

**Interferenzmikroskop „Interphako“<sup>®</sup>  
für Durchlicht**

---

**Beschreibung und  
Gebrauchsanleitung**



Durch ständige Weiterentwicklung unserer Erzeugnisse können Abweichungen von den Bildern und dem Text dieser Druckschrift auftreten. Die Wiedergabe - auch auszugsweise - ist nur mit unserer Genehmigung gestattet. Das Recht der Übersetzung behalten wir uns vor. Für Veröffentlichungen stellen wir Reproduktionen der Bilder, soweit vorhanden, gern zur Verfügung.

**Interferenzmikroskop „Interphako“ ®  
für Durchlicht**

---

**Beschreibung und Gebrauchsanleitung**

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
Einleitung	1
Einige theoretische Grundlagen	2
Interferenz	2
Verfahren der Interferenzmikroskopie	4
Shearing-Verfahren	6
Interphako-Verfahren	7
Strahlengang im Interferenzmikroskop "Interphako" (Bild 7)	8
Gebrauchsanleitung	12
1. Grundaufbau für Interferenz oder Phasenkontrast (Bild 11)	13
2. Einstellen des Köhlerschen Beleuchtungsprinzipes und Kondensorzentrierung (Bilder 10, 12 und 13)	13
3. Interferenzverfahren	16
3.1. Interphako (Bilder 10, 14 und 15)	16
3.2. Shearing-Verfahren (Bilder 10, 16 und 17)	17
3.4. Einstellen von Interferenzstreifen	19
3.5. Einstellen des universellen Phasenkontrastes	20
3.6. Durchführung fotografischer Aufnahmen	21
4. Hinweise zur Anwendung der verschiedenen Verfahren	22
5. Messungen mit dem Interferometer	25
5.1. Hinweise zur Messung	25
5.2. Meßbeispiele	30
6. Hinweise zur Anwendung des universellen Phasenkontrastes	36
Wirkung der Bedienungselemente auf Feld und Pupille	40
Bildunterschriften	51
Erläuterung der Bezugszahlen der Bilder 9-19	53

Bildteil

## Einleitung

Das Interferenzmikroskop "Interphako" ist ein hochwertiges Meßgerät zum Sichtbarmachen und Messen kleinster Lichtwegdifferenzen in mikroskopischen Präparaten. Die Vielseitigkeit des Gerätes ermöglicht die Durchführung der verschiedensten interferometrischen Beobachtungs- und Meßmethoden wie

Interphako

Shearingverfahren bei totaler und  
differentieller Bildaufspaltung

Streifenmethode

Im Prinzip ist die Anpassung an jedes normale Mikroskop und die Anwendung jedes Objektivs möglich. Aus mechanischen Gründen wird jedoch nur das Nf empfohlen.

Das Interferenzmikroskop enthält einige wesentliche Neuerungen, die erstmalig in einem kommerziellen Interferenzmikroskop angewandt worden sind. Dazu gehört das wegen seiner besonders guten Bildqualität hervorzuhebende Interphako-Verfahren, das dem Phasenkontrastverfahren sehr verwandt ist und eine kontrastreiche Darstellung und Vermessung kleinster Objekte unter Anwendung stärkster Objektivs und relativ großer Beleuchtungsaperturen gestattet, sowie das Shearing-Verfahren im natürlichen Licht mit kontinuierlich veränderbarer Bildaufspaltung und die Verwendung eines Beleuchtungsgitters zur Erhöhung der Beleuchtungsapertur bei großer lateraler Bildaufspaltung.

Die Meßgenauigkeit beträgt bei günstigen Objekten bis zu  $\lambda/200$  ohne,  $\lambda/500$  mit Halbschattenplatten.

Anwendung findet die Durchlicht-Interferenzmikroskopie vor allem in Biologie und Medizin bei der Untersuchung von Zellen und ihren Bestandteilen, Stoffwechselforgängen, zur Durchführung von Trockensubstanzbestimmungen usw., in

nahezu allen Teilgebieten der Mineralogie sowie in der Technik, z.B. zur Untersuchung von Glas- und Textilfasern oder Messung dünner Schichten u.a.m.

Um die Leistungsfähigkeit des Gerätes voll ausschöpfen zu können, werden in dieser Anleitung die dafür notwendigen Hinweise in möglichst knapper und anschaulicher Form mitgeteilt.

Es wird dringend empfohlen, die Anleitung stets im Gerätebehälter aufzubewahren, damit sie jederzeit griffbereit ist. Zur Beantwortung evtl. auftretender zusätzlicher Fragen stehen wir jederzeit gern zur Verfügung.

## Einige theoretische Grundlagen

### Interferenz

Unter Interferenz des Lichtes versteht man die Überlagerung von mindestens zwei Lichtwellen, die mit einer Verstärkung oder Abschwächung der resultierenden Intensität verbunden ist, wobei die Änderung der Intensität durch Addition bzw. Subtraktion der zusammenwirkenden Amplituden erfolgt.

Sind die Amplituden der interferierenden Wellen gleich, dann kann – je nach Phasenlage – die resultierende Amplitude zwischen Null und dem Doppelten der Einzelamplituden schwanken (Bild 1). Die Intensität ist dem Quadrat der Amplitude proportional, kann also zwischen Null und dem Vierfachen der Einzelintensität schwanken. Da die einzelnen Punkte einer üblichen Lichtquelle nicht kontinuierlich, sondern in regelloser Folge kurzzeitige Lichtblitze abstrahlen, ändern sich laufend die Phasenbeziehungen zwischen Wellen, die von verschiedenen Lichtquellen oder verschiedenen Punkten der gleichen Lichtquelle herrühren.

Sichtbare Interferenzen können deshalb nur entstehen, wenn sich solche Anteile überlagern, die von der gleichen Lichtquelle herrühren. Der Strahlengang muß deshalb in irgendeiner Weise aufgespaltet werden, um interferenzfähige Anteile zu erhalten.

Die Eigenschaft verschiedener Lichtanteile, sichtbare Interferenzen zu erzeugen, bezeichnet man als Kohärenz des Lichtes. Durchdringen sich zwei kohärente Lichtbündel in der Weise, daß das Licht von zwei räumlich getrennten, eng begrenzten Lichtquellen herzurühren scheint, so entsteht auf einem in relativ großer Entfernung befindlichen Schirm nach Bild 2 ein System gerader Interferenzstreifen, die im weißen Licht farbig erscheinen.

Von Streifen zu Streifen ändert sich die Wegdifferenz, die auch als Gangunterschied bezeichnet wird, der von den Lichtquellenbildern ausgehenden interferierenden Anteile jeweils um eine Wellenlänge.

Zwischen dem Streifenabstand  $b$  und dem Abstand der Lichtquellenbilder  $a$  besteht für  $l \gg a$  die Beziehung

$$b = \frac{\lambda \cdot l}{a} \quad (1)$$

Ist einer der beiden interferierenden Wellenfronten, z. B. durch Abbildung eines Phasenobjekts, ein örtlich begrenzter zusätzlicher Gangunterschied aufgeprägt worden, so resultiert daraus nach Bild 3 eine Streifenversetzung, aus der der vom Objekt verursachte Gangunterschied bestimmt werden kann.

Je kleiner die Aufspaltung des Lichtquellenbildes ist, um so größer wird der Abstand der Interferenzstreifen. Er wird unendlich für  $a = 0$ , d.h., die Wellenfronten in Bild 3 sind dann einander parallel. Das Feld erscheint bis auf das Phasenobjekt in gleicher Helligkeit oder Farbe, die

sich durch Verändern des Gangunterschiedes zwischen beiden Wellenfronten mit besonderen Hilfsmitteln (Phasenschieber) über die ganze Bildebene ändert.

Um kontrastreiche Interferenzstreifen zu erhalten, muß die Ausdehnung der Lichtquelle in Aufspaltungsrichtung a begrenzt werden. Es ist also ein Beleuchtungsspalt zu verwenden. Die nach Bild 4 von den Rändern der beiden Spaltbilder  $S_1$  und  $S_2$  zum gleichen Punkt P des Schirmes gehenden Strahlenpaare  $l_1 l_2$  und  $l_1 l_2$  dürfen sich in ihrem Gangunterschied höchstens um  $\lambda/4$  unterscheiden, da sonst ein Teil des von den Spaltbildern ausgehenden Lichtes geschwächt, der andere Teil verstärkt wird, was auf jeden Fall zu einer Kontrastminderung und bei sehr großer Spaltbreite zum Verschwinden des Kontrastes führt. Das führt zu der wichtigen Bedingung für die Breite des Spaltbildes s.

$$s = \frac{\lambda}{4} \cdot \frac{l}{a}$$

### Verfahren der Interferenzmikroskopie

Hier sollen nur die mit dem Interferenzmikroskop "Interphako" durchführbaren Verfahren näher erläutert werden.

Nach Abbe ist für die mikroskopische Abbildung das Zusammenwirken (Interferenz) des direkten Lichtes mit dem am mikroskopischen Objekt gebeugten Licht wesentlich. Je vollständiger das gebeugte Licht erfaßt wird, um so vollkommener können die in der Objektebene herrschenden Amplituden- und Phasenbeziehungen wiedergegeben werden.

Bei der Interferenzmikroskopie interessieren vor allem Phasenobjekte, d.h. solche Inhomogenitäten, die sich nicht durch unterschiedliche Farbe oder Helligkeit, sondern



durch eine unterschiedliche Brechzahl oder Dicke von der Umgebung unterscheiden. Sie erteilen dem Licht relativ zur Umgebung einen Gangunterschied  $\Delta$  und ändern damit seine Phase. Der Gangunterschied ist definiert als Unterschied der optischen Wege

$$\Delta = \Delta(d \cdot n)$$

Für konstante Dicke wird daraus

$$\Delta = d \cdot \Delta n \quad d = \text{Objektdicke}$$

bez. in Wellenlängen

$$\Delta = d/\lambda \cdot \Delta n \quad \Delta n = \text{Brechzahldifferenz} \\ \text{zwischen Objekt und} \\ \text{Umgebung}$$

und die Phasendifferenz

$$\varphi = d/\lambda \cdot \Delta n \cdot 360.$$

In den vorangegangenen Betrachtungen wurde festgestellt, daß bei Interferenz zweier Wellen gleicher Amplitude jeder Phasendifferenz eine bestimmte Intensität zugeordnet ist, die zwischen Null und dem Vierfachen der Intensität einer Welle schwanken kann.

Überlagert man nach Bild 5 dem als ebene Welle mit ausgeprägtem Phasenobjekt dargestellten mikroskopischen Bild einen kohärenten homogenen Untergrund (als zur Objektwelle parallele Welle dargestellt), so treten für Objekt und Umgebung Gangunterschiedsdifferenzen auf ( $\psi$  in der Umgebung,  $\varphi - \psi$  im Objekt), die im Bild zu Intensitätsunterschieden und somit zu einer kontrastierten Darstellung des Phasenobjektes führen.

Die ebene Vergleichswelle kann auf verschiedene Weise erzeugt werden. Das im Prinzip einfachste Verfahren besteht in der Aufspaltung des Strahlenganges vor dem Objekt und Wiedervereinigung hinter dem Objektiv. Seine technische Realisierung ist aber in der zu fordernden Qualität nicht ganz einfach und führt zu relativ teuren Geräten.

Wir arbeiten mit einer Aufspaltung des Strahlenganges hinter dem Objektiv und verwirklichen so im natürlichen Licht sowohl das von dem Polarisationsinterferometer her bekannte Shearing-Verfahren, als auch das dem Phasenkontrast verwandte Interphako-Verfahren.

### Shearing-Verfahren

Das Shearing-Verfahren beruht nach den Bildern 6a bis c auf einer lateralen Bildaufspaltung. Ist die Aufspaltung größer als das Objekt (Bild 6a) dann spricht man von totaler Aufspaltung. Es entsteht dabei ein Doppelbild mit den Phasendifferenzen  $\varphi - \psi$  und  $\varphi + \psi$ . Als Vergleichswelle dient die unmittelbare Umgebung des Objekts. Durch Änderung von  $\psi$  kann das Objekt auf optimalen Kontrast eingestellt und die von ihm bewirkte relative Phasendrehung gemessen werden.

