

# Eine modifizierte schiefe Beleuchtung

Martin Kreutz

**Mitunter können schon einfache Veränderungen an einer bestehenden kontraststeigernden Methode zu einer wesentlichen Verbesserung des Verfahrens führen. Auch die schon lange bekannte schiefe Beleuchtung bietet in dieser Hinsicht noch Möglichkeiten.**

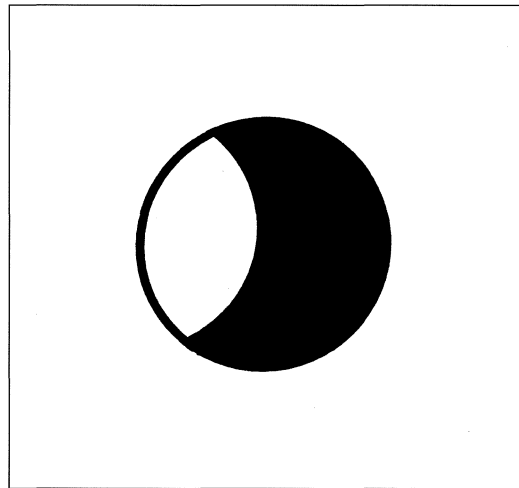
**D**ie schiefe Beleuchtung ist eine Methode zur Auflösungs- und Kontraststeigerung im Mikroskop, die bereits in den Anfängen der Mikroskopie angewendet wurde. Sie liefert ein reliefähnliches Bild, was vom Auge als sehr angenehm empfunden wird, da unser Form- und Räumlichkeitsempfinden dadurch besonders angesprochen wird. Dieser Reliefeffekt wird auch beim Interferenzkontrastverfahren erzeugt, allerdings aufgrund völlig anderer optischer Eingriffe in die Bildentstehung, was sich auch im hohen Anschaffungspreis dieser Methode widerspiegelt. Im Gegensatz dazu ist die schiefe Beleuchtung ohne größeren Kostenaufwand durchzuführen, weshalb sie insbesondere von Hobbymikroskopikern gerne eingesetzt wird. Zu ihrer Erzeugung kamen bisher hauptsächlich zwei Möglichkeiten zur Anwendung:

1. die Verwendung einer Lochblende,
2. das Dezentrieren der Aperturblende.

Diese beiden Methoden haben allerdings ihre Nachteile. Zum einen werfen besonders undurchsichtige Objekte (Algen) einen sehr dunklen und großflächigen Schatten, der bei ausgedehnten Objekten auch innerhalb des Objektes liegen kann und dadurch eventuell Details verdunkelt. Zusätzlich ist besonders bei kleinen Vergrößerungen ein mehr oder weniger starker Helligkeitsgradient im Bildfeld sichtbar. Um überhaupt ein homogenes und ausreichend helles Bildfeld erzeugen zu können, muß mit geköhlerter Beleuchtung gearbeitet werden. Dadurch gerät der Kondensor in Stellungen, wo seine volle Apertur nicht genutzt werden kann. Die Nutzung der vollen Kondensorapertur ist aber bei schiefer Beleuchtung erwünscht, um einen möglichst schrägen Einfallswinkel des Lichtes in das Präparat und dadurch einen starken Reliefeffekt zu erhalten.

## Aufbau der modifizierten schiefen Beleuchtung

Es wäre also anzustreben, die maximale Apertur des Kondensors bei allen Objektiven zu nutzen, gleichzeitig ein helles und gradientenfreies Bildfeld zu erzeugen und den Schattenwurf der Objekte zu mildern. Dies alles kann mit einer einfachen Anordnung erreicht werden. Dabei wird ein herkömmlicher Mattfilter mit einer schwarzen Blende versehen, die einen kreisförmigen Ausschnitt aufweist, so daß eine linsenförmige Fläche frei bleibt (Abb. 1). Durch diesen Filter kann der Kondensor jetzt für alle Objektive, außer dem Lupenobjektiv (4×), in die oberste Stellung gebracht werden. Es wird mit voll geöffneter Aperturblende gearbeitet.



