

Farbkontraste in mikroskopischen Präparaten mit Hilfe von Verlaufinterferenzfiltern

Phasenobjekte stellen sich bekanntlich normalerweise bei der mikroskopischen Beobachtung kontrastlos dar. In früheren Jahren bestand nur eine Möglichkeit, diese Objekte kontrastreich zu beobachten. Man bediente sich der chemischen Färbung. Seit der Erfindung des Phasenkontrastverfahrens kann man Phasenobjekte ungefärbt kontrastreich im Schwarzweißbild beobachten. Das war ein großer Fortschritt in der Geschichte der mikroskopischen Technik. Dem Phasenkontrastverfahren haften aber noch einige Mängel an: Um die Konturen der Objekte entstehen Lichtsäume, sog. Halos. Das Verfahren ist über die Schwarz-Weiß-Kontrastierung trotz vielfacher Versuche nicht entscheidend hinausgekommen. Viele behaupten, die Farbdarstellung sei reiner Luxus und bringe keine neuen Erkenntnismöglichkeiten, sie bringe dem Mikroskopiker einzig und allein die Freude an der Farbe. Es genüge völlig, Phasenobjekte im Schwarzweißbild kontrastreich zu sehen. An diesen Behauptungen ist viel Wahres. Aber auch die Freude an der Farbe ist ein Grund, sich damit zu beschäftigen, Farbkontraste in Phasenobjekten zu erzeugen.

Dies geschah in der Entwicklung der Interferenzkontrastmikroskopie. Hier besteht die Möglichkeit, Phasenobjekte im Schwarz-Weiß-Kontrast darzustellen, wobei keine Halos Fehlerquellen in der Deutung der Objektstruktur entstehen lassen. Ebenso wie in der Phasenkontrastmikroskopie lassen sich positive (Objekt dunkel auf hellem Grund) und negative (Objekt hell auf dunklem Grund) Schwarz-Weiß-Kontraste erzeugen. Von entscheidendem Vorteil ist bei der Interferenz-Kontrastmikroskopie außerdem noch, daß eine Reliefdarstellung möglich ist, so daß man die Objekte annähernd räumlich sieht, daß man Höhen- und Tiefenunterschiede im Objekt wahrnehmen kann.

Darüber hinaus besteht aber bei der Interferenzkontrastmikroskopie die Möglichkeit,

die Objekte optisch zu färben, so daß man sie in den verschiedenen Farben des Spektrums (Interferenzfarben) sehen kann. Diese Farben lassen sich außerdem variieren. Durch all diese Möglichkeiten hat die Interferenzkontrastmikroskopie das Phasenkontrastverfahren in den Hintergrund treten lassen.

Die technischen Einrichtungen zur Interferenzkontrastmikroskopie sind aber verhältnismäßig teuer. Der Liebhaber-Mikroskopiker wird deshalb nach Verfahren suchen, mit einfachen Mitteln ähnliche Farbeffekte zu erzeugen, wie sie im Interferenzkontrastmikroskop möglich sind.

Ich möchte deshalb eine einfache, nicht zu kostspielige Methode beschreiben, mit der es möglich ist, optische Färbungen in Phasenobjekten herbeizuführen, die den optischen Färbungen im farbigen Interferenzkontrastverfahren sehr ähnlich sind. Das Prinzip besteht darin, die Farben eines Interferenzverlauffilters durch einen Kondensor so in der Präparatebene zu vereinigen, daß ein weißes Sehfeld entsteht. Dickenunterschiede, Höhenunterschiede und Konturen der Phasenobjekte erscheinen in allen Farben des Spektrums, ganz ähnlich wie im farbigen Interferenzkontrastverfahren. Blendet man einzelne Partien des Interferenzverlauffilters aus, so entstehen andere Farben und außerdem ein farbiges Sehfeld, je nachdem, welche Partien des Interferenzverlauffilters ausgeblendet werden. Dieser Effekt ähnelt sehr dem, wenn man Farbbänderungen im Interferenzkontrastverfahren durch Drehen des Polarisators erzielt.

Technisch ist folgendes notwendig, um dieses Verfahren zu realisieren:

1. Im Durchlicht

Man bestellt sich bei der Firma Schott in Mainz ein kleines Interferenzverlauffilter von der Größe 6×1 cm. Dieses kostet etwa 100,— DM.

Der üblicherweise gebrauchte Kondensor des Mikroskops wird entfernt. Als Kondensor beschafft man sich eine Sammellinse von etwa 5–6 cm Brennweite, die man unterhalb des Mikroskoptisches montiert. Auf dieser Sammellinse zwischen ihr und der Präparatenebene wird das Interferenzverlauffilter befestigt. Die Sammellinse muß so angebracht werden, daß sie die Strahlen der Mikroskopier-Leuchte in der Präparatenebene vereinigt, gleichzeitig aber auch die Farben des Interferenzverlauffilters zu Weiß werden läßt. Oberhalb des Interferenzverlauffilters kann man eine etwa 0,5 cm breite, hin- und herschiebbare Blende montieren, so daß Teile des Interferenzverlauffilters ausgeblendet werden können.