Wird die laterale Bildaufspaltung nach Bildern 6b und c sehr klein gehalten, etwa in der Größenordnung der Auflösungsgrenze, dann spricht man von differentieller Aufspaltung. Ihre Bildwirkung besteht in der Erzeugung eines Reliefkontrastes, wie er von der schiefen Beleuchtung oder von schräg bedampften elektronenmikroskopischen Aufnahmen her bekannt ist.

Es werden, wie besonders an Bild 6c zu erkennen ist, nicht Gangunterschiede, sondern Gangunterschiedsänderungen, z.B.

Brechzahlgradienten oder Neigungen von Kristallflächen sichtbar gemacht, die durch kontinuierliche Änderung von  $\psi$  auch vermessen werden können.

Das Shearing-Verfahren wird im Interferenzmikroskop "Interphako" wegen der damit verbundenen ernsthaften Mängel nicht mit polarisationsoptischen Hilfsmitteln verwirklicht. Seine Durchführung soll anhand des optischen Schemas in Bild 7 erläutert werden.

### Interphako-Verfahren

Dieses Verfahren hat seinen Namen wegen der engen Verwandtschaft mit dem Phasenkontrastverfahren erhalten und ist besonders günstig für Gangunterschiedsmessungen an kleinsten Phasenobjekten bis zur Auflösungsgrenze. Seine Überlegenheit gegenüber anderen Interferenzmethoden besteht vor allem in der ausgezeichneten Bildqualität, die ohne weiteres mit der von erstklassigen Phasenkontrasteinrichtungen erreichten vergleichbar ist und der Möglichkeit des für jedes einzelne Objekt einstellbaren optimalen Kontrastes. Man kann es direkt als ein quantitatives Phasenkontrastverfahren bezeichnen.

Die ebene Vergleichswelle wird durch Abblenden des am Objekt gebeugten Lichtes erzeugt, denn das direkte Licht allein kann nach der Abbeschen Theorie von der Bildentstehung im Mikroskop keinerlei Objektstrukturen vermitteln. Die Bildwirkung entspricht demnach der in Bild 5 dargestellten; es tritt keine Bildverdoppelung auf. Bei relativ großen Objekten läßt sich die möglichst vollständige Abblendung des gebeugten Lichtes nicht realisieren, weshalb dieses Verfahren zur Durchführung genauer Messungen nur für kleine Objekte, etwa bis zum 20- bis 30fachen der Auflösungsgrenze, zu verwenden ist. Die Durchführung dieses Verfahrens soll ebenfalls in Verbindung mit dem optischen Schema in

Bild 7 erläutert werden.

Strahlengang im Interferenzmikroskop "Interphako"<sup>®</sup> (Bild 7)

Das Interferenzmikroskop "Interphako" für Durchlicht besteht im wesentlichen aus einem normalen Durchlichtmikroskop, einem speziell korrigierten Zwischenabbildungssystem und einem kleinen Mach-Zehnder-Interferometer.

Die Lampenwendel wird vom Kollektor in die Aperturblenden-ebene (im Bild ist dort ein Spalt  $Sp$  dargestellt) und der Spalt von Kondensor (1) + Objektiv (2) in dessen hintere Brennebene bei  $Sp'$  abgebildet. Außerdem bildet der Kondensor die Leuchtfeldblende  $LB$  in die Objektebene  $O$  und das Objektiv das Objekt in die hier nicht gezeichnete Zwischenbildebene ab.

Das Zwischenabbildungssystem (3, 4, 5) hat die Aufgabe, vom Objekt je ein Zwischenbild bei  $O'$  und  $O''$  und von der Pupille ein den Erfordernissen der Interferenzmikroskopie entsprechendes Bild der Austrittspupille im Interferometer bei  $Sp''$  zu erzeugen.

Bei unterschiedlichen Pupillenlagen der Objektive kann mit dem Schiebepisma 4 das Pupillenbild  $Sp''$  stets an die gleiche Stelle gebracht werden. Da die Linse (3) das Objektbild ins Unendliche verlagert, bleibt in jeder Stellung des Prismas 4 die Bildlage  $O'$  und  $O''$  erhalten.

Prisma (12) und Bertrandlinse (13) sind ein- und ausschaltbar; ersteres für die Mikrofotografie, letztere zur Beobachtung der Pupille.

Das Interferometer besteht aus den beiden Teilungsprismen (6 und 7), dem Phasenschieber (8), dem gegen Ringblenden auswechselbaren Drehkeil (10), sowie den beiden Kompensationselementen (9 und 11).

In der Grundjustierung treten die beiden an der Teilungsfläche  $S_1$  erzeugten Teilstrahlen in Höhe und Richtung genau übereinstimmend an den Ausgängen A bzw. B des Prismas (7) wieder aus. Die in Richtung A entstehenden Interferenzerscheinungen sind stets zu denen in Richtung B komplementär. Es wird jedoch nur der Ausgang A verwendet, da für diesen im Gegensatz zu B die interferierenden Teilstrahlen die gleiche Anzahl von Reflexionen erlitten haben, woraus ein besserer Kontrast resultiert.

Durch Verstellen des als schwachen Glaskeil ausgebildeten Phasenschiebers (8) kann der Gangunterschied zwischen  $S_1$   $Sp_2$   $S_2$  und  $S_1$   $Sp_1$   $S_2$  um maximal  $\pm 15$  Wellenlängen ( $\lambda = 500$  nm) verändert werden. Es sind also auf diese Weise Gangunterschiedsmessungen bis zu 30 Ordnungen möglich.

Der Drehkeil (10) besteht aus zwei gleichen gegeneinander um die optische Achse drehbaren Glaskeilen. Die mit Hilfe des Drehkeils nur in dem einen Teilstrahlengang hervorgerufene Richtungsänderung entspricht einer Bildaufspaltung in der Zwischenbildebene  $0''$ , die auf jeden Wert zwischen 0 und  $\pm 4$  mm eingestellt werden kann, so daß sowohl totale als auch differentielle Aufspaltung möglich ist. Die Richtung der Aufspaltung bleibt dabei stets erhalten.

Damit das Feld streifenfrei bleibt, darf der Drehkeil außer der Bildaufspaltung keine Pupillenaufspaltung hervorrufen. Er muß deshalb in der Pupille angeordnet sein. Wegen des nötigen Luftabstandes beider Keile tritt jedoch bei Änderung der Bildaufspaltung eine geringe Pupillenaufspaltung auf, die leicht mit den Keilen (8, 9 und 11) kompensiert werden kann.

Zwischen Bildaufspaltung und Breite des Beleuchtungsspaltens besteht ein ähnlicher Zusammenhang, wie auf Seite 4 beschrieben. Je größer die Bildaufspaltung, um so mehr muß die

Beleuchtungsapertur in Aufspaltungsrichtung eingeschränkt werden.

Bei Anwendung des Shearing-Verfahrens sieht man in der Pupille Interferenzstreifen, deren Abstand von der Größe der Bildaufspaltung abhängt. Zur Erzielung eines guten Kontrastes darf das Spaltbild nicht größer als  $1/4$  des Interferenzstreifenabstandes sein. Um diese Bedingung in jedem Fall optimal erfüllen zu können, ist der in der Kondensorbrennebene angeordnete Spalt Sp als verstellbarer Präzisionsspalt ausgeführt.

Bei großer Bildaufspaltung muß der Beleuchtungsspalt so eng und damit die Beleuchtungsapertur in Aufspaltungsrichtung so klein gemacht werden, daß neben einer sehr geringen Bildhelligkeit auch eine geminderte Bildqualität zu erwarten ist. Dieser Mangel kann im monochromatischen Licht behoben werden, wenn statt des Beleuchtungsspalt ein Beleuchtungsgitter verwendet wird, dessen Spaltbreite der des Einzelspalt entspricht und dessen Gitterkonstante der Bildaufspaltung so angepaßt ist, daß in der Pupille die Interferenzstreifen mit den Gitterstrichen zusammenfallen. Bei Verwendung bis zu 20 Gitterstrichen kann die Bildintensität auf das 20fache erhöht und die Bildqualität wesentlich verbessert werden.

Durch gegenseitiges Drehen des Phasenschiebers (8) und des Ausgleichskeiles (9) um zur Zeichenebene senkrechte Achsen lassen sich die Teilstrahlen um geringe Beträge gegeneinander versetzen. Hierdurch wird neben einer geringen, mit dem Drehkeil (10) wieder kompensierbaren Bildaufspaltung vor allem eine vertikale Pupillenaufspaltung hervorgerufen, woraus in der Bildebene 0'' horizontale Interferenzstreifen resultieren.

Die Platte (11) ist um eine in der Zeichenebene liegende, zur optischen Achse senkrechte Achse drehbar und bewirkt eine horizontale Pupillenaufspaltung und damit senkrechte

Interferenzstreifen. Durch Kombination beider Aufspaltungen ist jede Streifenrichtung einstellbar.

Bei Übergang vom Shearing-Verfahren zum Interphako-Verfahren ist lediglich der Spalt  $S_p$  durch eine Ringblende und der Drehkeil (10) durch eine der ersten konjugierten Ringblende zu ersetzen. Da die Wirksamkeit des Verfahrens, wie im Phasenkontrast, im wesentlichen von dem Produkt aus Objektgröße und Ringbreite abhängt, werden entsprechend dem variablen Phasenkontrast  $Ph_v$  zwei konzentrische Blendenringe unterschiedlicher Breite benutzt, von denen der breitere wahlweise mit Hilfe einer Irisblende abgedeckt werden kann. Ist obengenanntes Produkt zu groß, dann wird von der Ringblende im Interferometer ein Teil des am Objekt gebeugten Lichtes mit hindurchgelassen und die Vergleichswelle ist deformiert. Die Größe dieser Deformation hängt von dem in [1] definierten  $\Gamma$  - Wert ab.

$$\Gamma = \frac{B \cdot K}{f'} \times \Delta R$$

$B$  = Radius eines kreisförmigen Objektes

$K$  = Wellenzahl =  $2\pi/\lambda$

$f'$  = für die Ringblendenabbildung wirksame Brennweite

$\Delta R$  = Breite der Ringblende

Zu Bild 8 Diagramm 1 ist in a bis d für die vorgesehenen Objektive der Planachromatserie der  $\Gamma$  - Wert in Abhängigkeit von der Objektgröße  $2B$  und im Diagramm 2 die Verformung der Vergleichswelle in Abhängigkeit vom Bildort und  $\Gamma$  - Wert dargestellt worden. Aus Diagramm 2 ist zu erkennen, daß für genaue Messungen der  $\Gamma$  - Wert  $\leq 1$  sein soll. Durch entsprechende Objektivwahl und die Möglichkeit, Ringblenden unterschiedlicher Breite zu benutzen, kann diese Forderung für einen breiten Objektgrößenbereich verwirklicht werden.

## Gebrauchsanleitung

### Vorbereiten des Gerätes

#### Allgemeine Hinweise

Das Interferenzgerät kann in Verbindung mit dem Nf-Stativ verwendet werden.

Wegen der auf Bruchteile eines tausendstel Millimeter genauen Abstimmung ist das Interferometer verständlicherweise sehr empfindlich gegen Stoß, Schlag, Hitze (ab 40°C) sowie plötzliche starke Temperaturänderungen.

Staub ist der ärgste Feind eines gleichmäßigen Bildes. Jedes Schmutzteilchen im Interferenzmikroskop gibt Anlaß zu einem inhomogenen Feld oder einer Kontrastminderung. Deshalb sollte stets die Halbschattenplatte (15) oder der Staubschutzschieber (mit freiem Durchgang) in der Aufnahme für die Halbschattenplatte (3) und der Drehkeil (14) bzw. der Ringblendenschieber (13) in dem Aufnahmeschlitz des Interferometers (5) eingeschoben sein (Bild 9). Vor Beginn der Arbeiten sollen die Frontlinsen des Kondensors und die Okulare vorsichtig mit einem weichen Haarpinsel und einer Gummipuste vom Staub gesäubert werden. Auch Verschmutzungen der Objektivaußenflächen sind sehr störend. Alle nicht eingesetzten Einheiten sind stets verschlossen im Behälter aufzubewahren.