**Abb. 1: Filter für die modifizierte schiefe Beleuchtung.**

### Wirkungsweise des Filters

Durch den Mattfilter muß die Beleuchtung nicht mehr geköhlet werden, da die Lichtquelle praktisch in die Ebene des Filterhalters gelegt wurde. Beim Blick durch den Tubus nimmt die Blende etwa 70 % des Bildfeldes ein. Trotz dieser Konstellation tritt kein Dunkelfeld mit einseitiger Beleuchtung auf. Die mattierte Fläche des Filters streut das Licht homogen in alle Richtungen und sorgt so für ein praktisch gradientenfreies Bildfeld. Die Schatten der Objekte werden aufgehellt. Der Reliefeffekt ist sehr stark, da die volle Kondensorapertur genutzt wird. Mit einer Niedervoltleuchte (15 W oder mehr) ist eine ausreichend helle Beleuchtung problemlos möglich. Beim Objektivwechsel muß diese Art der schiefen Beleuchtung nicht mehr durch Nachjustieren des Filters oder des Kondensors neu eingestellt werden. Sie liefert nicht nur für die visuelle Beobachtung ein kontrastreiches Bild, sondern eignet sich auch hervorragend für die Mikrofotografie. Als Beispiel sind einige Objekte aus Planktonuntersuchungen abgebildet (Abb. 2–4). Alle Aufnahmen entstanden bei schiefer Beleuchtung mit achromatischen Objektiven.

### Bau und Justierung des Filters

In zahlreichen Versuchen hat sich gezeigt, daß nicht nur das Ausmaß, sondern auch die Form der Blende einen erheblichen Einfluß auf die Qualität der schiefen Beleuchtung hat. Als besonders günstig hat sich dabei eine Blende mit kreisförmigem Ausschnitt erwiesen. Benötigt wird ein Mattfilter und schwarze Selbstklebefolie (Haushaltswaren oder Bastelbedarf).

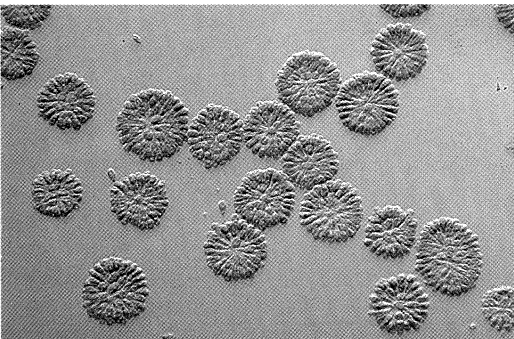


Abb. 2: *Synura uvella*.

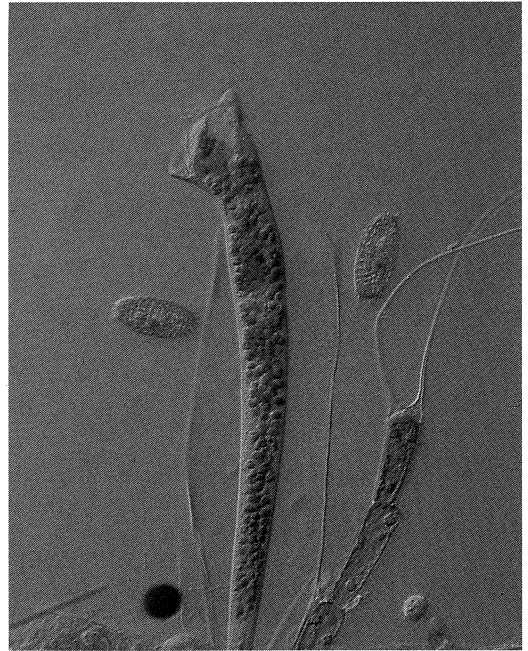
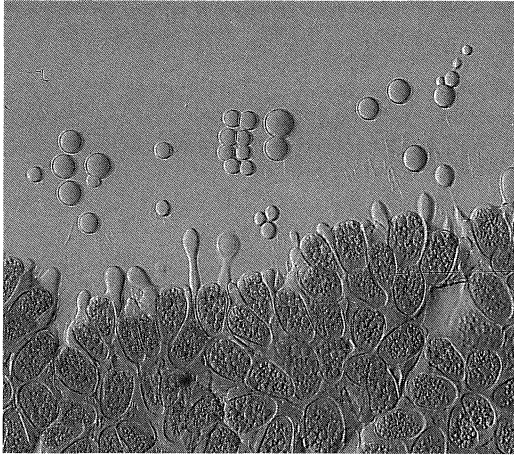


Abb. 3: *Thuricola folliculata*.

