgen, kommt in Abb. 69 zum Ausdruck.

Auf den Spiegelkondensor *S* mit der Dunkelfeldblende *B* wird ein objektträgerähnlicher, kleiner Glasklotz *a* gelegt und durch einen Tropfen Zedernöl oder Wasser mit der Kondensoroberfläche optisch verbunden. In den Glasklotz ist eine halbkugelförmige Höhlung eingeschliffen, deren Mittelpunkt durch Zentrieren mit der optischen Achse des Mikroskops zur Deckung gebracht werden muß. Die vom Spiegelkondensor gesammelten Strahlen treffen die Wandungen der Höhlung annähernd senkrecht

und gehen daher fast ohne Ablenkung hindurch. Da aber die Strahlen jetzt in Luft verlaufen, ohne daß ihr Neigungswinkel eine wesentliche Änderung erfahren hätte, so verändert sich dadurch die numerische Apertur des Kondensors ganz bedeutend. So wird z. B. die numerische Apertur 1,35—1 eines beliebigen Spiegelkondensors oder eines dioptrischen Kondensors durch den Glasblock mit Hohlraum im Mittelpunkt auf die Werte 0,9—0,6 verringert. Das hat zur Folge, daß nur Objektive geringer Apertur zur Beobachtung benützt werden können. Ein lose aufgelegtes Deckgläschen vervollständigt den Apparat.

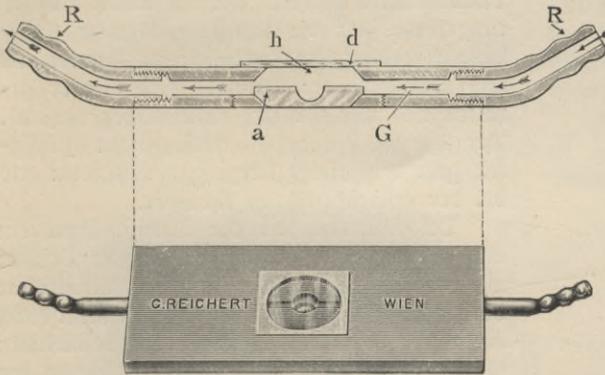


Abb. 67 (oben). Schnitt durch die Gaskammer mit ihren Zu- und Ableitungen.

Abb. 68 (unten). Ansicht der Reichert'schen Gaskammer von oben.

Die Abb. 67 und 68 stellen die durch Zu- und Ableitungen ergänzte Gaskammer im Schnitt und in der Ansicht von oben dar. In Abb. 67 erkennt man den oben beschriebenen Glasblock in a unschwer wieder. Sein oberer, in der Abbildung nicht angedeuteter Teil weist zwei kanalartige Einkerbungen auf (in Abb. 67 mit h bezeichnet, in Abb. 68 unmittelbar hervortretend), die den mittleren, halbkugelförmigen Hohlraum mit den Zuleitungs- bzw. Ableitungsröhrchen R R verbinden. Die Röhrchen werden im Gebrauch durch Gummischläuche mit Absperrhähnen und einem Mundstück zum Einblasen des Rauches ergänzt.

Vor der Beobachtung werden die Kanäle h und der halbkugelförmige Hohlraum durch ein Deckgläschen d bedeckt, das an seinen Rändern mit Wasser benetzt worden ist. Die Adhäsion der Wasserschicht bewirkt einen genügend dichten Abschluß des Kammerinneren gegenüber der äußeren Luft, so daß der eingeblasene Rauch durch die ganze Länge der Kammer hindurchstreichen muß. Dann wird die Kammer mit Hilfe von Objektträgerklammen zentrisch auf dem

Spiegelkondensor befestigt, wobei der obere Rand des Hohlraums als Zentrierungsbehelf dient.

Die Beleuchtung erfolgt in derselben Weise, wie bei anderen Beobachtungen, im Dunkelfeld. Die mikroskopischen, zum Teil auch ultramikroskopischen Körperchen erscheinen hell leuchtend und in sehr starker Brownscher Molekularbewegung begriffen auf etwas dunklerem Hintergrunde, den man allerdings kaum als Dunkelfeld ansprechen kann. Die ziemlich starke Erleuchtung des Feldes rührt zum großen Teil von der Trübheit der in Frage kommenden Medien her. Auch die zahllosen suspenzierten Teilchen, die sich in der sehr dicken beleuchteten Schicht außerhalb der Einstellungsebene des Mikroskops befinden, tragen zur Aufhellung des Gesichtsfeldes bei. Zur Beobachtung dürfen nur schwache Objekte (bis Nr. 3) verwendet werden.