Für das Shearing-Verfahren können alle normalen Mikroobjektive, für Interphako-Verfahren vorerst die neuen Achromate (Abstimmlänge 45 mm) und die Planachromate 6,3/0,16, 16/0,32, 40/0,65 und 100/1,25, alle 160/0,17 benutzt werden.

Als Okulare werden bei Planachromaten PK-Okulare, bei Achromaten A- und AK-Okulare bis normalerweise maximal 12,5 x benutzt. Zur Beleuchtung reicht die im Fuß eingebaute Leuchte 6 V 15 W im allgemeinen aus. Es sollte eine unmattierte Lampe 6 V 15 W



mit Flachkernwendel verwendet werden. Beim Shearing-Verfahren ist das Einschalten der Mattscheibe zu empfehlen.

Für besondere Zwecke kann über einen auf dem Fuß aufsetzbaren Spiegel das Licht von stärkeren Lampen, z.B. 12 V 100 W oder XBO 101, zur Beleuchtung verwendet werden. Quecksilberlampen sind wegen ihres Linienspektrums vorteilhaft nur bei Arbeiten im monochromatischen Licht zu benutzen.

Bei der Durchführung von Messungen ist ein Raum mit gedämpfter Beleuchtung empfehlenswert, weil bei der empfindlichen Einstellung das Feld sich in Dunkelfeldstellung befindet.

1. Grundaufbau für Interferenz oder Phasenkontrast (Bild 11)
  - 1.1. Grundkörper InPh (2) mit Ringschwalbe am Schnellwechsler des Tubusträgerkopfes (36) durch Klemmschraube (37) festklemmen.
  - 1.2. Einsatz In (4) bei Interferenz oder Einsatz Ph (8) bei Phasenkontrast in Ausbruch (35) des Grundkörpers InPh einsetzen und mit Steckschlüssel (20 Bild 9) Klemmschraube (45 Bild 13) klemmen.

Vorsicht. Einsatz In vor hartem Aufsetzen schützen!

- 1.3. Objektive in Revolver einschrauben.
  - 1.4. Monokularen stellbaren oder binokularen geraden Tubus (6 Bild 9) mit Verstellmöglichkeit beider Tubusrohre am Schnellwechsler des Zwischenabbildungstubus befestigen.
  - 1.5. Okulare PK 12,5 x in Tubus einsetzen.
  - 1.6. Präparat auf den Mikroskoptisch legen.  
Sollte durch das Gewicht des Interferenzaufsatzes der Tubusträger absinken, so ist nach Nf-Gebrauchsanleitung die Bremse des Grobtriebes fester zu stellen.
2. Einstellen des Köhlerschen Beleuchtungsprinzips und Kondensorzentrierung (Bilder 10, 12 und 13)
    - 2.1. Objektiv 6,3/0,16 einschalten.

- 2.2. Leuchtfeldblende mit Stellrad (42) etwas öffnen.
- 2.3. Filterhalter mit Linse (21) in Mikroskopfuß einsetzen und Filter VG9 (17) einlegen.
- 2.4. Bertrandlinse durch Herausziehen der Zugstange (43) einschalten (Zugstange (44) muß eingeschoben sein).
- 2.5. Ringblendenschieber (13) in Aufnahmeschlitz (5) des Einsatzes In mit Kerben nach oben und Schrift zum Betrachter so weit einschieben, bis der kleine Ring  $\circ$  am Rande des Gehäuses liegt, bzw. Phasenringrevolver (11) oder (12) mit Schwalbe in Führung in die Aufnahme (9) des Einsatzes Ph einsetzen, mit Steckschlüssel (20) Klemmschraube (10) klemmen und kleinen Ring einschalten.
- 2.6. Mit Knopf(40) Leuchtfeldblende scharf einstellen und mit Zentrierschrauben (41) zu der Ringblende zentrieren.  
Diese Schrauben dürfen nun nicht mehr verstellt werden!
- 2.7. Aplanatisch-achromatischer Kondensator 0,8/xe (39 Bild 11) an Schwalbenaufnahme für Kondensoren (38) ansetzen, dabei gut auf unteren Anschlag aufsetzen, etwas gegen die linke Schwalbenseite drücken und mit Klemmschraube (27 Bild 10) klemmen.
- 2.8. Bertrandlinse durch Einschieben der Zugstange (43) ausschalten.
- 2.9. Objektiv 16/0,32 einschalten und mit Grob- (47) und Feintrieb (48) scharf auf Objekt einstellen.
- 2.10. Leuchtfeldblende mit Stellrad (42) schließen und mit Kondensortrieb (46) scharf einstellen. Großfeldlinse (29) darf sich nicht im Strahlengang befinden,
- 2.11. Vierkantaufsteckschlüssel (18) auf die Zentrierschrauben (24) des Kondensors (Bild 10) aufstecken und Bild der Leuchtfeldblende in Feldmitte rücken.  
Eventuell Schärfe korrigieren.
- 2.12. Bertrandlinse mit Zugstange (43) einschalten, Aperturblende mit Stellring (28) vorerst etwas schließen, mit Kopf (40) scharf auf Aperturblende einstellen, durch axiales Verschieben und Drehen der Lampe Wendel

in Aperturblende abbilden, Wendelstruktur senkrecht stellen, anschließend Aperturblende bis zur Größe des kleinen Ringes schließen.

- 2.13. Mit Zentrierschrauben (22 Bild 10) die Aperturblende zur Ringblende zentrieren.
- 2.14. Die Zentrierung muß bei Präparat- und Objektivwechsel besonders beim Arbeiten mit dem Interphakoverfahren geprüft werden.
- 2.15. Leuchtfeldblende mit Stellrad (42) öffnen, bis ihr Rand gerade aus dem Feld verschwindet.

Soll das Licht einer nicht eingebauten Lichtquelle verwendet werden, so geht man von der oben beschriebenen Zentrierung des Kondensors aus, wechselt den Filterhalter (21) gegen den Spiegeleinsatz aus und stellt die Leuchte so auf, daß ihre Leuchtfeldblende einen Abstand von  $257 \pm 10$  mm - gemessen über den Spiegel von der untersten festen Kondensorlinse - hat. Dieser Abstand muß wegen der Korrektur des Kondensors unbedingt eingehalten werden. Der Lichtstrahl wird auf die Mitte des Spiegels gerichtet, die Lichtquelle in die Aperturblende abgebildet und das Leuchtfeldblendenbild durch entsprechendes Kippen des Spiegels zentriert. Durch Betätigen der Justierschrauben an dem Lampengehäuse wird zuletzt das Lichtquellenbild zentrisch zur Aperturblende gelegt.

3. Interferenzverfahren
  - 3.1. Interphako (Bilder 10, 14 und 15)
    - 3.1.1. Einstellen der Köhlerschen Beleuchtung siehe 2.1. bis 2.8.
    - 3.1.2. Ringblendenrevolver (7) in den Ausbruch (26) des Kondensors (Bild 10) einführen, so daß die Klemmschraube (33) in der Gabel (23) des Kondensors liegt und der Paßzylinder (25) am Kondensator in die Öffnung der Bodenplatte (34 bei Spaltblende) des Revolvers einrastet.  
Revolver leicht auf Blendenaufnahme aufdrücken, wobei die Zeigefinger beider Hände auf dem Stellring für Aperturblende (28) und die Daumen auf dem Revolver liegen und anschließend mit Klemmschraube (33) klemmen.
    - 3.1.3. Ringblende für gewähltes Objektiv durch Drehen der Revolverscheibe in den Strahlengang einschalten (Ziffer, die dem Abbildungsmaßstab des Objektivs entspricht, liegt dann an dem Index (51)).
    - 3.1.4. Bertrandlinse durch Herausziehen der Zugstange (43) einschalten.
    - 3.1.5. Ringblendenschieber (13) so einschieben, daß bei Anwendung des Objektivs HI 100/1,25 der kleine, bei allen übrigen der große Ring sich im Strahlengang befindet. Durch Drehen der Tubusrohre Ringblende scharf einstellen (mit jedem Auge einzeln).
    - 3.1.6. Ringblendenbild durch Drehen des Knopfes (40) scharf einstellen.
    - 3.1.7. Ringblendenbild mit den Zentrierschrauben (22) zur Ringblende im Einsatz In zentrieren.
    - 3.1.8. Aperturblende mit Stellring (28) so weit schließen, daß nur noch der kleine Ring beleuchtet ist.
    - 3.1.9. Bertrandlinse durch Einschieben der Zugstange (43) ausschalten, Grünfilter entfernen.
    - 3.1.10. Meßstrommel für Phasenschieber (52) drehen, bis im Feld die dunkelsten der meist sehr blassen Interferenzstreifen bzw. die kräftigsten Interferenzfarben erscheinen.

- 3.1.11. Mit Knöpfen (50 und 53) die Streifen breiter stellen, bis das gesamte Feld sehr gut gleichmäßig gefärbt ist.  
Mit Knopf (53) werden horizontale Streifen so breit gezogen, daß das ganze Feld gleichmäßig gefärbt ist bzw. senkrechte Streifen entstehen. Senkrechte Streifen werden mit Knopf (50) über das gesamte Feld breitgezogen. Die gleichmäßige Färbung des Feldes kann am besten in Rot I. Ordnung beim Hin- und Herdrehen der Meßtrommel (52) beurteilt werden.
  - 3.1.12. Durch Drehen der Meßtrommel (52) ein kräftiges Blau (I. Ordnung) einstellen.
  - 3.1.13. Bertrandlinse durch Herausziehen der Zugstange (43) einschalten.
  - 3.1.14. Ringblende nochmals zentrieren (s. 3.1.7.), so daß keine weißen Ränder mehr am Ringrand zu sehen sind. Eventuell mit Knopf (40) Schärfe nochmals korrigieren (s. 3.1.6.).
  - 3.1.15. Bei Untersuchung kleinster Einzelheiten Aperturblende mit Stellring (28) so weit öffnen, daß beide Ringe beleuchtet sind.
  - 3.1.16. Bertrandlinse ausschalten.  
Das Gerät ist zur Beobachtung und Messen im Interphako bereit.
- 
- 3.2. Shearingverfahren (Bilder 10, 16 und 17)
    - 3.2.1. Einstellen der Köhlerschen Beleuchtung (s. 2.).
    - 3.2.2. Spaltblende (19) in den Ausbruch des Kondensors (26) wie unter 3.1.2. einführen.
    - 3.2.3. Drehkeilschieber (14) mit Kerbe nach oben und Knopf nach links bis zur Rast einschieben.
    - 3.2.4. Gewünschte Aufspaltung durch Drehen des Knopfes (49) am Drehkeil einstellen.
    - 3.2.5. Spalt durch Drehen der Stellschraube (32) eng stellen (Bild wird dunkler).
    - 3.2.6. Bertrandlinse durch Herausziehen der Zugstange (43) einschalten.

- 3.2.7. Spaltbild durch Drehen des Knopfes (40) scharf einstellen und Aperturblende mit Stellring (28) auf etwa  $1/3$  der vollen Objektivapertur schließen.
- 3.2.8. Knopf (50) bis Anschlag drehen.
- 3.2.9. Spalt mit Stellschraube (32) um die optische Achse so drehen, daß die Spaltbilder horizontal liegen.
- 3.2.10. Bertrandlinse mit Zugstange (43) ausschalten.
- 3.2.11. Spalt-richtung mit Stellschraube (32) vorsichtig ändern, bis die Interferenzstreifen den besten Kontrast zeigen.
- 3.2.12. Durch Drehen der Meßtrommel (52) die dunkelsten Streifen (1. und 2. Ordnung) etwa in Feldmitte stellen.
- 3.2.13. Knopf (50) so drehen, daß die Streifen immer breiter werden und schließlich das gesamte Feld die gleiche Farbe zeigt bzw. evtl. noch vorhandene Streifen senkrecht stehen.
- 3.2.14. Knopf (53) drehen, bis das ganze Feld die gleiche Farbe zeigt. 3.2.12. und 3.2.13. wiederholen. Spalt-richtung wie unter 3.2.11. korrigieren. Unter Umständen muß die Größe der Aufspaltung etwas korrigiert werden. Am besten läßt sich die Gleichmäßigkeit des Feldes in Rot I beurteilen, dabei Meßtrommel (52) immer etwas betätigen.
- 3.2.15. Spalt durch Drehen der Stellschraube (32) so weit öffnen, wie es vom Kontrast her vertragen werden kann. Das Interferometer ist jetzt zur Beobachtung und Messung im Shearing-Verfahren mit homogenem Feld bereit.