Durch Nachziehen des Umrisses des Mattfilters wird ein kreisförmiges Stück Folie ausgeschnitten. Der Mattfilter wird ein zweites Mal verwendet, um ein Kreissegment zu markieren, welches ca. 30 % der Gesamtfläche des Kreises ausmacht. Wie groß letztendlich das freigelassene Stück Mattfilter sein muß, hängt vom jeweiligen Mikroskop- und Kondensortyp ab und muß ausprobiert werden. Es empfiehlt sich, eine Art Griff (z.B. aus Holz oder Aluminium) an den fertigen Filter zu kleben, um ihn nachher bequem im Filterhalter drehen zu können. Dadurch können dann später alle Details eines Objektes sichtbar gemacht werden. Nach Einlegen des Filters wird der Kondensor in die höchste Stellung gebracht. Nun wird ein geeignetes Objekt (z.B. *Spirogyra* oder *Paramecium*) scharf eingestellt und durch vorsichtiges Senken und Heben des Kondensors der maximale Reliefeffekt eingestellt. Bei dem Objektiv 10× darf höchstens ein schwacher Helligkeitsgradient durch das Bildfeld laufen. Ist dies nicht der Fall, muß das Ausmaß der Blende durch vorsichtiges Verkleinern korrigiert werden (wegschneiden mit Rasierklinge), bis die Abschattung durch die Blende gerade außerhalb des Bildfeldes liegt.



**Abb. 4: Freisetzung von Öl unter Deckglasdruck bei *Botryococcus braunii*.**

## Anwendungsgebiete

Der Filter kann in allen Mikroskopen eingesetzt werden, die mit einem mindestens zweilinsigen Kondensor ausgerüstet sind. Besonders anbieten würde sich das Verfahren für Schul- und Kursmikroskope sowie bei Mikroskopen, die nicht für die Nachrüstung mit anderen Kontrastverfahren vorgesehen sind.

## Literaturhinweise

Gerlach, D.: Das Lichtmikroskop. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976.

Kaufmann, M.: Die schiefe Beleuchtung. Mikrokosmos 68, 299–302 (1979).

Verfasser: Dr. Martin Kreutz, Magdeburger Str. 2, D-78467 Konstanz

## Kurze Mitteilung

### Kapillarmikroskopie

Die mikroskopische Untersuchung von Einzelzellen, die sich im Innern von Glaskapillaren befinden, ist seit den zwanziger Jahren eine gelegentlich angewandte Methode. Die runden Glaskapillaren haben jedoch den Nachteil, daß die Glaswände wie zwei halbrunde Zylinderlinsen wirken, die zu einer beträchtlichen Störung des Bildes führen. Man hat versucht, diese Störung durch Einbetten der Glaskapillaren in Wasser zu verbessern. Wasser ist mit einem Brechungsindex von 1,35 dem des Glases mit 1,50 näher als dem Brechungsindex der Luft (1,00). Erst das Eintauchen der Glaskapillare in ein Öl mit dem Brechungsindex 1,5 hat die Bildstörung weitgehend aufgehoben. Diese Methode ist aber mühsam und unpraktisch. Zudem bleiben natürlich die durch die Rundung des Kapillareninnenraumes verursachten Abweichungen bestehen. Außerdem haben die starren Glaskapillaren den Nachteil, daß darin befindliche Zellen für Experimente weitgehend unzugänglich bleiben. Diese Nachteile konnten nun durch die Einführung elastischer Kapillaren überwunden werden.

Solche elastischen Kapillaren aus Polyurethan, Silikon oder Latex müssen die folgenden Bedingungen erfüllen:

1. Sie müssen streckbar sein. Diese Extensibilität wird als Ausdehnungsindex bezeichnet. Dabei ist anzunehmen, daß der Durchmesser der Kapillare umgekehrt proportional der Streckung ist. Wenn man zum Beispiel eine elastische Kapillare um das Achtfache ihrer ursprünglichen Länge streckt, vermindert sich der Durchmesser auf ein Achtel. Diese Extensibilität ist experimentell schwierig zu bestimmen. Eine Zelle, zum Beispiel eine Amöbe, die man in die Kapillare aufgesogen hat, mit einem ursprünglichen Durchmesser von 100 µm und einer Länge von 400 µm, wird durch das Strecken um das Achtfache verlängert; sie wird also 3,2 Millimeter lang und gleichzeitig auf einen Durchmesser von 12,5 µm reduziert.

Solche Streckung kann mit Kapillaren aus Latex, Silikon oder Polyurethan ausgeführt werden. Deren elastische Wand von z. B. 20 µm ursprünglicher Dicke wird durch das Strecken auf 2,5 µm verkleinert. Man kann dann den Einfluß der Streckung auf die in der elastischen Kapillare befindlichen Zelle, deren Kern und das Cytoplasma mikroskopisch untersuchen.

2. Die Kapillare muß optisch transparent sein. Diese Transparenz ist bei den meisten Elastomeren, wie Latex, synthetischem oder Silikon-Gummi, gegeben. Diese sind lichtdurchlässig,