

Ein neues Beleuchtungsverfahren für mikro-
photographische Zwecke.

Von

Dr. August Köhler

in Giessen.

Hierzu ein Holzschnitt.

Die Vorrichtungen, welche man verwendet, um bei Projectionsapparaten irgend welcher Art die zu projecirenden Objecte mit durchfallendem Licht zu beleuchten, das von einer begrenzten künstlichen Lichtquelle geliefert wird, lassen sich in zwei Gruppen eintheilen: die einen sind so construirt, dass die bei dem Abbildungsvorgang entstehenden Bilder der Lichtquelle in die Objectebene und die ihr zugeordneten Ebenen fallen, bei den anderen treten sie in von der Objectebene entfernten Querschnitten der Achse auf und bilden die Austrittspupille des Projectionssystems.

Man will bei solchen Apparaten hauptsächlich drei Bedingungen erfüllen, von denen je nach dem besonderen Zweck allerdings die eine oder die andere gegen die übrigen in den Hintergrund treten kann. Die Beleuchtungsvorrichtung muss nämlich erstens gestatten, die numerische Apertur und die Einfallsrichtung der beleuchtenden Strahlenkegel innerhalb möglichst weiter Grenzen zu variiren, zweitens soll nur der abzubildende Theil des Objects beleuchtet sein, damit störende Reflexe an den Linsenfassungen etc. thunlichst vermieden werden, und drittens muss, besonders für photographische Zwecke, die Beleuchtung dieses Theils der Objectebene eine ganz gleichmässige sein, da für das Auge kaum merkliche Helligkeitsunterschiede im photographischen Bild äusserst störend hervortreten können.

Für mikrophotographische Zwecke sind zur Zeit vorwiegend Beleuchtungsmethoden im Gebrauch, die darauf hinzielen, ein Bild der Lichtquelle in der Objectebene zu entwerfen. Dieselben haben bei Verwendung von Lichtquellen, die keine homogene lichtstrahlende Fläche bieten, den Nachtheil, dass die völlig gleichmässige Beleuchtung eines auch für schwächere Vergrösserungen ausreichend grossen Gesichtsfelds eine ziemlich schwierige Sache ist.

Man sucht in diesem Fall die erforderliche Gleichmässigkeit zu erreichen, indem man die Lichtquelle indirect, d. h. mit matter Scheibe verwendet, oder dadurch, dass man mittels geeigneter Blenden nur einen kleinen, ganz gleichmässig leuchtenden Theil derselben zur Wirksamkeit kommen lässt. Das erstgenannte Mittel ist natürlich mit Lichtverlusten verknüpft und nur dann anzuwenden, wenn die Lichtquelle eine ausreichende Intensität besitzt, und auf die zweite Art ist bei manchen sonst recht geeigneten Lichtquellen (Zirkonlicht und AUER'sches Gaslicht) eine gleichmässige Erhellung schwer oder gar nicht zu erzielen, wenn man nicht auf die ganz scharfe Einstellung verzichtet.

In diesem Fall ist aber schon ein Uebergang zu den Vorrichtungen der zweiten Art gegeben, die überhaupt für die gleichmässige Beleuchtung eines ausgedehnteren Sehfeldes günstigere Bedingungen darbieten. Sie finden deshalb hauptsächlich dann Anwendung, wenn auf die Erfüllung dieser Anforderung besonderer Werth gelegt werden muss. Dies ist der Fall bei der Projection makroskopischer Objecte mit durchfallendem Licht (Scioptikon, Vergrösserungsapparate für Photographien) und bei der Projection mikroskopischer Objecte mit ganz schwachen Systemen (Projectionssystem von 70 und 35 mm von ZEISS), ebenso gebraucht auch SELENKA den Beleuchtungsapparat seines Projectionsmikroskops für schwächere Vergrösserungen.