Werden bei größeren Aufspaltungen hohe Anforderungen an die Feldhomogenität gestellt und soll bei Änderung der Aufspaltung die eingestellte Farbe möglichst wenig weglaufen, so muß der Beleuchtungsspalt sehr sorgfältig zentriert werden. Dazu stellt man zunächst bei Aufspaltung 0 und streifenfreiem Feld die I. Ordnung ein, ändert bei Pupillenbeobachtung die Aufspaltung und bringt den Beleuchtungsspalt an den Ort

des Interferenzstreifens I. Ordnung.

- 3.3. Beleuchtungsgitter (Bilder 10, 16 und 17)
  - 3.3.1. Einstellen eines streifenfreien Feldes im weißen Licht bei der gewünschten Aufspaltung nach Anleitung 3.2.
  - 3.3.2. Interferenzfilter einsetzen oder monochromatische Lichtquelle einschalten.
  - 3.3.3. Spaltblende (19) gegen Gitterblendenrevolver (30) austauschen.
  - 3.3.4. Bertrandlinse mit Zugstange (43) einschalten.
  - 3.3.5. Durch Drehen der Revolverscheibe das Gitter einschalten, dessen Strichabstände den Abständen der Interferenzstreifen am nächsten kommen.
  - 3.3.6. Mit Hilfe des Drehkopfes (31) an der Revolverscheibe Gitter drehen, bis die Striche die Richtung der Interferenzstreifen haben.
  - 3.3.7. Durch Ändern der Bildaufspaltung mit Knopf (49) am Drehkeilschieber den Abstand der Interferenzstreifen dem Abstand der Gitterstriche möglichst angleichen.
  - 3.3.8. Ausschalten der Bertrandlinse mit Zugstange (43).
  - 3.3.9. Durch geringfügiges Ändern der Aufspaltung am Knopf (49) des Drehkeilschiebers und der Gitterrichtung mit Drehknopf (31) auf optimalen Kontrast einstellen.

Die besten Wirkungen werden bei kleiner Leuchtfeldblende und auf etwa  $1/3$  der vollen Objektivapertur, eingeschränkter Beleuchtungsapertur und starken Objektiven erzielt.
- 3.4. Einstellen von Interferenzstreifen

Horizontale Interferenzstreifen können mit dem Knopf (50), vertikale mit dem Knopf (53) eingestellt werden. Bei Betätigen beider Knöpfe erhält

man Interferenzstreifen jeder beliebigen Richtung. Beim Einstellen von Interferenzstreifen ist, besonders nach Betätigen des Knopfes (53), die Korrektur der Spaltrichtung durch geringfügiges Drehen des Spaltes mit Stellschraube (32) um die optische Achse nötig, um wieder optimalen Kontrast zu erhalten. Bei Verwendung der Beleuchtungsgitter ist sowohl die Gitterrichtung wie auch die Größe der Aufspaltung etwas zu korrigieren. In der Pupille sind dabei keine Streifen mehr zu sehen.

Beim Interphako können unter Anwendung des kleinen Ringes 2 bis 3 Streifen im Feld bei genügendem Kontrast eingestellt werden.

3.5. Einstellen des universellen Phasenkontrastes

3.5.1. Grundaufbau durchführen, dabei Einsatz Ph (8) in den Grundkörper (2) einsetzen (s. 1. Grundaufbau).

3.5.2. Einstellen der Köhlerschen Beleuchtung (s. 2.).

3.5.3. Ringblendenrevolver wie unter 3.1.2. beschrieben am Kondensator befestigen.

3.5.4. Ringblende für das gewählte Objektiv einschalten. [Maßstabszahl des Objektivs liegt dann an Index (51)].

3.5.5. Phasenplättchen für das gewünschte Verfahren und das entsprechende Objektiv einschalten (Symbol des entsprechenden Verfahrens liegt dann über der rechten oberen Gehäusekante)

- |                            |                            |
|----------------------------|----------------------------|
| + positiver Phasenkontrast | ○ Phasenring für Objektive |
| - negativer Phasenkontrast | 6,3; 10; 16; 25 und 40     |
| ◐ farbiger Phasenkontrast  | ○ Phasenring für Objektive |
| ● Grenzdunkelfeld          | 63 und 100                 |

3.5.6. Mit Zugstange (43) Bertrandlinse einschalten, durch Drehen der Tubusstutzen scharf auf Phasenring einstellen (mit jedem Auge einzeln).



- 3.5.7. Durch Drehen des Knopfes (40) Ringblende scharf in Phasenplättchenebene abbilden.
- 3.5.8. Mit Zentrierschrauben (22 Bild 10) am Kondensator die Ringblende zum Phasenplättchen exakt zentrieren.
- 3.5.9. Bertrandlinse mit Zugstange (43) ausschalten.

Sollen feinste Einzelheiten untersucht werden, so bleibt die Aperturblende so weit offen, daß beide Ringe wirken (normaler Kontrast), kommt es aber auf eine möglichst gleichmäßige Kontrastierung etwas größerer Einzelheiten an (besonders bei farbigem Phasenkontrast und Grenzdunkelfeld), so wird die Aperturblende so weit geschlossen, daß nur der kleine Ring wirkt (streng. Kontrast).

### 3.6. Durchführung fotografischer Aufnahmen

Aus Stabilitätsgründen ist zur Durchführung fotografischer Aufnahmen der im Bild 19 gezeigte Aufbau, bestehend aus der "MF-ST", dem Interferenzmikroskop "Interphako" und einer mikrofotografischen Einrichtung, unbedingt zu empfehlen.

Um das Licht durch die obere Öffnung zu leiten, muß durch Herausziehen der Zugstange (44 Bild 13) das Umlenkprisma (12 Bild 7) eingeschaltet werden. Auf dem oberen Schnellwechsler des Grundkörpers In Ph 160 wird, wie aus Bild 19 ersichtlich, ein monokularer gerader Tubus (56) mit Hilfe der Klemmschraube (55) befestigt und auf das obere Tubusende ein Lichtschutz L/P (57) aufgeschoben.

Die fotografischen Aufnahmen können mit allen Systemen der "MF" ("MF"-Grundkörper (59), "MF"-Belichtungseinrichtung, "MF"-Belichtungsautomatik), die am Tragarm (58) der "MF-ST" befestigt werden, in Verbindung mit den üblichen Projektiven und durch

entsprechende Anpaßstücke ansetzbare Kleinbildkameras sowie "MF"-Kameraansätzen durchgeführt werden.

Weitere Einzelheiten können aus der Druckschrift "MF" 30-605 entnommen werden.

Sollen kurze Belichtungszeiten erreicht werden (.z.B. bei Lebenduntersuchungen in der Biologie), so ist es u. U. zweckmäßiger, an Stelle einer "MF"-Belichtungsautomatik die Belichtungsmeßeinrichtung Pol zu verwenden, mit der um den Faktor 2,5 kürzere Belichtungszeiten erreicht werden.

#### 4. Hinweise zur Anwendung der verschiedenen Verfahren

- 4.1. Das Interphakoverfahren ist ein recht empfindliches Interferenz-Kontrast- und Meßverfahren, insbesondere für kleine und kleinste Objekte. Es zeichnet sich durch hohe Bildgüte und gute Bildhelligkeit aus. Die Kontrastwirkung ist in den dem neutralen Weiß benachbarten Farben (Rot I, Blau I) oder bei Anwendung eines Grünfilters dem Phasenkontrast mindestens gleichwertig. Dabei besteht durch Betätigen des Phasenschiebers die Möglichkeit der für jedes einzelne Objekt optimalen Kontrasteinstellung und des raschen Überganges von positivem nach negativem Kontrast und umgekehrt. Der wesentliche Vorteil dieses Verfahrens besteht in der Durchführung von Messungen an kleinsten Objekten, wie z.B. der biologischen Zelle und ihrer Bestandteile. Für genaue Messungen sollen die zu untersuchenden Objekte bei diesem Verfahren nach Möglichkeit den aus dem Diagramm 1a bis d für die einzelnen Objektive ersichtlichen  $\Gamma$  - Wert von 1 nicht überschreiten. Andererseits können mit dem Planachromat bzw. Achromat 100/1,25 160/0,17 Gangunterschiedsmessungen an Objekten bis herab zu 0,5  $\mu\text{m}$  Durchmesser durchgeführt werden.

4.2. Das Shearing-Verfahren bei totaler Bildaufspaltung

wird vorwiegend zur Kontrastierung und Messung größerer Objekte angewandt. Die Größe der Aufspaltung richtet sich nach der Größe der zu messenden Objekte. Sie ist immer so klein wie möglich zu wählen. Die interessierenden Einzelheiten sollen getrennt bzw. vor einem homogenen Hintergrund erscheinen. Bei unübersichtlichen Präparaten bringt die leicht veränderliche Aufspaltung große Vorteile bei der Deutung des Bildes. Am besten eignet sich das Shearing-Verfahren für Objekte mit größeren homogenen Flächen.

Bei größten Aufspaltungen - besonders mit den stärkeren Objektiven - ist es ratsam, im monochromatischen Licht mit den Beleuchtungsgittern zu arbeiten.

Um gute Kontraste zu erhalten, muß der Beleuchtungsspalt senkrecht zur Richtung der Bildaufspaltung liegen und seine Breite soll  $\leq 1/4$  eines Streifenabstandes in der Pupille betragen (bei streifenfreiem Feld). Da der Streifenabstand in der Pupille mit zunehmender Aufspaltung immer kleiner wird, muß auch die Spaltbreite immer geringer werden. Außerdem muß die Länge des Spaltes mit zunehmender Aufspaltung eingeschränkt werden.

- 4.3. Sollen Objekte mit Gangunterschieden von mehreren Wellenlängen untersucht werden, z.B. Textilfasern, so ist es zweckmäßig, die Streifenmethode anzuwenden, um aus der Versetzung oder dem Verlauf der Streifen den Gangunterschied feststellen zu können. Ist kein Verfolgen des Streifenverlaufes möglich, so kann die Zuordnung der Streifen nur auf Grund der Farbfolge im weißen Licht erfolgen. Die Streifenmethode kann auch dann angewandt werden, wenn nur eine Abschätzung des Gangunterschiedes vorgenommen werden soll.

- 4.4. Mit differentieller Aufspaltung können Objekte jeder Art untersucht werden. Besonders hervorgehoben werden dabei kleine Objekte, da nahezu ihre volle Phasendrehung im positiven und negativen Kontrast nebeneinanderliegend wirksam wird. Von großem Vorteil ist auch hier die leicht veränderliche Bildaufspaltung, deren Größe den Eigenarten des Objektes rasch angepaßt werden kann. Zu bemerken ist, daß die Detaillierbarkeit in Aufspaltungsrichtung in Abhängigkeit von der Größe der Aufspaltung etwas nachläßt. Bei größeren Objekten wird der Gradient der Phasendrehung sichtbar. Es erscheinen Flächen bestimmter Neigung oder Brechzahlgradienten bestimmter Größe in einer bestimmten Farbe oder Helligkeit, so daß mit diesem Verfahren z. B. die Neigung der Flächen von Ätzgruben u. ä. untersucht werden können. Messungen können mit diesem Verfahren nur in speziellen Fällen durchgeführt werden.
- 4.5. Die Halbschattenplatte (15 Bild 9) findet bei Arbeiten im monochromatischen Licht zur Steigerung der Meßgenauigkeit Anwendung. Ihre Phasendrehung ist kleinen Objektphasendrehungen optimal angepaßt. Die Platte mit der Phasenstufe (Halbschattenplatte in Aufnahmeschlitz (3 Bild 9) so einschieben, daß das Symbol  $\ominus$  aus dem Grundkörper herausragt) ist nur für das Shearing-Verfahren, die mit der Phasenfurche (Symbol  $\ominus$  ragt aus dem Grundkörper) vorwiegend für das Interphako-Verfahren bei Beleuchtung mit dem schmalen Ring vorgesehen.
- 4.6. Mit Hilfe der Beleuchtungsgitter des Gitterblendenrevolvers (30 Bild 10) ist beim Shearing-Verfahren eine deutliche Verbesserung der Bildqualität und der Bildhelligkeit durch Vergrößerung der Beleuchtungsapertur möglich. Ihre Anwendung fordert jedoch monochromatische Beleuchtung von etwa 8 bis 16 mm Halbwertsbreite (Interferenzfilter). Siehe auch unter 4.2.