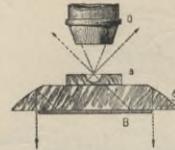


Abb. 69. Darstellung des Prinzips, nach dem bei der Reichert'schen Gaskammerbeleuchtung und Sichtbarmachung der Teilchen erfolgen.

Man kann diese Einrichtung auch zur Demonstration der elektrischen Zerstäubung benützen. Zu diesem Zwecke werden in die Kanäle des Glasblockes zwei Drähte eingelegt, die zur Zuführung des elektrischen Stromes und gleichzeitig als Elektroden dienen. Beim Überspringen der Funken füllt sich der Hohlraum mit staubförmigen Metallteilchen, die durch die Beleuchtung im Dunkelfeld sichtbar werden.

II. Durchflußkammer von Reichert.

Zur kontinuierlichen Untersuchung einer größeren Flüssigkeitsmenge mit Hilfe der Spiegelkondensoren dient die in Abb. 70 dargestellte Einrichtung, deren wesentlichster Teil eine langgestreckte, in Form und Dimensionen einem Objektträger ähnliche Kammer bildet, die an den Schmalseiten eine Zu- und eine Abflußöffnung hat. Diese Durchflußkammer, die wir in der Abbildung auf dem Objektträger liegen sehen, steht durch einen Gummischlauch mit dem auf dem Stativ befestigten, die zu untersuchende Flüssigkeit enthaltenden Glasrichter in Verbindung, der zur beliebigen Unterbrechung der Zirkulation

durch einen Hahn abgesperrt werden kann. Der mittlere Teil der Durchflußkammer besteht aus einer den Kammerboden bildenden Glasplatte von 0,5 mm Dicke, einer Deckplatte von derselben Form und zwei sichelartigen Zwischenstücken von 1 mm Dicke. Ein säurefester Kitt verbindet das Ganze, so daß die Kammer einen Hohlraum umschließt, der als Grundfläche eine langgestreckte Ellipse hat, an deren schmalen Seiten sich die Zu- bzw. Abflußöffnungen befinden und dessen Höhe 1 mm beträgt. Durch eben-

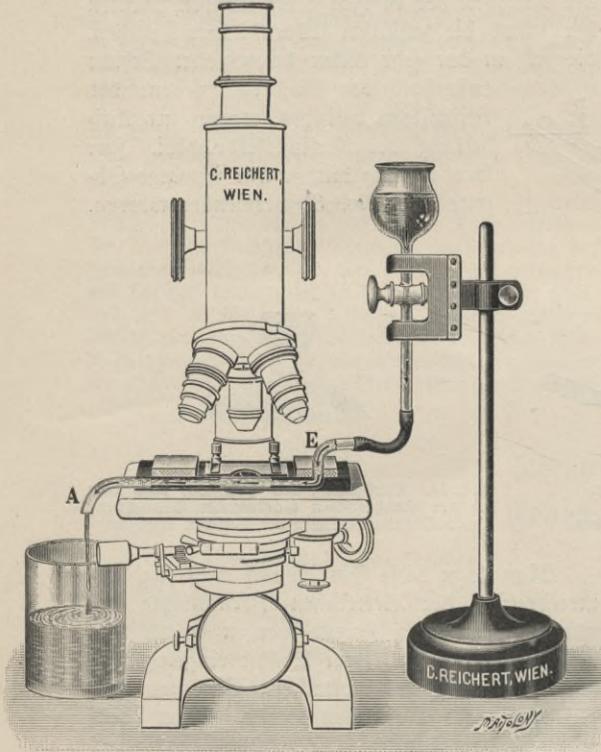


Abb. 70. Reichertsche Durchflußkammer.

falls ange kittete Seitenstücke von besonderer Form, die in dünne Glasröhren enden, wird die Kammer abgeschlossen. Die Grundplatte trägt in der Mitte eine kegelförmige Erhöhung, die in einen kreisförmigen Ausschnitt der Deckplatte hineinragt. Die obere Fläche der Deckplatte und die obere Fläche des Kegelförmigen sind 0,1–0,2 mm voneinander entfernt. Der kreisförmige Ausschnitt der Deckplatte wird durch ein Deckglas verschlossen, das nicht aufgekittet ist, sondern durch zwei in der Metallfassung der Kammer steckende Klemmen gegen die Deckplatte gepreßt wird. Bei etwaigen Beschädigungen kann es also leicht durch ein anderes ersetzt werden. Auch die Reinigung der

Kammer wird durch das abnehmbare Deckglas sehr erleichtert.