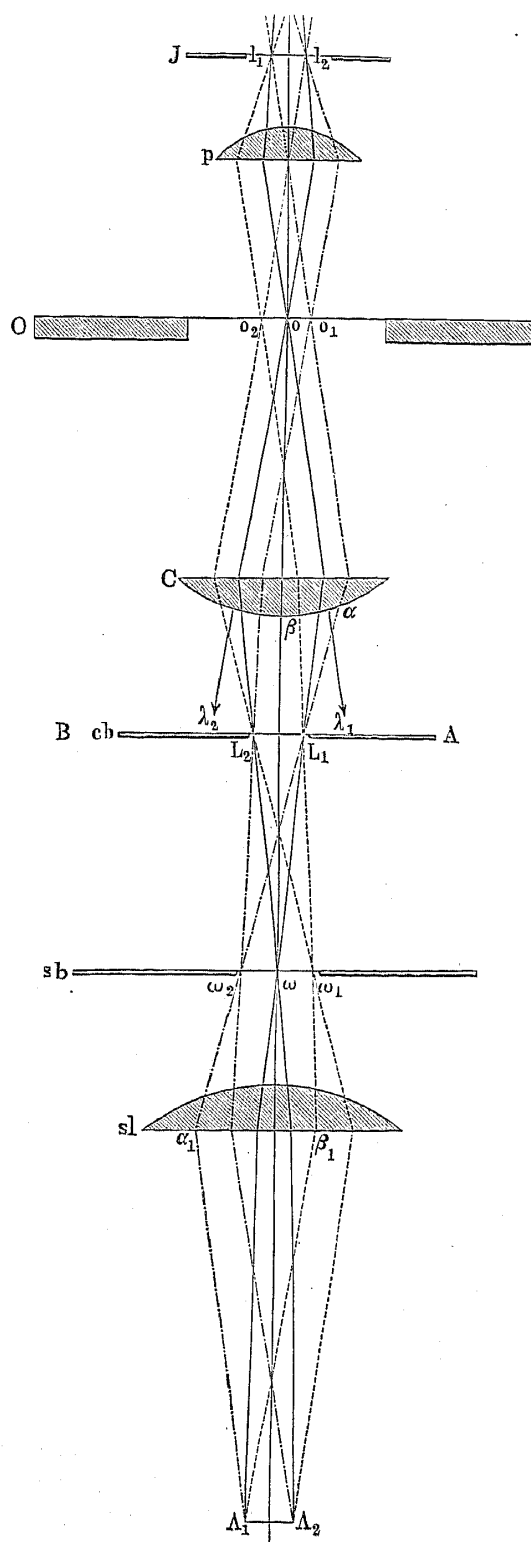
Die charakteristische Lage des Bildes der Lichtquelle in oder nahe der Austrittspupille ist in vielen Fällen schon dann erreicht, wenn man die Lichtquelle in angemessener Entfernung hinter der Objectebene aufstellt. Diese Art der Beleuchtung ist jedoch für das Mikroskop kaum verwendbar, weil bei der Mehrzahl der künstlichen Lichtquellen die abbildenden Strahlenkegel dann zu eng sind, was einerseits eine zu geringe Helligkeit, und anderseits — in Folge von Beugungserscheinungen — Undeutlichkeit des Bildes verursacht. Diesen Uebelständen sucht man durch Anwendung von einfachen Sammellinsen oder besonderen Condensorsystemen zu begegnen.

Das Object befindet sich dann zwischen Condensor und Projectionssystem, und die Stellung dieser Linsen und der Lichtquelle zueinander

ist, wie schon oben angedeutet, so zu wählen, dass ein Bild der Lichtquelle wenigstens annähernd in der Ebene entsteht, welche bei dem normalen, vom Verfertiger vorgesehenen Gebrauch die gemeinsame Basis aller von dem System aus nach den einzelnen Bildpunkten hinverlaufenden Strahlenkegel ist, d. h. eben in der Austrittspupille des Projectionssystems.