5. Messungen mit dem Interferometer

5.1. Hinweis zur Messung

Mit dem Interferometer können Gangunterschiede gemessen werden, die das interessierende Objekt gegenüber seiner Umgebung hervorruft. Die Messung erfolgt durch Kompensation dieser Gangunterschiede mit Hilfe des Phasenschiebers.

5.1.1. Meßvorgang

Der Vorgang der Messung, der recht einfach ist, jedoch zur Erzielung genauer Meßwerte etwas Übung und Erfahrung erfordert, läuft wie folgt ab:

1. Einstellen der engsten Umgebung des Objekts mit dem Phasenschieber auf eine bestimmte Farbe in weißem Licht oder größte Dunkelheit im monochromatischen Licht.
2. Ablesen des Skalenwertes a.
3. Einstellen des Objekts auf die gleiche Farbe, die die Umgebung bei 1. zeigte oder auf größte Dunkelheit.
4. Ablesen des Skalenwertes b.

Die Differenz beider Meßwerte mit dem Eichwert  $k$  multipliziert ergibt den Gangunterschied  $\Delta$  des Objekts gegenüber der Umgebung.

$$\Delta = (b - a) k$$

Bei der Durchführung einer Meßreihe muß stets wechselweise Objekt und Umgebung angemessen werden, nicht erst mehrmals Umgebung, dann das Objekt.

Erhält man für das Objektbild (Interphako) bzw. das unverschiebbare Objektbild bei der Messung im Shearingverfahren höhere Skalenwerte, als von der Umgebung bzw. dem verschiebbaren Bild des Objektes, dann liegt die Brechzahl des Objekts höher als die der Umgebung.

Die Ablesung der Meßwerte erfolgt nur an

\*) eigene Notiz

Erhält man vom unverschiebbarem Objektbild (Nut) höhere Skalenwerte ( $\triangleleft$  links - drehend) Als vom verschiebbarem Objektbild (Nut), so gilt für die Brechzahlen  $n$

$n_{\text{fl}} > n_{\text{Umgebung (= Glas)}} \rightarrow n_{\text{Fl}} = n_{\text{Glas}} + (+\Delta/d)$   
im anderen Fall gilt  $n_{\text{Fl}} = n_{\text{Glas}} + (-\Delta/d)$

der Skale der Meßtrommel (52). In besonderen Fällen hat man darauf zu achten, ob man in steigender oder fallender Richtung über die Null hinweg gedreht hat. Bei großen Gangunterschieden muß die Anzahl der Umdrehungen berücksichtigt werden.

Wurde z. B. als erster Wert für die Umgebung auf Skalenwert 12 eingestellt und gelangt über die Null in negativer Richtung zur 84 für das Objekt, so zählt man zum ersten Wert 100 dazu und erhält 112 als ersten Einstellwert und  $84 - 112 = -28$  als Differenz. Bei jedem weiteren Nulldurchgang zählt man zum ersten Wert weitere 100 hinzu.

Im umgekehrten Fall, wenn man von z. B. 89 über die 0 in steigender Richtung einstellen muß, so zählt man zum zweiten Einstellwert für jeden Nulldurchgang 100 dazu.

#### 5.1.2. Eichwert und Richtung

Der Eichwert  $k$  für ein Skalenteil beträgt etwa 5 nm. Die genauen Werte sind für einige Wellenlängen dem beigegeführten Eichprotokoll zu entnehmen. Im monochromatischen Licht kann die Eichung jederzeit durch Verändern des Gangunterschiedes um eine oder mehrere Wellenlängen durchgeführt werden (Phasenschieber von einer Dunkelstellung des Feldes bis zur nächsten oder  $n$ -ten verstellen und  $n \cdot \lambda$  durch Differenz des Skalenswertes dividieren.)

$$k = \frac{n \times \lambda}{\text{Differenz der Skaleneinstellung}}$$

#### 5.1.3. Index bei Interferometermessungen

Die besten Bildkontraste und damit auch die besten Meßergebnisse werden im weißen Licht in den dem neutralen Weiß benachbarten Farben (Gelb, Rot, Purpur, Blau) erzielt. Das neutrale Weiß ändert bei Verstellen des Phasenschiebers seine Farbe nach beiden Seiten symmetrisch von Weiß über Strohgelb, Bräunlichgelb nach Rot, Purpur und Blau (diese Farbfolge ist bei

großer Bildaufspaltung etwas gestört). Sehr empfindlich ist der Farbumschlag von Rot nach Blau bzw. umgekehrt festzustellen und deshalb für die Messung im weißen Licht besonders gut geeignet. Als Index dient der Purpurton, der weder Rot noch Blau zeigt. Die erhaltenen Meßwerte gelten dann für die Wellenlänge  $\lambda = 550 \text{ nm}$ .

Bei kleinsten Objekten sind die Farben Purpur und Rot nicht feststellbar. Man muß hier bei der Messung vom Blau kommend den Phasenschieber so lange verstellen, bis das Objekt am dunkelsten erscheint. Wird im monochromatischen Licht gemessen, ist man leicht geneigt, die einzelnen Objektstellen nicht auf größte Dunkelheit, sondern auf größten Kontrast einzustellen. Daraus resultiert eine gewisse Unsicherheit der Meßergebnisse.

Mit der Halbschattenplatte (15 Bild 9) läßt sich dieser Mangel beheben und bei sorgfältiger Durchführung der Messungen die Meßgenauigkeit erhöhen. Zur Messung mit der Halbschattenplatte wird das Objekt so auf das Bild der Phasenkante gelegt, daß es in zwei Bereiche geteilt ist. Mit dem Phasenschieber stellt man beide Objektbereiche auf gleiche Helligkeit ein und wiederholt diesen Vorgang für das Umfeld. Die Differenz beider Einstellungen ist wiederum ein Maß für die Phasendrehung des Objekts.

#### 5.1.4. Messungen mit dem Interphako-Verfahren

Bei Messungen mit dem Interphako-Verfahren muß der Meßwert für die Umgebung in unmittelbarer Nachbarschaft des Objekts, praktisch in dem vom Phasenkontrast her bekannten Halo, gewonnen werden. Die Objektgröße soll die aus Diagramm 1a bis d ersichtliche, dem  $\Gamma$ -Wert 1 zugeordnete Größe möglichst nicht übersteigen. Aus Diagramm 2 sind die etwa zu erwartenden Meßfehler bei den verschiedenen  $\Gamma$ -Werten ersichtlich. Da diese Werte von der Objektform ab-

hängen, ist die Angabe exakter Korrekturwerte nicht möglich. Bei kleinen Objekten bleiben die durch die Deformation der Vergleichswelle verursachten Fehler verschwindend klein. Zur Vermeidung starker Halos sollten die zu untersuchenden Objekte nach Möglichkeit in ein Medium eingebettet werden, dessen Brechzahl etwa der des Objekts entspricht. Die besten Ergebnisse erhält man bei Objekten bis etwa  $120^\circ$  Phasendrehung.

5.1.5. Messung im Shearing-Verfahren von einem zum anderen Doppelbild

Mißt man bei großer Bildaufspaltung nicht gegen die Umgebung, sondern von einem der beiden Doppelbilder zum anderen, so ergibt sich, wie aus Abbildung 8a ersichtlich ist, der doppelte Wert der Objektphasendrehung und damit die doppelte Meßgenauigkeit. Dieses Verfahren ist jedoch nur anzuwenden, wenn beide Doppelbilder vor einem gleichwertigen homogenen Hintergrund erscheinen (siehe Beispiele).

5.1.6. Messung bei differentieller Aufspaltung

Sollen mit der differentiellen Aufspaltung die Neigungen von Flächen bzw. Gangunterschiedsgradienten bestimmt werden, so muß aus dem Streifenabstand in der Pupille (homogenes Feld vorausgesetzt) die Größe der Aufspaltung berechnet und in üblicher Weise der von der geneigten Fläche gegenüber der Umgebung hervorgerufene Gangunterschied gemessen werden, wobei man den Gradienten in nm pro Aufspaltungsstrecke mißt. Der Abstand der Interferenzstreifen in der Pupille ist gerade bei kleinsten Aufspaltungen eine recht empfindliche und gut reproduzierbare Größe zur Bestimmung der Aufspaltung. Aus dem mit Hilfe einer Okularmeßplatte bei monochromatischer Beleuchtung ( $\lambda = 546$  nm grüne Quecksilberlinie) gemessenen Streifenabstand  $d$  kann die Größe der Aufspaltung  $a$  in der Objektebene für die Objektiv mit dem Abbildungs-



maßstab  $\beta'$  nach der Formel

$$a = \frac{1}{d \cdot \beta'} \cdot 89,2 \quad a = \frac{1}{d \cdot \beta'} \cdot 89,2$$

in  $\mu\text{m}$  angegeben werden. (d in mm einsetzen)

#### 5.1.7. Streifenmethode

Bei der Messung von Objekten mit großem Gangunterschied wird zweckmäßig die Streifenmethode angewandt. Nach Möglichkeit soll das Objekt so präpariert sein, daß ein sicheres Verfolgen der Streifen möglich ist. Ist dies nicht zu erreichen, so muß man wegen der unvermeidlichen Dispersionsunterschiede zwischen Material und Einbettungsmittel (kann auch Luft sein) mit einer Änderung in der Farbfolge der Streifen rechnen und somit Unsicherheiten bei der Zuordnung der Streifen in Kauf nehmen.

Zur Messung mit Hilfe der Streifenmethode wird ein Strich des in das Okular PK 12,5x stellbar eingelegten Fadenkreuzes möglichst gut parallel zu den Streifen in der Umgebung des Objekts ausgerichtet. Beim Meßvorgang wird dann einer der dem neutralen Streifen benachbarten dunklen Streifen (I. Ordnung) bzw. ein dunkler Interferenzstreifen im monochromatischen Licht einmal in der Umgebung, anschließend die gleiche Stelle dieses Streifens im Objekt mit dem Strichkreuz zur Deckung gebracht. Bei totaler Bildaufspaltung kann auch hier eines der beiden Doppelbilder die Umgebung ersetzen. Es wird so eine wesentlich höhere Genauigkeit erreicht als durch direktes Ausmessen der Streifenversetzung. Soll die Phasendrehung jedoch nur abgeschätzt werden, so genügt es, die Versetzung eines Streifens in Streifenabständen, die gleichbedeutend mit Wellenlängen sind, anzugeben.

5.1.8. Messung von doppelbrechenden Objekten

Bringt man im Beleuchtungsstrahlengang ein Polarisationsfilter an, so können auf einfache Weise die Phasendrehungen doppelbrechender Objekte in verschiedenen Azimuten und daraus ihre Brechzahlen und Doppelbrechung bestimmt werden.

5.2. Meßbeispiele

5.2.1. Messung der Brechzahl kleinster biologischer Objekte an Hyphen des Pilzes Polystictus versicolor

auf Agar der Brechzahl 1,340 kultiviert. Gemessen werden soll die Brechzahl einer Vakuole und die Brechzahl eines Zellkernes.

Wegen der Kleinheit der Objekte erfolgt die Messung im Interphako. Da die Vakuole und die Hyphe einen Durchmesser von 3,7 bzw. 3,9  $\mu\text{m}$  haben, muß wegen des  $\Gamma$ -Wertes (siehe Diagramm 1a) der schmale Ring bei der Messung benutzt werden. Der Zellkern (Nucleolus) könnte dagegen mit dem breiten Ring gemessen werden. Zur Bestimmung der Brechzahl der verschiedenen Zellkomponenten muß erst die Brechzahl der umgebenden Medien ermittelt werden. Für die Vakuole ist das umgebende Medium das Protoplasma. Bei mehreren ineinandergeschachtelten Bestandteilen, z.B. dem Zellkern, erfolgt die Messung und Berechnung von außen nach innen.