Da die Gesamtdicke der Durchflußkammer bis zur Auflagfläche des Deckglases 2 mm beträgt, kann sie nur mit Spiegelfondensoren benutzt werden, die für diese Objektträgerdicke konstruiert sind. Diese Bedingung wird nur von den ältesten Ausführungsformen der Reichertschen Spiegelfondensoren erfüllt, die seit längerer Zeit nicht mehr gebaut werden.

Um die Durchflußkammer auch mit den derzeit gebräuchlichen Kondensoren, die eine Objektträgerdicke von 1 mm oder nur wenig darüber haben, benützen zu können, mußte sie also umkonstruiert werden. Bei der neuen Ausführungsform fällt die kegelförmige Erhöhung gegenüber dem Deckglase fort. Grundplatte und Deckplatte der Kammer sind dünner gehalten und nur 0,2 mm voneinander entfernt. Der Durchfluß der zu untersuchenden Flüssigkeit geht demzufolge langsamer vorstatten als bei der erstbeschriebenen Kammer.

Des weiteren sind die Durchflußkammern auch dadurch verbessert worden, daß der Trichter mit dem Zuflußrohr der Kammer unmittelbar verbunden ist und der Durchfluß nicht mehr durch einen vor dem Beobachtungsraum befindlichen Glas hahn, sondern durch einen hinter der Kammer angeordneten Quetschhahn gesperrt wird.

Die Anwendung dieser Durchflußkammern ist auf die schnelle Durchmusterung kolloider Lösungen beschränkt. Zu eingehendem Studium zerteilter Körper benützt man vorteilhafter die Methode der Einbettung zwischen Objektträger und Deckglas bzw. das Kardiodultramikroskop. Für die Größenbestimmung der gelösten Körper kommt einzig und allein das Spaltultramikroskop in Betracht.

III. Quarzkondensoren für Dunkelfeldbeleuchtung.

Die schädigenden Einflüsse des ultravioletten Lichtes auf Bakterien sind bekannt, benutzt man die ultravioletten Strahlen doch direkt zur Sterilisation von Milch, Trinkwasser usw. Um die Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf Bakterien unmittelbar beobachten zu können, liefert Reichert seinen Spiegelfondensor mit sphärischer Spiegellinse und Zeiß sein Paraboloid auch in einer aus Quarz oder Quarzglas hergestellten Form. Die Beleuchtungslinse, die Objektträger und Deckgläser müssen natürlich ebenfalls aus Quarz bestehen. Da der Mikroskopspiegel nicht zur Beleuchtung des Objekts herangezogen werden kann, muß entweder bei

umgelegtem Instrument beobachtet oder ein Quarzprisma an Stelle des Spiegels eingeschaltet werden. Wenn man die gewöhnliche Anordnung verwendet, bei der sämtliche optischen Teile aus Kron- oder Spiegelglas hergestellt sind, werden die am stärksten einwirkenden Strahlen, die, deren Wellenlänge unter $300 \mu\mu$

liegt, durch das Glas vollständig absorbiert. Auch die ultravioletten Strahlen von einer größeren Wellenlänge als $300 \mu\mu$, die durch ihre größere Menge ebenfalls starke physiologische Wirkungen ausüben, werden durch das Glas stark absorbiert, gelangen also im Präparat nur in geringem Maße zur Geltung.

Dreizehntes Kapitel.

Das Fluoreszenzmikroskop.

Eine bedeutame Anwendung hat die Methode der Dunkelfeldbeleuchtung beim Fluoreszenzmikroskop³⁾ gefunden, das sich von den im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Einrichtungen mit Quarzoptik für den Beleuchtungsapparat nur durch die Anwendung eines Wood-*Lehmann'schen* Filters unterscheidet, das lediglich die ultravioletten Strahlen von den Wellen-

Verhältnis 1:12000 absorbiert werden, so daß nur ultraviolettes Licht in den Kondensor des Mikroskops gelangt. Als Lichtquelle dient eine Starkstrombogenlampe, die mit Kohlen, deren Docht Eisensalze enthält, beschickt wird.