Bei den Mikroskopobjectiven, die wir hier besonders berücksichtigen müssen, kann die wirkliche Austrittspupille je nach der Lage der Iris an verschiedenen Stellen der Achse liegen; bei dem normalen Gebrauch des Mikroskops bei Tageslicht wird sie aber bei den mittleren und stärkeren Objectiven meist durch ein Bild der lichtstrahlenden Fläche (des Spiegels oder der Blende des Beleuchtungsapparats) vertreten, das in der Regel nahe der hinteren Brennebene des Objectivs auftritt. Man wird also auch bei den genannten Objectiven das Bild der künstlichen Lichtquelle in die Nähe der hinteren Brennebene verlegen dürfen. Dies tritt aber, wie leicht einzusehen, dann ein, wenn sich die Lichtquelle nahezu in der hinteren Brennebene des Condensors befindet. Die umstehende Figur kann zur Veranschaulichung des Strahlengangs in diesem Fall dienen, wenn man vorläufig von allem absieht, was sich unter der Linie AB befindet. $L_1 L_2$ ist die Lichtquelle. Sie befindet sich in der unteren Brennebene des Condensor-systems C . O ist die Objectebene, drei Punkte derselben sind mit $o_1 o o_2$ bezeichnet. Die Lage des Objects ist hier so gewählt, dass es sich ausserhalb der Brennweite des Condensors befindet. p ist das zur Projection dienende Objectiv, es ist der Einfachheit halber angenommen, dass sich seine hier gleichzeitig als Austrittspupille fungierende Iris J in seiner hinteren Brennebene befinde. In dieser Ebene entsteht dann, wie aus der Verfolgung des Strahlengangs ersichtlich, bei $l_1 l_2$ ein verkehrtes reelles Bild der Lichtquelle $L_1 L_2$. (Für unsere Zwecke können wir den Einfluss, den die Objectstructur in Folge von Beugung, Brechung und Absorption auf das Bild der Lichtquelle ausübt, ausser Acht lassen.) Von diesem Bilde gehen die Strahlen weiter zu dem durch das Projectionssystem entworfenen Bild der Objectstructur, das aus Raummangel nicht mehr in die Figur aufgenommen worden ist.

Der Oeffnungswinkel des Strahlenkegels, der die Objectebene in der optischen Achse trifft, ist gleich dem Schwinkel, unter dem das vom Condensorsystem entworfene virtuelle, vergrösserte Bild der Lichtquelle $\lambda_1 \lambda_2$ von der Objectebene aus erscheint, derselbe kann regulirt werden durch Blenden, die man dicht vor der Lichtquelle anbringt. Voraussetzung ist jedoch, dass die Oeffnung des Condensors so gross



ist, dass kein Theil des virtuellen Bildes $\lambda_1 \lambda_2$ durch sie abgebildet wird.

Wie unsere Figur lehrt, muss die Beleuchtung des ganzen Sehfelds eine gleichmässige sein, wenn auch die Helligkeit der einzelnen leuchtenden „Punkte“, aus denen sich die Lichtquelle zusammensetzt, eine verschiedene sein sollte; denn jedes Flächenstück der Objectebene wird von einem Strahlenkegel erleuchtet, zu dem jeder einzelne Punkt der Lichtquelle Strahlen liefert, allerdings müssen die von einem solchen Punkt ausgehenden untereinander divergirenden Strahlen innerhalb eines gewissen Winkelraums (in der Figur z. B. innerhalb des Winkels $\alpha L_1 \beta$) gleiche Leuchtkraft besitzen.