5.2.1.1. Messung des Vakuoleninhalts

Meßwerte

Meßpunkt 1 Umfeld	95	95,5	96	95,5	95	<u>95,4</u>
" 2 Proto- plasma	101	101	102	101	101,5	<u>101,3</u>
" 3 Vakuole	95	95,5	95	95	95	<u>95,1</u>

Die Differenz der Einstellung zwischen Umfeld und Protoplasma beträgt:  $101,3 - 95,4 = 5,9$  Skt

Zwischen Protoplasma und Vakuole  $95,1 - 101,3 = -6,2$  Skt  
1 Skalenteil entspricht einem Gangunterschied von 5 nm,  
so daß

$$\begin{aligned}\Delta \text{ Umfeld-Protopl.} &= 29,5 \text{ nm und} \\ \Delta \text{ Protopl.-Vakuole} &= -31,0 \text{ nm betragt.}\end{aligned}$$

Nach der Gleichung

$$n_2 = n_1 + \frac{\Delta}{d}$$

mit  $d$  = Durchmesser bzw. Dicke des  
Objekts wird die Brechzahl  
des Objekts  $n_2$  berechnet.  
 $n_1$  ist die Brechzahl der  
Umgebung.

Außer  $\Delta$  muß zur Berechnung der Brechzahl der Durch-  
messer des Objekts mit der Okularstrichplatte bestimmt  
werden (Durchmesser Hyphe und Vakuole siehe oben).

Werden die Meßwerte  $d = 3,9$ ;  $\Delta = 29,5$  und  $n_1 = 1,3400$   
in die Gleichung eingesetzt, so ergibt sich die Brech-  
zahl des Protoplasmas:

$$n_{Pr} = 1,3400 + \frac{0,0295 \text{ } \mu\text{m}}{3,9 \text{ } \mu\text{m}} = 1,3400 + 0,0076 = 1,3476 \approx 1,348$$

die des Vakuoleninhaltes aus  $d = 3,7 \text{ } \mu\text{m}$ ;  $\Delta = 31,0 \text{ nm}$  und  
 $n_1 = n_{Pr} = 1,3476$  zu :

$$n_v = 1,3476 + \frac{-0,0310 \text{ } \mu\text{m}}{3,7 \text{ } \mu\text{m}} = 1,3476 - 0,0084 = 1,3392 \approx 1,339.$$

#### 5.2.1.2. Messung des Zellkernes

##### Meßwerte

Meßpunkt	1	Umfeld	52	51	51,5	52	51	<u>51,5</u>
"	2	Proto- plasma	73,5	73	72,5	73,5	72,5	<u>73</u>
"	3	Aukern	69,5	68,5	68	69	67	<u>68,4</u>
"	4	Nucleolus	77,5	78,0	76	78,5	77,5	<u>77,5</u>

Durchmesser der Bestandteile:	Hyphe	5 $\mu\text{m}$
	Außenkern	3,5 $\mu\text{m}$
	Nucleolus	2 $\mu\text{m}$

Berechnung

$\Delta$ Umf-Protoapl,	= 73,0 - 51,5 = 21,5	Skt $\underline{\underline{=}}$ 108 nm
$\Delta$ Protoapl.-Außenk.	= 68,4 - 73,0 = - 4,6	Skt $\underline{\underline{=}}$ -23 nm
$\Delta$ Außenk.-Nucleol.	= 77,5 - 68,5 = 19,0	Skt $\underline{\underline{=}}$ 95 nm

$$n_{\text{Protoapl.}} = 1,3400 + \frac{0,108}{5} = 1,3400 + 0,0216 = 1,3616 \approx 1,362$$

$$n_{\text{Außenk.}} = 1,3616 + \frac{-0,023}{3,5} = 1,3616 - 0,0066 = 1,3550 \approx 1,355$$

$$n_{\text{Nucleol.}} = 1,3550 + \frac{0,095}{2} = 1,3550 + 0,0475 = 1,4025 \approx 1,403$$

5.2.2. Bestimmung der Brechzahl und Dicke eines Glimmerplättchens (Muscovit)

Die Brechzahl und Dicke eines Objekts kann durch Einbettung in zwei verschiedene Medien ermittelt werden. Man geht von den Gleichungen

$$\Delta_1 = d(n_3 - n_1)$$

$$\Delta_2 = d(n_3 - n_2)$$

mit  $\Delta_1$  bzw.  $\Delta_2$  dem Gangunterschied bei der ersten bzw. zweiten Einbettung,  $n_1$  der Brechzahl des ersten Einbettungsmittels,  $n_2$  der des zweiten,  $n_3$  der des Objekts und  $d$  der Dicke des Objekts aus.

Aus vorstehenden Gleichungen läßt sich die Beziehung

$$n_3 = \frac{\Delta_1 n_2 - \Delta_2 n_1}{\Delta_1 - \Delta_2} \quad \text{ableiten.}$$

Die Messung des Glimmerplättchens erfolgt wegen seiner Größe im Shearing-Verfahren bei totaler Aufspaltung.

Das Objekt liegt frei in einer homogenen Umgebung, so daß von einem Doppelbild des Objekts zum anderen gemessen werden kann. Um die Vorzeichen der Differenzen übereinstimmend mit der Formel zu erhalten, mißt man zuerst das verschiebbare Doppelbild an.

Da Glimmer doppelbrechend ist, war ein Polarisator im Strahlengang vorgesehen. Beim Drehen des Polarisators konnte jedoch keine Vorzugsrichtung festgestellt werden. Die Doppelbrechung liegt bei dieser Dicke für das Interferometer unter der Nachweisgrenze und der Polarisator konnte wieder entfernt werden. Hätte man das Glimmerplättchen polarisationsoptisch orientiert, so hätte man die Doppelbrechung auch mit dem Interferenzmikroskop noch messend nachweisen können.

#### 5.2.2.1. Meßergebnisse

##### 1. Messung - Einbettungsmittel Luft mit $n_1 = 1,0000$

Verschiebb.Objektbild	32	31,5	31	31	31,5	31,4	Skt
Feststeh.Objektbild	530	530	529	528,5	529,5	529,4	Skt

##### 2. Messung - Einbettungsmittel $H_2O$ mit $n_2 = 1,3330$

---

Verschiebb.Objektbil	56,5	54,5	54	54	54,8	Skt
Feststeh.Objektbild	280	279	279	278	279,8	Skt

1 Skt  $\triangleq$  5,02 nm bei Messung im weißen Licht (s.S.27)

$$\lambda = 550 \text{ nm}$$

Da von einem zum anderen Doppelbild gemessen wurde, erhält man den doppelten Gangunterschied  $2\Delta$ .

$$2\Delta_1 = 498 \text{ Skt}$$

$$2\Delta_2 = 225,0 \text{ Skt}$$

$$\Delta_1 = 1250 \text{ nm}$$

$$\Delta_2 = 564,8 \text{ nm}$$

#### 5.2.2.2. Berechnung

$$n_3 = \frac{1,3330 \cdot 1250 - 564,8}{1250 - 564,8} = \frac{1,666,3 - 564,8}{1250 - 564,8} = \frac{1101,5}{685,2}$$

Brechzahl des Glimmerplättchens:  $n_3 = 1,608$

$$\text{Dicke : } d = \frac{\Delta_1}{n_3 - n_1}$$

$$d = \frac{1250}{1,608 - 1,00} = \frac{1250 \text{ nm}}{0,608}$$

$$d = 2,056 \text{ } \mu\text{m}$$

#### 5.2.3. Bestimmung der Brechzahlen bzw. Doppelbrechung von vorverstreckten PAS-Fasern

Für dieses Objekt kommt die Shearing-Methode mit totaler Aufspaltung und Streifen im Feld in Frage. Um die Gangunterschiede möglichst klein zu halten, ist die Faser in Immersionsöl ( $n = 1,515$ ) eingebettet. Die Faser wird horizontal ins Feld gelegt und die Aufspaltung etwas größer als der halbe Faserdurchmesser gemacht. Dabei wird die Stelle der größten Auslenkung sichtbar, aber die Aufspaltung nicht zu groß. Im Feld werden senkrechte Streifen eingestellt. Um die Streifen in der Faser gut verfolgen zu können, mußte mit dem Objektiv 40/0,65 gearbeitet werden. Zur Messung der Doppelbrechung der Faser muß ein Polarisator so im Strahlengang orientiert sein, daß die Streifen in der Faser im optimalen Kontrast erscheinen. Diese Forderung ist in zwei  $90^\circ$  zueinanderliegenden Stellungen erfüllt. In beiden Stellungen wird der Gangunterschied von einem zum anderen Doppelbild gemessen.

5.2.3.1. Meßergebnisse

1. Messung

144,0 143,5 143,0 143,5 143,0 143,4  
51,0 51,0 50,0 50,5 51,0 50,7

2. Messung

570,0 569,5 569,0 569,5 569,5  
15,0 14,5 13,0 13,5 14,0

Durohmesser der Faser 1,66 mm in der Zwischenbild-  
ebene, 100 µm des Objektmikrometers  $\hat{=}$  5,1 mm in  
der Zwischenbildebene. (Tubusfaktor 1,25x)

5.2.3.2. Berechnung

Faserdurchmesser d:

$$d = \frac{\text{Strecke d. Objektmikrometers}}{\text{Strecke d. Okularstrichplatte}}$$

$$d = \frac{100 \cdot 1,66}{5,1} = 32,5 \mu\text{m}$$

$$2\Delta_1 = 143,4 - 50,7 \text{ Skt} \\ = 93,7 \text{ Skt}$$

$$2\Delta_2 = 569,5 - 14,0 \text{ Skt} \\ = 555,5 \text{ Skt}$$

1 Skt = 5,02 nm bei Messung im weißen Licht (s.S. 27)  $\lambda \hat{=} 550\text{nm}$

$$\Delta_1 = 235 \text{ nm}$$

$$\Delta_2 = 1394 \text{ nm}$$

$$n_{2_1} = 1,5150 + \frac{0,235}{32,5} = 1,5150 + 0,0072$$

$$n_{2_1} = 1,5222 \approx 1,522$$

$$n_{2_2} = 1,5150 + \frac{1,394}{32,5} = 1,5150 + 0,0429$$

$$n_{2_2} = 1,5579 \approx 1,558$$

Die Doppelbrechung beträgt:

$$n_{2_2} - n_{2_1} = 0,036$$

Aus der Richtung des Polarisators kann angegeben werden, daß quer zur Faser die höhere, in Richtung der Faserachse die niedrigere Brechzahl wirkt.

6. Hinweise zur Anwendung des universellen Phasenkontrastes

Mit der vorliegenden Einrichtung für universellen Phasenkontrast lassen sich prinzipiell mit jedem normalen Mikroobjektiv durch einfaches Umschalten oder Auswechseln von Phasenringen, die auf Revolvern befestigt in den Einsatz Ph der Einrichtung für universellen Phasenkontrast eingeschoben werden können, folgende Verfahren verwirklichen:

positiver )  
negativer ) Phasenkontrast  
farbiger )  
Grenzdunkelfeld

Die Anwendung des positiven und negativen Phasenkontrastes ist bereits hinreichend bekannt.

Es soll kurz erwähnt werden, daß beim positiven Phasenkontrast Phasenobjekte geringer relativer Phasendrehung, deren Brechzahl höher als die der Umgebung ist, dunkler als ihre Umgebung erscheinen.

Beim negativen Phasenkontrast erscheinen derartige Objekte heller als ihre Umgebung.

Der Ring zum negativen Phasenkontrast unserer Einrichtung hat eine geringere Durchlässigkeit als der für den positiven Kontrast. Damit wird für kleine Phasendrehung eine gesteigerte Empfindlichkeit erzielt. Der negative



Phasenkontrast kann daher für optisch dünnste Präparate empfohlen werden.