Die Anwendung der Dunkelfeldbeleuchtung ist beim Fluoreszenzmikroskop aus mehreren Gründen unbedingt erforderlich. Zunächst ist das

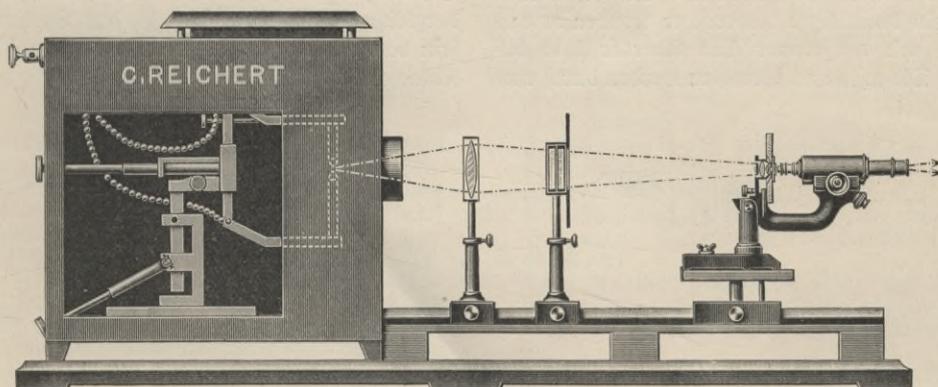


Abb. 71. Fluoreszenzmikroskop.

längen zwischen 400 und $300 \mu\mu$ zum Präparat gelangen läßt. Unter dem Einfluß dieser Strahlen fluoresziert das Präparat mehr oder minder stark. Dadurch treten bei manchen Objekten selbst geringe chemische Unterschiede bei gleicher morphologischer Beschaffenheit der Stoffe deutlich hervor.

Das Wood-*Lehmann'sche* Filter besteht aus mehreren Teilen. Der wichtigste ist eine Scheibe des von der Firma Schott und Genossen in Jena hergestellten Blau-*Uviol* Glases, das für die Strahlen des bezeichneten Bezirks in hohem Grade durchlässig ist. Von den sichtbaren Strahlen läßt es noch Rot und Blau durch. Die roten Strahlen werden durch eine gesättigte (20–25%ige) Lösung von Kupferulfat zurückgehalten, während die blauen durch eine schwache Lösung von Nitrosodemethyl-Anilin im

ultraviolette Licht, das zur Erregung des Präparats dient, nicht unsichtbar, sondern wird von der Netzhaut des Auges als graublau (lavendelgrau) empfunden, allerdings nur in solchen Mengen, wie sie beim Fluoreszenzmikroskop zur Beleuchtung des Objekts erforderlich sind. Zweitens absorbieren die Linsen des Objektivs und Okulars das ultraviolette, lavendelgraue Licht nur zum Teil, so daß bei Hellfeldbeleuchtung ein beträchtlicher Teil in das beobachtende Auge gelangen würde. Die Lichtquelle, in diesem Falle nicht der Krater der Kohlen, sondern der die verdampfenden Eisensalze enthaltende Lichtbogen, würde infolgedessen auf der Netzhaut des Auges durch ultraviolette Strahlen abgebildet werden und das meist schwache Fluoreszenzbild des Objekts überstrahlen. Dazu kommt noch der Umstand, daß die Linse des Auges unter dem Ein-

fluß des ultravioletten Lichtes sehr stark fluoresziert und dadurch zur Verschleierung des Bildes nicht unerheblich beiträgt, ganz abgesehen davon, daß das ultraviolette Licht in größeren Mengen auf das Auge schädigend einwirkt.

Diese Unzutraglichkeiten fallen bei Anwendung der Dunkelfeldbeleuchtung sämtlich fort. Das von den ultravioletten Strahlen bei Dunkelfeldbeleuchtung erzeugte positive Bild ist so lichtschwach, daß es überhaupt nicht wahrgenommen wird und die Fluoreszenzfarben des Präparats treten auf dem dunklen Untergrunde hell leuchtend hervor.

In Abb. 71 ist das von Reichert gebaute Fluoreszenzmikroskop dargestellt. Das vom Lichtbogen der Lampe ausgehende ultraviolette Licht wird von einer Linse aus Quarz oder aus dem gleichfalls für ultraviolette Strahlen durchlässigen Jenaer UV-Glas gesammelt und durch das in der Mitte der optischen Bank aufgestellte Wood-Lehmann-Filter in den Dunkelfeldkondensor des Mikroskops geworfen. Als Kondensor wird ein dreiteiliger dioptrischer Kondensor aus Quarz mit der numerischen Apertur 1,45 benutzt. Die mittleren Strahlen werden durch eine

Zentralblende zurückgehalten. Zur Verbindung der Kondensoroberfläche mit dem gleichfalls aus Quarz oder aus UV-Glas bestehenden Objektträger dient reines Glycerin. Die Deckgläser sind aus gewöhnlichem Glase.