Hat diese Methode auch unter den angeführten Voraussetzungen den Vortheil, die gleichmässige Beleuchtung des Sehfelds zu gewährleisten, so stehen ihrer Anwendung doch in anderer Hinsicht Hindernisse im Wege. Einen Uebelstand hat schon R. ZEISS in seiner Anleitung zum Gebrauch des mikrophotographischen Apparats hervorgehoben: die Lichtquelle kommt zu

nahe an das Object, sodass dies durch besondere Vorrichtungen gegen eine allzu intensive Erwärmung geschützt werden muss. Ferner lässt sich eine Abstufung des Oeffnungswinkels des beleuchtenden Strahlenkegels nicht bequem ausführen, und endlich ist auch eine scharfe Begrenzung der erleuchteten Fläche innerhalb der Objectebene nicht möglich; man muss sich vielmehr mit Blenden in der Ebene des Objecttisches behelfen, die bei stärkeren Vergrösserungen der Dicke der Objectträger wegen nicht nahe genug an das Object herangebracht werden können.

Ich habe nun versucht, diese drei dem Verfahren anhaftenden Mängel zu beseitigen, ohne den Vorthail aufzugeben, den die Aufstellung der Lichtquelle in einer der Austrittspupille zugeordneten Ebene mit sich bringt.

Eine zu starke Erwärmung des Objects lässt sich leicht dadurch vermeiden, dass man nicht die Lichtquelle selbst in die hintere Brennebene des Condensors bringt, sondern dort mit einer passenden Sammellinse von nicht zu kleiner Brennweite ein je nach Bedarf vergrössertes oder verkleinertes reelles Bild von ihr erzeugt, dessen einzelne Punkte innerhalb eines durch die Grösse und den Abstand der Sammellinse gegebenen Winkelraums sich gerade so verhalten wie die entsprechenden Punkte der ursprünglichen Lichtquelle. Von diesem Bilde lassen sich leicht durch in seiner Ebene angebrachte Blenden beliebig grosse Theile abblenden und damit der Oeffnungswinkel des beleuchtenden Strahlenkegels variiren; somit ist auch der in zweiter Linie genannte Uebelstand beseitigt.

Auch dem dritten Mangel ist leicht abzuhelpen, wenn nur der Condensor so eingestellt wird, dass die Objectebene nicht innerhalb der Brennweite liegt; man stellt dann in der der Objectebene in Bezug auf das Condensorsystem zugeordneten Ebene eine passende Blende, die ich Sehfeldblende nennen will, auf. Das Condensorsystem entwirft dann von dieser Blende ein reelles Bild in der Objectebene, dessen Grösse und Form von der Grösse und Form der Sehfeldblende abhängt.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse, wenn die Einstellung des Condensors und der Sammellinse so gewählt wird, dass die Sehfeldblende ihren Platz zwischen beiden finden kann. Der Strahlengang lässt sich an derselben Figur erläutern, auf die wir schon oben Bezug genommen haben, wir müssen nur jetzt auch noch das berücksichtigen, was unterhalb der Linie AB liegt. Die Lichtquelle befindet sich nicht mehr in dieser Ebene, sondern in einem beträchtlichen Abstand davon entfernt bei $\Lambda_1 \Lambda_2$, $L_1 L_2$ stellt ihr von der Sammellinse sl entworfenenes Bild vor. Die Sehfeldblende ist mit sb bezeichnet — die den Objectpunkten $o_1 o_2$

conjugirten Punkte sind mit $\omega_1 \omega_2$ bezeichnet — sie stellt, wie aus der Figur hervorgeht, die Iris der Sammellinse sl vor; bei der Abbildung der Lichtquelle $\Lambda_1 \Lambda_2$ in $L_1 L_2$ dient sie zugleich als Austrittspupille, und ihre Grösse und ihr Abstand von der Linse sl muss für alle Fälle dementsprechend gewählt werden, d. h. die Begrenzung aller zu dem Bild $L_1 L_2$ gelangenden Strahlenkegel darf nur durch sie bewirkt werden und nicht an einer andern Stelle der Achse, etwa durch die Linsenfassung, stattfinden; nur in diesem Fall ist das in der Objectebene entworfene Bild der Sehfeldblende in seiner ganzen Ausdehnung gleichmässig hell beleuchtet¹.