Hauptanwendungsgebiet des farbigen Phasenkontrastes und des Grenzdunkelfeldes ist zur Zeit die Untersuchung von Mineral-, Salz- und Staubgemischen in der keramischen Industrie und der Sedimentpetrographie. Mit Hilfe einer besonderen Einbettungsmethode, der Farbbimmersionsmethode können unter Anwendung dieser Beobachtungsverfahren einzelne Bestandteile von Staub-, Salz- oder Mineralgemischen auf Grund unterschiedlicher Farbe in einfacher Weise schon von Hilfskräften unterschieden werden.

Beim farbigen Phasenkontrast weist das Phasenplättchen für eine mittlere Wellenlänge eine um  $360^\circ$  größere Phasendrehung als beim negativen Phasenkontrast, etwa  $450^\circ$ , auf. Für Rot beträgt die Phasendrehung des Plättchens etwa  $360^\circ$ , für Blau  $540^\circ$ . Damit wird für jede Farbe eine andere Kontrastwirkung erzielt, so daß Objekte je nach ihrer Phasendrehung unterschiedlich gefärbt erscheinen. Sorgt man durch geeignete Einbettung mit einer Flüssigkeit hoher Dispersion und geeigneter Brechzahl dafür, daß die Phasendrehung der Objekte für die einzelnen Farben merkliche Unterschiede erhält, dann kann die Farbwirkung noch gesteigert werden. Mit diesem Verfahren erscheinen Stoffe unterschiedlicher Brechzahl und Dispersion in unterschiedlichen Farben.

Beim Grenzdunkelfeld ist der "Phasenring" vollkommen undurchlässig, so daß nur das gebeugte Licht ein Bild vermitteln kann. Es handelt sich hierbei um ein besonders wirksames zentrales Dunkelfeld, denn schon bei geringer Ablenkung der beleuchtenden Strahlen durch Beugung oder Brechung am Objekt geht das zur Abbildung beitragende Licht an den Blendenringen vorbei.

Bei diesem Verfahren werden nicht nur die Kanten der Objekte, sondern mehr oder weniger große Gebiete um Kanten und Einzelheiten der Objekte sichtbar. Da die Intensität des gebeugten Lichtes stark von der Phasendrehung des Objekts abhängt, erscheinen Objekte, die für einzelne Wellenlängen unterschiedliche Phasendrehungen zeigen, mehr oder weniger intensiv gefärbt. Das Grenzdunkelfeldverfahren stellt also eine Ergänzung des farbigen Phasenkontrastes dar.

Für die 4 Verfahren sind die beiden vom Phv her bekannten Phasenringe - ein großer breiter und ein kleiner schmaler - vorgesehen.

Ist die Aperturblende im Kondensator so weit geöffnet, daß beide Ringe wirken, erhält man normalen Kontrast. Er liefert die größte Helligkeit bei bester Bildqualität. Die Kontrastwirkung dagegen ist in der Nähe von Strukturen des Objektes besonders ausgeprägt, so daß es je nach Objektgröße zu objektunähnlichen Abbildungen kommen kann, die unter Umständen Anlaß zu Fehldeutungen geben (z.B. erscheinen die am Rande von Kolonien liegenden Bakterien dunkler als die im Inneren). Beim Grenzdunkelfeld und farbigen Phasenkontrast ist mit dem normalen Kontrast auch die Wirkung der "optischen Anfärbung" beeinträchtigt.

Wird die Aperturblende so weit geschlossen, daß nur der kleine Ring wirkt, so liegt der strenge Kontrast vor. Bei ihm muß man eine geringe Einbuße an Auflösung und Helligkeit in Kauf nehmen, dafür aber breitet sich der Kontrast gleichmäßig über größere Objektbereiche, teilweise über das ganze Objekt aus und wird kräftiger. Der strenge Kontrast wird vorwiegend bei Grenzdunkelfeld und farbigem Phasenkontrast - bei denen die Farben gesättigter werden - und der Untersuchung von größeren Objekten im positiven und negativen Phasenkontrast angewendet.

Ist im Kondensator die Ringblende für das Objektiv HI 100/1,25 eingeschaltet, kann, nur durch Einschalten eines Objektivs mit einer Apertur  $< 0,35$ , ein gutes Dunkelfeld erhalten werden, so daß auf diese Weise beim Arbeiten mit der Ölimmersion ein rascher Überblick über das Phasenpräparat gewonnen wird.

Wirkung der Bedienungselemente auf Feld und Pupille

1. Interferenzfarben und -streifen

1.1. Meßstrommel 52 - Phasenschieber

Mit Meßstrommel (52) können die Interferenzstreifen meßbar verschoben, bzw. bei streifenfreiem Feld Helligkeits- oder Farbunterschiede hervorrufende Differenzen der optischen Weglängen meßbar verändert werden.

1.2. Interferenzfarben im weißen Licht (Bild 21)

Vom neutralen Weiß (0. Ordnung) ausgehend ändert sich die Farbe symmetrisch nach beiden Richtungen über die Farben der 1. Ordnung ( $\pm 1.$ ) 2. Ordnung ( $\pm 2.$ ) usw.

1.3. Interferenz im monochromatischen Licht (Bild 22)

Es tritt lediglich ein Hell-Dunkelwechsel auf. Keine Möglichkeit zur Festlegung der Interferenzordnung.

2. Knopf 50 - horizontale Interferenzstreifen

entstanden durch vertikale Pupillenaufspaltung

	Größe der Pupillenaufspaltung	Wirkung im Feld	Erforderliche Einstellung der Aperturblende
2.1.	0	Bild 23 Feld streifenmäßig gefärbt	Bild 24 große Blende möglich
2.2.	klein ( $\uparrow$ )	Bild 25 horizontale Streifen geringe vertikale Spaltung ( $\triangle$ der Größe der Pupillenaufspaltung)	Bild 26 Spaltförmig, senkrecht zur Bildaufspaltung, Spalt erscheint doppelt
2.3.	groß ( $\uparrow$ )	Bild 27 Streifen enger als bei 2.2., Bildaufspaltung größer	Bild 28 Spalt muß enger als bei 2.2. sein ( $1/4$ des Abstandes zweier Interferenzstreifen)

3. Knopf 53 - vertikale Interferenzstreifen  
entstanden durch horizontale Pupillenaufspaltung

	Größe der Pupillenaufspaltung	Wirkung im Feld	Erforderliche Einstellung der Aperturblende
3.1.		Bild 29 streifenfrei, gleichmäßig gefärbt	Bild 30 Große Beleuchtungsapertur möglich
3.2.	sehr klein (←)	Bild 31 breite senkrechte Interferenzstreifen, sehr geringe horizontale Bildaufspaltung	Bild 32 relativ breiter senkrechter Spalt, Doppelbild kaum sichtbar
3.3.	etwas größer als bei 3.2. (←)	Bild 33 Streifen enger als bei 3.2., geringe horizontale Bildaufspaltung	Bild 34 Spalt etwas enger als bei 3.2., Doppelbild wird sichtbar

4. Knöpfe 50 und 53 - Interferenzstreifen beliebiger Richtung  
entstanden durch Pupillenaufspaltung beliebiger Richtung  
K 50  $\triangleq$  Pupillenaufspaltung durch Knopf 50 R  $\triangleq$  der resultierenden Wirkung  
K 53  $\triangleq$  Pupillenaufspaltung durch Knopf 53  
Pupillenaufspaltung = Bildaufspaltung

	Größe der Pupillenaufspaltung	Wirkung im Feld	Erforderliche Einstellung der Aperturblende
4.1.	horizontal und vertikal um kleine Beträge (K 50, K 53)	Bild 35 Interferenzstreifen unter 45°, geringe Bildaufspaltung senkrecht zu den Streifen	Bild 36 Spalt in Richtung der Interferenzstreifen $\triangleq$ senkrecht zur Bildaufspaltung (R)
4.2.	horizontal wie 4.1. (K 53) <u>vertikal 0</u>	Bild 37 vertikale Interferenzstreifen, geringe horizontale Bildaufspaltung	Bild 38 Spalt vertikal

4.3.	Horizontal wie bei 4.1. (K 53) vertikal groß, mit entgegengesetzter Richtung wie 4.1. (K 50)	Bild 39 enge Streifen, senkrecht zur resultierenden Bildaufspaltung R	Bild 40 Spalt eng, senkrecht zur resultierenden Bildaufspaltung R
------	--	--	--

5. Knopf 49 - Shearingverfahren-Bildaufspaltung  
entstanden durch Verändern der Wirkung der Drehkeile

Größe der Bild- aufspaltung		Wirkung im Feld (K 50 und K 53 = 0)	Wirkung in Pupille Erforderliche Einstellung der Aperturblende
5.1.	etwa 0,1 mm in der Zwischenbild- ebene in senk- rechter Richtung (↓)	Bild 41 Feld streifen- frei Objekte erscheinen doppelt um ~ 0,1 mm versetzt	Bild 42 Interferenzstreifen mit relativ großem Abstand (horizontal) Spalt in Richtung der Interferenz- streifen, seine Breite $\leq 1/4$ des Streifenabstandes
5.2.	0	Bild 43 farbiges oder weißes Hellfeldbild	Bild 44 Pupille gleich- mäßig gefärbt, große Blende möglich
5.3.	etwa 0,4 mm in Zwischenbildebene in senkrechter Richtung (↑)	Bild 45 Feld streifen- frei Objekte doppelt um ~ 0,4 mm ver- setzt	Bild 46 enge Interferenz- streifen enger Spalt in Richtung der Interferenzstreifen

6. Knöpfe 49, 50 und 53 – Bildaufspaltung mit Interferenzstreifen

entstanden durch Kombination von Drehkeilwirkung mit Pupillenaufspaltung

K 49 Größe der Bildaufspaltung durch Knopf 49  
 K 50 Größe der Pupillenaufspaltung durch Knopf 50)  
 K 53 Größe der Pupillenaufspaltung durch Knopf 53)  
 R resultierende Bildaufspaltung

Bei K 50 und K53  $\underline{\Delta}$  Größe der Pupillenaufspaltung der Größe der Bildaufspaltung

	Bildaufspaltung K 50 = K 53 = konstant K 49 R		Wirkung im Feld	Erforderliche Einstellung der Aperturblende
6.1.	wie K 50 ~0,07 mm im Zwischenbild	horizontal ( $\underline{\Delta}$ K 53)	Bild 47 Interferenzstreifen abhängig von K 50 und K 53, kleine horizontale Bildaufspaltung	Bild 48 spaltförmig, senkrecht zur resultierenden Bildaufspaltung R
6.2.	~0,14 mm (2 mal K 50)	etwa in Streifenrichtung	Bild 49 Interferenzstreifen wie 6.1. kleine Bildaufspaltung in Streifenrichtung	Bild 50 spaltförmig, senkrecht zur resultierenden Bildaufspaltung R Spalt in Längsrichtung verdoppelt
6.3.	~0,5 mm im Zwischenbild	~0,44 mm im Zwischenbild, Richtung ~von K 49	Bild 51 Interferenzstreifen wie 6.1. Größere Bildaufspaltung in Richtung R ( $\underline{\Delta}$ etwa der Richtung von K 49)	Bild 52 enger Spalt, senkrecht zur Resultierenden R



7. Schraube 32 - Spaltrichtung - Spaltbreite  
Wirkung am streifenfreien Feld erklärt

	Spaltrichtung (Spaltbreite $\leq \lambda/4$ )	Wirkung im Feld	Spaltbreite (Spaltrichtung // zu Interferenz- streifen)
7.1.	Bild 53 parallel zu den Interferenz- streifen in der Pupille	Bild 54 kräftige Farben kontrastreiche Objekte	Bild 55 $\leq 1/4$ des Abstandes zweier Inter- ferenzstreifen in der Pupille
7.2.	Bild 56 nicht ganz parallel zu den Interferenz- streifen in der Pupille	Bild 57 Farben recht blaß Objekte kon- trastlos	Bild 58 etwas größer als der halbe Abstand zweier Interferenz- streifen
7.3.	Bild 59 unter einem relativ großen Winkel zur Rich- tung der Streifen in der Pupille	Bild 60 keine Farben und Kontraste	Bild 61 » gegen Abstand zweier Interferenz- streifen in der Pupille

8. Knopf 40 - Fokussierung des Spaltes

Die Fokussierung wirkt ähnlich wie Knopf 50. Verändert man bei bestimmter Bildaufspaltung die Fokussierung, so entstehen Streifen, ist das Feld bei defokussiertem Spalt streifenfrei, so entstehen bei Änderung der Aufspaltung (Knopf 49) Streifen. Bei großer Bildaufspaltung ist ein fokussierter Spalt Voraussetzung zur Erzielung eines homogenen Feldes.