Die Flüssigkeit, in die das Präparat eingebettet wird, darf das ultraviolette Licht weder stark absorbieren noch unter dessen Einfluß stärker fluoreszieren. Hauptsächlich kommen Wasser und reines oder verdünntes Glycerin als Einbettungsmedien in Betracht.

Die Untersuchungen, die R. Wasiech²⁸⁾ mit dem Fluoreszenzmikroskop angestellt hat, haben die Bedeutung dieser Einrichtung wenigstens für einen Zweig der Medizin, für die Pharmakognosie, dargetan. Wahrscheinlich ist das Instrument aber auch noch für andere Gebiete von Wichtigkeit. Besonders leicht lassen sich mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops Verunreinigungen und fremde, schädliche oder gütemindernde Beimengungen in Lebensmitteln, Gewürzen und dergleichen nachweisen, so z. B. das Vorhandensein von Mutterkorn im Mehl, von gemahlener Kakaoschalen in Kakaopulver u. a. m.

BIBLIOTEKA POLITECHNICZNA
KRAKÓW

Literaturverzeichnis.

1. C. Abbe, Gesammelte Abhandlungen. Fischer, Jena, 1904.
2. H. von Helmholtz, Die theoretische Grenze für d. Leistungsfähigkeit der Mikroskope. Ann. der Physik, Jubelband, 1874.
3. D. Heimstädt, Das Fluoreszenzmikroskop. Zeitschr. für wissenschaftl. Mikr. u. f. mikr. Technik. Bd. XXVIII, S. 330—337.
4. H. Siedentopf, Über ultramikroskopische Abbildung linearer Objekte. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikr. u. f. mikr. Technik. Bd. XXIX, S. 1.
5. G. Bredig, Darstellung kolloidaler Metalllösungen durch elektrische Zerstäubung. Zeitschrift f. angew. Chemie, 1898, S. 951—54.
6. H. Siedentopf und R. Zsigmondy, Über Sichtbarmachung u. Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen, mit besonderer Anwendung auf Goldrubingläser. Ann. d. Physik, 1903, Bd. 10, S. 1.
7. Richard Zsigmondy, Zur Erkenntnis der Kolloide. Über irreversibile Hydrosole und Ultramikroskopie. Fischer, Jena, 1905.
8. R. Zsigmondy, Über Kolloidchemie. Barth, Leipzig, 1907.
9. Felix Ehrenhaft, Über eine neue Methode zur Messung von Elektrizitätsmengen, die kleiner zu sein scheinen als die Ladung des einwertigen Wasserstoffions oder Elektrons und von dessen Vielfachen abweichen. Physik. Zeitschr., 11. Jahrg., S. 21/22.
10. R. Zsigmondy, Über ein neues Ultramikroskop. Physik. Zeitschr., XIV, 1913, S. 20.
11. H. Siedentopf, On the rendering visible of ultramicroscopic particles and of ultramicroscopic bacteria. Journ. Roy. Micr. Soc., 1903.
12. N. Gaidukov, Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie. Fischer, Jena, 1910.
13. A. Cotton und H. Mouton, Les Ultramicroscopes. Les Objets Ultramicroscopiques. Masson & Cie., Paris 1906.
14. H. Siedentopf, Über mikroskopische Beobachtungen bei Dunkelfeldbeleuchtung. Zeitschrift für wissenschaftl. Mikr. u. mikr. Technik, Bd. XXV, S. 273 ff.
15. A. Köhler, Eine neue Kernlampe für Mikropjektion und Mikrophotographie. Zeitschrift für wissenschaftl. Mikr. und mikr. Technik, Bd. XXVII, S. 4.
16. H. Siedentopf, Über ultramikroskopische Abbildung. Zeitschr. für wissenschaftl. Mikr. u. mikr. Technik, Bd. XXVI, S. 3.
17. W. von Ignatowski, Ein neuer Spiegelkondensor. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikr. u. mikroskop. Technik, Bd. XXV, S. 1.
18. W. v. Ignatowski, Einige Neuerungen am Leitzschen Spiegelkondensor. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikr. u. mikr. Technik, Bd. XXVI, S. 3.
19. Felix Jenhsh, Über Dunkelfeldbeleuchtung. Physik. Zeitschr., 11. Jahrg., S. 21/22.
20. Felix Jenhsh, Der Ultrakondensor. Physik. Zeitschrift, 11. Jahrg., S. 21/22.
21. W. Gebhardt, Über rationelle Verwendung der Dunkelfeldbeleuchtung. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikr. u. mikr. Technik, Bd. XV, S. 3.
22. C. Tröster, Über Dunkelfeldbeleuchtung. Centralblatt für Bakt., Abt. 2, Bd. XIV, 1905.
23. C. Meß, Der aplanatische und achromatische Kondensor. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikr. und mikr. Technik, Bd. XXIX, S. 4.
24. H. Siedentopf, Lichtreaktionen im Kardiodultramikroskop. Zeitschr. f. Chemie und Znd. der Kolloide, Jahrg. 6, S. 3—6.
25. Paul Gastou, L'Ultra-Microscope dans la diagnostique, clinique etc. J.-B. Baillièere et Fils, Paris 1912.
26. Carl Reichert, Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. Centralblatt für Bakt., Abt. 1, Bd. 51, Heft 1.
27. Hans Molisch, Über die Brownsche Molekularbewegung in Gasen, sichtbar gemacht durch ein gewöhnliches Mikroskop. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikr. u. mikr. Technik, Bd. XXIV, Heft 2.
28. R. Wasich, Das Fluoreszenzmikroskop in der Pharmakognosie. Vortrag, gehalten in der Abteilung VIII der 85. Versammlung Deutscher Naturforscher u. Ärzte in Wien. Pharm. Post, Jahrg. 1913, S. 82.