Das Verfahren läßt sich im Durchlicht nur mit Objektiven bis zu einer numerischen Apertur von 0,30 durchführen. Höher vergrößernde Objektive liefern kein kontrastfarbiges Bild im Sehfeld. Außerdem wird das Sehfeld durch den einfachen, hier verwendeten Sammellinsenkondensor bei höher vergrößernden Objektiven zu dunkel. Der Farbkontrast wird außerdem geringer, wenn die Vergrößerung höher wird.

Als Beobachtungsobjekte eignen sich besonders Einzeller im Wassertropfen, Diamantritzer auf Objektträgern, Schlieren in zähflüssigen Flüssigkeiten und Kristalle jeglicher Art. Wichtig ist, daß die Präparate ohne Deckglas beobachtet werden. Deckgläser verschlechtern die Farbgebung. Bis zur numerischen Apertur der Objektive von 0,30 spielt bekanntlich das Deckglas optisch keine entscheidende Rolle, so daß man die Präparate mit und ohne Deckglas im Durchlicht beobachten kann.

2. Im Auflicht

Die Schwierigkeit besteht im Auflichtfeld darin, daß das Objektiv zugleich Kondensor ist. Ferner besteht eine weitere Schwierigkeit auch darin, daß das Interferenzfilter zu groß ist. Versuche haben ergeben, daß die Kombination des Verlauffilterinterferenzfilters mit Polarisator und Kompensator $\lambda/4$ im Beleuchtungsstrahlengang eine sehr gute Farbkontrastierung herbeiführt. Es wurde folgender, gut durchführbarer Weg gefunden:

Zwischen Leuchte und Opakilluminator kommt ein drehbarer Polarisator. Zwischen ihm und der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators bringt man einen Kompensator $\lambda/4$ an. Unmittelbar vor die Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators wird das Farbfilter angebracht. Ein Analysator wird wie beim Polarisationsmikroskop im Beobachtungsstrahlengang montiert.

Da die Firma Schott keine Interferenzverlauffilter von einer Breite herstellt, die der

Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators entspricht, muß ein Diapositiv des Interferenzverlauffilters angefertigt werden, das gerade so breit ist, wie der Durchmesser der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators. Dieses Dia wird dann unmittelbar vor der Lichteintrittsöffnung des Opakilluminators befestigt.

Die feinen Konturen eines Auflichtphasenobjektes, wie z. B. einer Metallplatte, erscheinen dann in den Farben des Spektrums, die bei Drehen des Polarisators geändert werden können.

Das Verfahren ist im Gegensatz zum Durchlichtverfahren mit Objektiven aller Vergrößerungen bis hinauf zu den Ölimersionen durchführbar. Bei höheren Vergrößerungen erscheinen die Konturen farbintensiver als bei niedrigen Vergrößerungen.

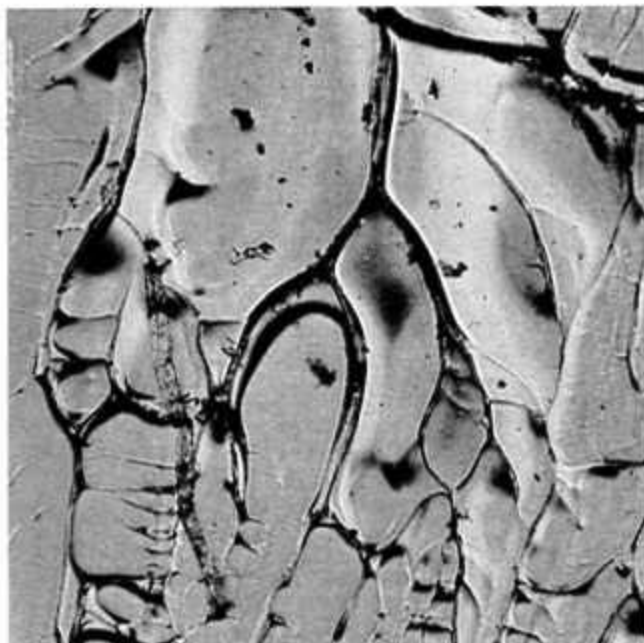


Bild: Uhu-Abdruck von Textilgewebe im Durchlicht. Die Farbkontraste kann das Schwarzweißbild leider nicht wiedergeben.

gen. Die Präparate dürfen nicht mit einem Deckglas bedeckt sein. Im Auflicht ist das ohnehin eine Selbstverständlichkeit.

Literaturhinweise:

1. Maddox, A. R. und R. C. Binder, *Appl. Opt.* 10, 474 (1971).
2. Meyer-Arendt, J. R., *Introduction to Classical and Modern optics* (Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J., 1974), p. 325.
3. Meyer-Arendt, J. R. und H. Appelt, *Microscopic Color Schlieren System using wedge-type interference filter*, *Appl. Opt.* 15, 2017, (1976).
4. Schardin, H. and G. Stamm, *Glastechn. Ber.* 20, 249, 474 (1942); G. S. Settles, *Tenn. Engr.* (Dez. 1970), pp. 4–9.

Verfasser: Dr. Heinz Appelt, St. Elisabethen-Krankenhaus, 7580 Ravensburg; Prof. Dr. Jürgen R. Meyer-Arendt, Pacific University, Physics Department, Forest Grove, Oregon 97116, USA.