Ich benutzte seither in der Regel eine Biconvexlinse von ca. 10 cm Durchmesser und 25 cm Brennweite, die Sehfeldblenden sind einfache Scheiben von geschwärzter Pappe, die sich leicht an der Linsenfassung befestigen und wieder entfernen lassen. Als Condensor am Mikroskop wurde ein gewöhnlicher ABBÉ'scher Beleuchtungsapparat mit Scheibenblenden (oder Irisblende) verwandt. Man stellt dann, je nachdem man schwache Systeme (mit grossem Sehfeld) und enge Blenden im Condensor, oder starke Systeme (kleines Sehfeld) und weite Blenden verwenden muss, die Sammellinse in einem Abstand vom Condensor auf, der im ersten Fall kleiner, im zweiten dagegen grösser ist als die doppelte Brennweite. Bei dem kleineren Abstand wird nämlich das vom Condensor entworfene Bild der Sehfeldblenden relativ gross, das Bild der Lichtquelle allerdings klein, es füllt aber doch eine enge Blendenöffnung aus; bei grösserem Abstand wird das Bild der Lichtquelle auch für eine weite Blende hinreichend gross, und das Bild der Sehfeldblende bleibt dennoch für das kleine Gesichtsfeld, das stärkere Systeme abbilden, gross genug.

Man stellt zunächst mit einer ganz schwachen Vergrösserung auf das Präparat ein und rückt die Sammellinse so, dass ihr noch verwaschen erscheinendes Bild in die Mitte des Sehfeldes kommt, dann stellt man es durch Verschieben des Condensors scharf ein. Diese Arbeit erleichtert man sich dadurch, dass man hinter der Linse einen von hinten beleuchteten, durchscheinenden Schirm aufstellt, von dem sich die Linsenfassung scharf abhebt. Man entfernt dann den Schirm

¹) Würden die zum Bild der Lichtquelle hinzielenden Strahlenkegel von dem Rand der Linsenfassung begrenzt, so müsste man ein scharfes Bild dieser Fassung in die Objectebene entwerfen, befände sich die Sehfeldblende zwischen Sammellinse und Lichtquelle, so wäre die Austrittspupille ihr reelles oder virtuelles Bild und dies müsste durch den Condensor in die Objectebene projectirt werden.

und stellt die Lichtquelle so, dass die Convexlinse ein scharfes Bild von ihr auf die Blende des Beleuchtungsapparats entwirft. Sieht man nun in das Mikroskop, so erblickt man in der Mitte des Gesichtsfeldes das Bild der Convexlinse als scharf abgegrenzte völlig gleichmässig erleuchtete kreisrunde Scheibe, auf der die Objectstructur scharf gezeichnet erscheint. Man vertauscht nun das schwache System gegen das zur Aufnahme zu verwendende und versieht die Convexlinse mit einer der Sehfeldblenden, welche die Linsenöffnung auf die zur Beleuchtung des Sehfelds gerade erforderliche Grösse einschränkt.

Bei starken Vergrösserungen und weit geöffneter Condensorblende wird sich die Anwendung eines achromatischen Condensorsystems empfehlen; dafür sprechen dieselben Gründe, die bei der seither üblichen Art der Beleuchtung die Verwendung solcher Systeme räthlich erscheinen liessen.

Da mir kein achromatischer Condensor zur Verfügung steht, habe ich in letzter Zeit mit sehr gutem Erfolg auch hier Mikroskop-objective an Stelle des Condensors und das Objectiv eines kleinen Opernglases an Stelle der Convexlinse verwandt, man erhält dann auch bei starken Vergrösserungen eine sehr schöne Begrenzung des beleuchteten Sehfelds, da die mit solchen Hilfsmitteln entworfenen Bilder der Sehfeldblende sehr scharf sind. Eine ausreichende Abstufung der numerischen Apertur der beleuchtenden Strahlenkegel erreicht man leicht durch Verwendung von Objectiven verschiedener Apertur, eventuell unter Verkleinerung ihrer Oeffnung durch geeignete Blenden. Hierzu benutze ich die von ZEISS für Dunkelfeldbeleuchtung gelieferten Blenden, die sich bei den Objectiven A bis F zwischen Trichter und Linsenfassung einschrauben lassen.