Sachverzeichnis.

	Seite		Seite
Abbe'scher Kondensor	61	Numerische Apertur	9
Abbildung, mikroskopische	14	Objektträger	43
ultramikroskopische	17	Objektive	35
Amikronen	20	Paraboloid	52
Aplanatischer Kondensor	63	Paraboloid-Kondensor	50
Azimuthfehler	18	Polarisation	18
Brechung des Lichtes	9	Plattenkondensor von Leitz	48
Brown'sche Bewegung	25	" von Reichert	46
Cotton und Mouton, Ultramikroskop nach	31	Quarzammer	64
Deckgläser	44	Quarkondensoren	68
Dioptrische Kondensoren	61	Reinigung der Quarkammern	65
Dunkelfeldbeleuchtung	1	Rohrblende für Immersionsobjektive	35
Durchflußkammer von Reichert	68	Spaltkopf	21
" zum Spaltultramikroskop	26	Spaltultramikroskop	21
Elektrischer Transport der Moleküle	31	Sphärische Aberration	37
Farbe der Beugungscheibchen	18	Spezialkondensor nach Siedentopf	29
Fluoreszenzmikroskop	70	Spiegelimmersion	58
Gasammer	66	Spiegellinse	37
Gitterbeugung	15	Totalreflexion	9
Goldrubingläser	22	Tyndall'scher Lichtkegel	21
Größe der Ultramikronen	24	Ultrakondensor	61
Hydrosole	25	Ultramikron	16
Immersionsobjektive	35, 64	Ultramikroskop nach Cotton und Mouton	31
Immersionultramikroskop	28	" " Siedentopf	29
Intensität des abgelenkten Lichtes	17	" " Starpa	32
Kardioidkondensor	56	" " Zigmondy	28
Kardioidultramikroskop	64	Universal-kondensoren von Leitz	60
Regelwellen	19	" " Reichert	48
Kolloide	21	Wood-Lehmann'sches Filter	69
Konzentrischer Kondensor	56	Zählung der Ultramikronen	24
Lichtquellen	40	Zentralblende	12
Lupe	14	Zentrierung der Lichtquelle	43
Mikrometerokular	24	Zweiflächenkondensoren	55
		Zylinderwellen	18

Handbuch der mikroskopischen Technik

Herausgegeben von der Redaktion des

Mikrokosmos

Bisher sind folgende Bände erschienen:

