

beleuchtungsseitig eine dazu passende Ringblende angeordnet. Ein gegen das Okular auswechselbares Hilfsmikroskop erleichtert die genaue Zentrierung des Ringblendenbildes zum Phasenring.

Da bei der Phasenkontrastbeobachtung u. U. Strukturen auftreten, die im Objekt nicht vorhanden sind (z. B. helle Höfe um das Phasenobjekt und Aufhellungen im Inneren desselben bzw. Aufhellungen von Amplitudenobjekten) sollte sich jeder Benutzer eines Phasenkontrastmikroskopes in großen Zügen über die Wirkungsweise desselben im klaren sein, um sich so vor Trugschlüssen zu bewahren.

II. Das Anoptralkontrastverfahren

VON F. GABLER, WIEN

Bekanntlich hängt die Empfindlichkeit des Phasenkontrastverfahrens vom Absorptionsvermögen des Phasenringes, oder, genauer gesagt, davon ab, wie sehr die Intensität des ungebeugten Lichtes gegenüber der des gebeugten geschwächt wird. Bei den meisten handelsüblichen Objekten für positiven Phasenkontrast beträgt dieses Absorptionsvermögen zwischen 50 und 75 %. Steigert man es weiter, so geschieht zweierlei:

Erstens wirkt der Absorptionsbelag im Objektiv, der meist als dünne Metallschicht ausgeführt ist, mehr und mehr als Spiegel und verursacht störendes parasitäres Licht, das das Bild verschleiert;

zweitens wächst die Schwierigkeit einer eindeutigen Bildinterpretation infolge der an zahlreichen Objektdetails entstehenden „Inversionen“. Diese Inversionen sind aus der Theorie und Praxis des Phasenkontrastverfahrens wohl bekannt. Die Regel: „Im positiven Phasenkontrast erscheinen optisch dichtere Details dunkler und optisch dünnere Details heller als die Umgebung, während es im negativen Phasenkontrast gerade umgekehrt ist“, gilt ja nur für relativ schwach lichtbrechende Objektdetails. Untersucht man hingegen Objekte, die auch Einzelheiten mit stärkerer Lichtbrechung aufweisen, so wird man an diesen erkennen, daß sie auf alle Fälle heller als die Umgebung erscheinen, gleichgültig, ob sie optisch dichter oder dünner sind, und gleichgültig auch, ob mit positivem oder negativem Phasenkontrast gearbeitet wird. Ohne hier auf die theoretischen Grundlagen der Inversionserscheinungen näher einzugehen, sei bloß festgehalten, daß letztere um so merklicher sind, je höher die Absorption des Phasenringes ist. Ein und dasselbe Objektdetail, das bei schwacher Phasenringabsorption noch „richtig“, also z. B. im positiven Kontrast dunkel erscheint, kann bei starker Absorption schon Inversion zeigen. Mit anderen Worten: Der Unterschied in der Lichtbrechung des Details gegenüber seiner Umgebung darf, ohne daß Inversion eintritt, um so größer sein, je schwächer die Absorption des Phasenringes ist.

Mit hoch absorbierenden Phasenringen erhöht man demnach zwar die Empfindlichkeit des Phasenkontrastverfahrens, also auch die Unterscheidbarkeit von Objekteinzelheiten mit kleinsten Brechwertunterschieden, man erkaufte dies aber mit der Gefahr einer Inversion, die leicht zu Fehldeutungen führt.

Was läßt sich tun, um trotzdem hohe Absorption anwenden zu können? Man braucht nur einerseits dafür zu sorgen, daß das Reflexionsvermögen des Phasenringes, z. B. durch Entspiegeln des metallischen Absorptionsbelages, so weit als nur irgend möglich reduziert wird, und andererseits Objektive zu verwenden, die für negativen Phasenkontrast eingerichtet sind.

Die Wirkung der ersten Maßnahme, die die Unterdrückung des parasitären Lichtes bezweckt, ist unmittelbar einleuchtend. Der zweiten Maßnahme kommt vor allem bei biologischen Präparaten, also gerade bei Objekten, für die das Phasenkontrastverfahren die Methode der Wahl ist, größte Bedeutung zu. Die wesentlichen Einzelheiten dieser Präparate zeigen nämlich fast immer eine größere Brechkraft als ihre Umgebung, können daher nur bei positivem Phasenkontrast, wo sie dunkel erscheinen sollten, Inversionen zeigen, nicht aber bei negativem Kontrast, wo sie ohnedies schon heller als die Umgebung sind.



Abb. 18. Großes Forschungsmikroskop REICHERT „Zetopan“
mit Anoptraleinrichtung



Abb. 19. REICHERT-Universalkondensor „Polyphos“
für Hellfeld, Dunkelfeld und Phasen- oder Anoptralkontrast,
der mittels Schieber auf das „Zetopan“, Abb. 18, aufgesetzt werden kann

Objektive, die nach diesen Gesichtspunkten konstruiert sind, wurden in Zusammenarbeit mit A. WILSKA von C. Reichert Optische Werke A. G. in Wien mit der Markenbezeichnung „*Anoptralobjektive*“ herausgebracht. Sie werden wie normale Phasenobjektive verwendet. Die komplette Anoptraleinrichtung zeigt Abb. 18. Man erkennt die auf einem Revolver sitzenden Anoptralobjektive, während unter dem Kreutztisch der Anoptralkondensor, der in einer Drehscheibe die zu den einzelnen Objektiven passenden ringförmigen Blendenöffnungen enthält, zu sehen ist. Ähnlich wie bei einer Phasenkontrasteinrichtung ist auch hier für Justierzwecke ein Hilfsteleskop (links neben dem Mikroskop) vorgesehen. Die Anoptralkontrasteinrichtung kann, statt mit dem Drehscheibenkondensor, auch mit dem in Abb. 19 abgebildeten Universalkondensor „*Polyphos*“ ausgestattet werden. Dieser enthält neben einer festen ringförmigen Blendenöffnung ein Kegelspiegelsystem, das mit Hilfe des in Abb. 19 sichtbaren großen Rändelringes verstellbar ist. Durch Betätigen eines Rändels läßt sich die Blendenöffnung in stetig veränderlicher Größe in der Objektivbrennfläche abbilden. Auf diese Weise kann man nicht nur die Blendengröße den verschiedenen Objektiven anpassen, sondern auch rasch und kontinuierlich von zentraler Hellfeldbeleuchtung über Anoptralkontrast, periphere Hellfeldbeleuchtung zu Dunkelfeldbeleuchtung übergehen.