Bei Verwendung einer sorgfältig construirten optischen Bank empfiehlt es sich vielleicht, als Sehfeldblende eine Irisblende zu benutzen, die man ein für alle Mal in einer bestimmten Entfernung vom Mikroskop aufstellt; danach müsste man dann Oeffnung und Brennweite der Sammellinse bemessen, durch die man je nach Bedarf ein vergrössertes oder verkleinertes Bild der Lichtquelle in die Brennebene des Condensors, resp. des Objectivs entwirft.

Auch bei der Projection mikroskopischer Präparate zu Unterrichtszwecken hat sich die beschriebene Methode im hiesigen zoologischen Institut bewährt, als Condensor für schwache Vergrösserungen dient hierbei eine STEINHEIL'sche Lupe von sechsfacher Vergrösserung, für stärkere ein Objectiv 4 von HARTNACK.

Was nun die von mir angewendeten Lichtquellen anlangt, so er-

strecken sich meine Erfahrungen auf Petroleumlicht, Argandbrenner, Auer'sches Gaslicht und Zirkonlicht (Brenner von MAX WOLZ in Bonn). Besonders beim Gebrauch der beiden zuletzt genannten Lichtquellen leistet die von mir empfohlene Methode sehr gute Dienste, da bei der einen die leuchtende Fläche ein glühendes Netz ist, das man überhaupt nicht scharf in die Objectebene projiciren darf, während bei der anderen nach meinen Erfahrungen sehr bald kleine Risse und Gruben in dem Leuchtkörper auftreten, welche ebenfalls eine ungleichmässige Helligkeit der leuchtenden Fläche verursachen.

Auch für die directe Verwendung von elektrischem Bogenlicht wird sich die Methode wohl eignen, wenn man ein ausreichend grosses Bild der positiven Kohlenspitze auf die Condensorblende projicirt; soviel ich aus den mir zu Gebot stehenden Zeichnungen und Beschreibungen entnehmen kann, wird sich das wohl ohne grosse Schwierigkeiten bei dem grossen ZEISS'schen Apparat erreichen lassen und besonders für Projectionszwecke vorthellhaft erweisen. Eigene Versuche habe ich allerdings nicht anstellen können, da mir weder der ZEISS'sche Apparat noch elektrisches Licht zur Verfügung stehen.

Ferner möchten sich auch Versuche mit den verschiedenen Arten von Magnesiumlicht empfehlen, insbesondere mit dem durch Verbrennen von Draht oder Band erzeugten Licht einfach construirter Lampen.

Cuvetten zur Absorption von Wärme- und Lichtstrahlen lassen sich selbstverständlich hier ebensogut anbringen wie bei anderen Beleuchtungsmethoden, sie finden wohl am besten nahe bei der Sammellinse ihren Platz.

Die Lichtverluste sind nicht grösser, als wenn man mit Beleuchtungsapparat und Convexlinse ein Bild der Lichtquelle in die Objectebene projicirt.

Für die Beleuchtung mit Sonnenlicht wird sich unsere Methode, wenn man nicht ziemlich unpraktische Linsencombinationen anwenden will¹, nicht gebranchen lassen, man erhält aber bei dieser Lichtquelle auch durch Projection des Sonnenbildes in die Objectebene völlig zufriedenstellende Resultate.

¹) Um ein ausreichend grosses Sonnenbild in der unteren (vorderen) Brennebene des Condensors zu erhalten, müsste man entweder eine einfache Sammellinse von beträchtlicher Brennweite oder ein nach dem Typus des KEPLER'schen oder Holländischen Fernrohrs zusammengesetztes Linsensystem verwenden, letzteres mit dem Strahlengang, wie er bei den zur Telephotographie dienenden Objectiven stattfindet.

[Eingegangen am 17. October 1893.]