- Teil 2: **Das Mikrotom und die Mikrotomtechnik.** Eine Einführung in die Praxis der Mikrotomie. Von **Dr. Georg Stehli.** 4½ Bogen mit 63 Abbildungen. Geheftet M 2.—, gebunden M 2.80.
- Teil 5: **Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung.** Von **D. Heimstädt.** 5 Bogen mit 71 Abbildungen. Geheftet M 2.—, gebunden M 2.80.
- Teil 6: **Apparate u. Arbeitsmethoden der Bakteriologie.**
Band 1. Allgemeine Vorschriften, Einrichtung der Arbeitsräume, Kulturverfahren, Färbeverfahren, Bestimmungstabellen. Von **Dr. Adolf Reiz.** 6 Bogen mit 77 Abb. Geheftet M 2.25, gebunden M 3.—.
Band 2. Methoden des Tierversuchs und der Serologie. Von **Dr. C. Veintker.** 3¼ Bogen mit 65 Abbildungen. Geheftet M 1.50, gebunden M 2.25.
- Teil 9: **Arbeitsmethoden der Mikrochemie mit besonderer Berücksichtigung d. quantitativen Gewichtsanalyse.** Von **Dr. Julius Donau.** 4½ Bogen mit 35 Abbildungen. Geheftet M 2.—, gebunden M 2.80.
- Teil 10: **Apparate u. Arbeitsmethoden zur mikroskopischen Untersuchung kristallisierter Körper.** Von **C. Leiz** und **Dr. H. Schneiderhöhn.** 6 Bogen mit 115 Abbildungen. Geheftet M 2.25, gebunden M 3.—.

In Vorbereitung befinden sich:

- Teil 1: **Das Mikroskop u. seine Nebenapparate.** Bau und Handhabung. Von **Hanns Günther.** Etwa 5 Bogen mit zahlreichen Abbildungen. Geheftet etwa M 2.—, gebunden M 2.80.
- Teil 4: **Apparate und Arbeitsmethoden der Mikrophotographie.** Von **Prof. Dr. C. Kaiserling.** Etwa 5 Bogen. Geheftet etwa M 2.—, gebunden M 2.80.

Ferner erscheinen Bände über:

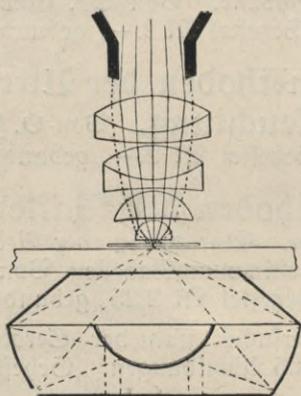
Mikroprojektion. — Mikrospektroskopie. — Metallmikroskopie. Botanische Mikrotechnik. — Arbeitsmethoden der Hydrobiologie und Planktonkunde. — Kultur der Mikroorganismen.

Stuttgart.

Franckh'sche Verlagshandlung.

E. Leitz, Wetzlar

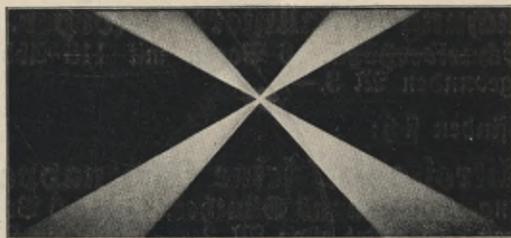
Optische Werke



Konzentrischer Spiegelkondensator
nach Dr. Jentsch
Größte Helligkeit und einfachste Handhabung



Aplanatischer Kondensator
nach Meitz
Für Untersuchungen im Hell- und
Dunkelfeld geeignet



Mikrophotogramm des Strahlenganges im Spiegelkondensator
nach Jentsch

Mikroskope, Mikrotome, mikrophoto-
graphische und Projektionsapparate

ZEISS

Hell-Dunkelfeld- Kondensor

nach Siedentopf

Preis 60 Mk.

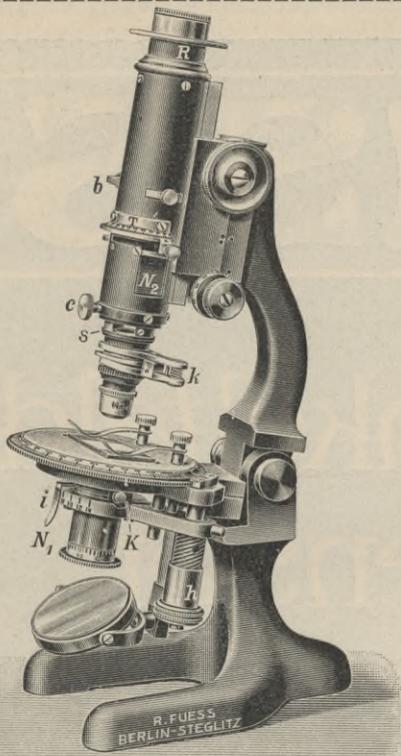
Diese neue lichtstarke Einrichtung für Dunkelfeldbeleuchtung zur Beobachtung lebender Mikroorganismen u.s.w. gleicht äußerlich dem bekannten Paraboloid-Kondensor