Wirkung im Feld (K 50 und 53 = 0)		Fokussierung des Spaltes	
8.1.	Bild 62 Feld streifenfrei	Bild 63	fokussiert
8.2.	Bild 64 Feld ungleichmäßig	Bild 65	etwas defokussiert
8.3.	Bild 66 Streifen im Feld	Bild 67	stark defokussiert

9. Gitterblende - Shearingverfahren mit großer Beleuchtungs-  
\_apertur  
bei monochromatischer Beleuchtung z.B. mit Interferenzfilter

Bildaufspaltung (K 50 und 53 = 0)		Wirkung im Feld	Wirkung in Pupille
9.1.	dem Gitter ange- paßt	Bild 68 gute Bild- kontraste	Bild 69 Gitterstriche und Interferenzstreifen haben gleichen Abstand
9.2.	zu groß	Bild 70 keine Kontraste	Bild 71 Interferenzstrei- fen enger als Gitterstriche
9.3.	zu klein	Bildwirkung wie bei Bild 70 -keine Kon- traste	Bild 72 Interferenzstrei- fen haben größeren Abstand als Gitter- striche

Interphako

10. Knöpfe 50 und 53 - Wirkung bei Interphako

Ein gutes Interphakobild setzt streifenfreies Feld  
(K 50 und 53 = 0) voraus

	Stellung von Knopf 50 u. 53	Wirkung im Feld
10.1. Bild 73	stark von 0 abweichend Pupille u.U. doppelt zu sehen	ev. sind blasse Inter- ferenzstreifen - oft erst beim Betätigen des Knopfes 52 zu sehen, die kräftigsten stellt man in Feldmitte.
10.2. Bild 74	Knopf 50 richtig Knopf 53 etwas verstellbar	Im Feld sind Farbunter- schiede zwischen rechts und links vorhanden. Kontrast bereits recht gut. U.U. kann so gear- beitet werden.
10.3. Bild 75	Knöpfe 50 und 53 richtig	keine Farbunterschiede im Feld, bester Bild- kontrast

11. Schrauben 22 - Zentrierung der Kondensorblende

Knopf 40 - Fokussierung der Kondensorblende

	Zustand des Blenden- bildes	Wirkung im Feld
11.1.	Bild 77 Blende defokussiert - unscharf	Bild 76 Kontrast in einem zentralen Bezirk gut, nach außen abfallend
11.2.	Bild 79 dezentriert, Blendenbild und Ringblende im Inter- ferometer decken sich nicht	Bild 78 schlechte, eigenartig ein- seitige Kontraste
11.3.	Bild 81 zentriert und fokussiert, exakte Überdeckung von Kondensor und Interfero- meterblende	Bild 80 guter gleichmäßiger Kontrast

12. Interphako - normaler und strenger Kontrast  
Übergang durch Betätigen der Aperturblende 28

	Kontrast	Einstellung der Aperturblende
12.1.	Bild 82 normal Bild recht hell, Details sehr gut erkennbar, schmale ausgeprägte Halos, Objekt-ränder kontrastiert. Zur Messung nur für kleinste Objekte geeignet	Bild 83 Beide Ringe der Kondensorblende sind wirksam
12.2.	Bild 84 streng Bild ist dunkler als bei 12.1. Halos sind breiter und unauffälliger, Objekte gleichmäßiger kontrastiert. Zur Messung kleiner Objekte gut geeignet	Bild 85 der große Ring ist durch die Aperturblende abgedeckt, so daß nur der kleine Ring beleuchtet ist

13. Messungen Im Shearing-Verfahren

	Messung in weißen Licht	Messung im monochromatischen Licht	Meßwert und Gangunterschied $\Delta$
13.1.	Bild 86 Objektbild im Fadenkreuz auf empfindliche Farbe (Rot I, hier fast schwarz erscheinend) eingestellt	Bild 87 Objektbild im Fadenkreuz in Dunkelstellung	Meßwert a (Skt)
13.2.	Bild 88 Umfeld auf Rot I (Farbe des Objektes bei Bild 86) eingestellt	Bild 89 Umgebung in Dunkelstellung	Meßwert b (Skt) $ \Delta  =  a-b $ (Skt)
13.3.	Bild 90 Doppelbild des Objektes auf Rot I eingestellt	Bild 91 Doppelbild des Objektes in Dunkelstellung	Meßwert c (Skt) $ \Delta  =  b-c $ (Skt) $2\Delta =  a-b $ (Skt)

14. Messungen im Interphakoverfahren

im weißen Licht (auch monochromatisch möglich)

	Einstellung	Skalenwert Gangunterschied $\Delta$
14.1.	Bild 92 Umgebung in unmittelbarer Nähe des Objektes auf Rot I eingestellt	Skalenwert a (Skt)
14.2.	Bild 93 Objekt auf Rot I eingestellt	Skalenwert b (Skt) $\Delta = b - a$ (Skt)

15. Messung mit der Halbschattenplatte mit monochromatischem  
 \_\_\_\_\_ Licht

15.1. Messung im Shearingverfahren

mit Phasenstufe(☉ an einer Seite des Grundkörpers sichtbar)

Phasenstufe wird als Doppelkante sichtbar. Der Abstand des Doppelbildes der Kante hängt von der Bildaufspaltung ab

Meßwert a	Meßwert b	Gangunterschied $\Delta$
Bild 94 Das zu messende Objekt auf eine der beiden Kanten gelegt. Bereich zwischen den Kanten und die Umgebung auf gleiche Helligkeit gestellt	Bild 95 Beide Bereiche des Objektes auf gleiche Helligkeit gestellt	$ \Delta  =  a-b $ (Skt) $ \Delta  = k  a-b $ (nm) k = Eichwert (siehe Seite 26)

15.2. Messung im Interphakoverfahren

mit Phasensteg (⊖ an einer Seite des Grundkörpers sichtbar), strenger Kontrast (siehe 12.2.) erforderlich

Meßwert a	Meßwert b	Gangunterschied $\Delta$
Bild 96 Das zu messende Objekt auf eine der beiden Kanten gelegt. In engster Nachbarschaft des Objektes den Bereich zwischen den Kanten und die Umgebung auf gleiche Helligkeit gestellt- im Bild Bereich unterhalb der Kante	Bild 97 Beide Bereiche des Objektes auf gleiche Helligkeit gestellt	Berechnung wie bei 15.2.

Bildunterschriften

- Bild 1. Interferenz zweier Wellen mit verschiedenem Gangunterschied
- Bild 2. Entstehung von Interferenzstreifen durch Überlagerung zweier kohärenter Wellenzüge ( $l \gg a$ )
- Bild 3. Versetzung von Interferenzstreifen in einem Phasenobjekt
- Bild 4. Zur  $\lambda/4$  Bedingung bei Interferenz durch Überlagerung der Wellenzüge zweier nicht punktförmiger Lichtquellen
- Bild 5. Phasenbeziehungen bei Interferenz einer vom Objekt um den Betrag  $\phi$  deformierten, mit einer um den Betrag  $\psi$  phasenverschobenen ebenen Welle
- Bild 6. Phasenbeziehungen bei Interferenz einer aufgespalteten, mit einer seitlichen Verschiebung und der Phasendifferenz  $\psi$  zur Überlagerung kommenden Welle, der von einem Phasenobjekt die Phasendifferenz  $\phi$  aufgeprägt wurde (Große laterale Bildaufspaltung)
- Bild 6b. Interferenz bei geringer seitlicher Bildaufspaltung
- Bild 6c.
- Bild 7. Optikschemata des Interferenzmikroskopes "Interphako"
- Bild 8. Diagramm 1 Abhängigkeit des  $\Gamma$ -Wertes von der Objektgröße für den großen und kleinen Phasen- bzw. Blendenring
- Diagramm 2 Abhängigkeit der Deformation der ebenen Welle vom  $\Gamma$ -Wert, der Objektphasendrehung  $\phi$  und dem relativen Bildort  $P''/B''$  ( $P''/B''=0 \triangleq$  Objektmitte,  $P''/B''=1 \triangleq$  Objektrand) bei einem kreisförmigen Objekt
- Bild 9. Gesamtausrüstung
- Bild 10. Kondensor und Blendeneinheiten
- Bild 11. Grundaufbau
- Bild 12. -
- Bild 13. Zur Einstellung des Köhlerschen Beleuchtungsprinzips
- Bild 14. -
- Bild 15. Einstellung des Interphako-Verfahrens

- Bild 16. -
- Bild 17. Einstellung des Shearing-Verfahren
- Bild 18. Aufbau bei universellen Phasenkontrast
- Bild 19. Aufbau zur Anfertigung fotografischer Aufnahmen bestehend aus der "MF-ST", dem Interferenzmikroskop, "Interphako" geradem monokularem Tubus, dem "MF-Grundkörper" und einer Kleinbildkamera
- Bild 20. Zubehörbehälter für Interferenzmikroskop "Interphako"



Erläuterung der Bezugswahlen der Bilder 9-19

1	Stativ Nf	28	Stellring für Aperturblende
2	Grundkörper InPh 160	22	Großfeldlinse
3	Aufnahmeschlitz für Halbschattenplatte	30	Gitterblendenrevolver In
4	Einsatz In	31	Drehknopf für Gitterblenden
5	Aufnahmeschlitz für Drehkeile und Ringblenden	32	Stellschraube des Spaltes
6	Binokularer gerader Tubus 23,2/120	33	Klemmschraube
7	Ringblendenrevolver In/Ph 160	34	Ausdrehung der Bodenplatte der Spaltblende
8	Einsatz Ph	35	Ausbruch des Grundkörpers In/Ph 160
9	Aufnahme für Phasenringrevolver	36	Tubusträgerkopf
10	Klemmschraube für Phasenringrevolver	37	Klemmschraube
11	Phasenringrevolver pos/neg	38	Schwalbenaufnahme für Kondensoren
12	Phasenringrevolver farbig/Dunkelfeld	39	Aplan. achrom. Kondensator 0,8 xe
13	Ringblendenschieber	40	Knopf zur Pupillenfokussierung
14	Drehkeil	41	Zentrierschrauben für Leuchtfeldblende
15	Halbschattenplatte	42	Stellrad für Leuchtfeldblende
16	Staubschutzschieber	43	Zugstange für Bertrandlinse
17	Filter VG 9	44	Zugstange für Umschaltprisma
18	Vierkantaufsteckschlüssel	45	Klemmschrauben für Einsatz In
19	Spaltblende In, stellb.	46	Kondensortriebknopf
20	Steckschlüssel	47	Grobtrieb
21	Filterhalter (mit Linse)	48	Feintrieb
22	Zentrierschraube für Aperturblende	49	Knopf zur Bildaufspaltung
23	Gabel	50	Knopf zur Einstellung horizontaler Interferenzstreifen
24	Zentrierschrauben für Kondensator	51	Index
25	Paßzylinder	52	Meßtrommel für Phasenschieber
26	Ausbruch des Kondensators	53	Knopf zur Einstellung vertikaler Interferenzstreifen
27	Klemmschraube		

- 54 Säule
- 55 Klemmschraube des  
Schnellwechsels
- 56 Monokularer gerader  
Tubus 23,2/120
- 57 Lichtschutz L/P
- 58 Tragarm
- 59 "MF" - Grundkörper



# VEB Carl Zeiss JENA

---

Vertriebsabteilung Mikroskope

Fernsprecher: Jena 2 70 42

Fernschreiber: Jana 058 8622

Druckschriften-Nr. **30-G 305-1**

V-14-6 0,5 M(p)G 7-306-67