Ein einziger Handgriff, die Drehung am Hebelarm der Irisblende, genügt um vorübergehend auf **Hellfeldbeleuchtung** umzuschalten, ohne daß Blendwirkungen entstehen

BERLIN
HAMBURG · WIEN

CARL ZEISS
JENA

MAILAND
BUENOS AIRES



R. FUESS

mech.-optische Werkstätten

ooo Abt. I ooo

BERLIN-STEGLITZ

Düntherstraße 8.

ooooo□ooooo

Mikroskope

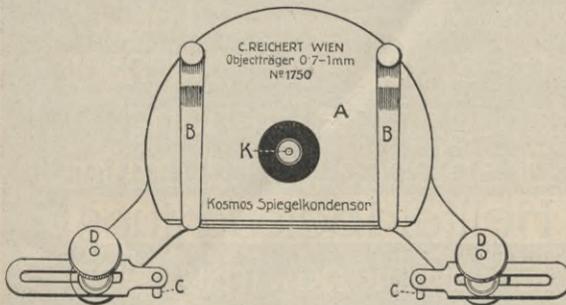
und sonstige Apparate

für die Untersuchung

krystallisierter Körper.

Jedem Mikroskopiker besonders zu empfehlen:

Kosmos-Spiegelkondensator



für ultramikroskopische
und Dunkelfelduntersuchungen
besonders geeignet.

ooooo

Preis M 45.-,

für Mikrokosmos-Teilnehmer
nur M 36.-

Geschäftsstelle des „Mikrokosmos“

Stuttgart, Pfizerstraße 5

5. 61


 III 15940
 L. inw.

Druk. U. J. Zam. 356. 10.000.

Die Bibliothek des

sei er nun Forscher, Lehrer, Studierender
 erster Linie eine gute Fachzeitschrift
 Fortschritte der mikroskopischen Forschung wie der mikroskopischen
 Technik auf dem Laufenden hält.

Die beste und billigste, allgemeinverständlich geschriebene
 deutsche Monatschrift für Mikroskopie ist unser

„Mikrosmos“

Zeitschrift für angewandte Mikroskopie, Mikrobiologie,
 Mikrochemie und mikroskopische Technik

(Vereinigt mit der „Zeitschrift für angewandte Mikroskopie und klinische Chemie“)
 an dem die bekanntesten Fachgelehrten mitarbeiten, und der infolge
 seiner Reichhaltigkeit weiteste Verbreitung hat.

Zu den ständigen Mitarbeitern des „Mikrosmos“ gehören:

Prof. Dr. F. Lindner, Berlin (für Gärungsbiologie) – Prof. Dr. W. Migula,
 Eisenach (für Algenkunde) – Prof. F. Emich, Graz und Dr. J. Donau, Graz
 (für Mikrochemie) – Dr. Max Wolff, Bromberg (für Pflanzenpathologie) –
 Dr. Adolf Reiss, Stuttgart (für Bakteriologie) – Prof. Dr. D. Zacharias,
 Plön i. S. (für Planktonkunde) – Dr. G. Steiner, Zürich (für Protozoologie)
 – Hanns Günther, Zürich (für Instrumentenkunde) – Prof. Dr. A. Herzog,
 Sorau N. L. (für technische Mikroskopie) – Dr. G. Stehli, Stuttgart (für tierische
 Histologie) – Prof. Dr. F. Sigmund, Teschen (für mikroskop. Anatomie) – Kreisarzt
 Dr. E. Beintker, Düsseldorf (für mediz. Bakteriologie) – Privatdoz. Dr. W. Ryz,
 Bern (für Mykologie) – Dr. R. Sachs, München (für mikroskopische Technik)

Der Jahrgang läuft vom 1. April jedes Jahres bis zum 31. März des nächsten

Jährlich 12 Hefte und mindestens zwei Buchbeilagen

== Bezugspreis jährlich nur M 5.60 ==

Drobehefte kostenlos

Geschäftsstelle

Biblioteka Politechniki Krakowskiej

Stuttgart



100000298786