

PHASENKONTRAST

ZEIS

Die Bilder sind nicht in allen Einzelheiten für die Ausführung der Geräte maßgebend. Für wissenschaftliche Veröffentlichungen stellen wir Druckstöcke der Bilder oder Verkleinerungen davon soweit sie vorhanden sind — gern zur Verfügung. Die Wiedergabe von Bildern oder Text ohne unsere Genehmigung ist nicht gestattet. Das Recht der Übersetzung ist vorbehalten.



Abteilung für Mikroskopie

Drahtwort: Zeisswerk Jena

Fernsprecher 3541



Es ist die Aufgabe der Mikroskopie, kleinste Objekte und Objektstrukturen dem Auge möglichst objekttreu sichtbar zu machen. Für Objekte, die sich von der Umgebung durch ihre Absorption unterscheiden (sog. Amplitudenobjekte), ist das — wie Abbe gezeigt hat — immer dann möglich, wenn die Apertur des Objektivs groß genug ist, die Objektstrukturen aufzulösen. Hierher gehören z. B. gefärbte histologische Schnitte und Ausstriche oder Streupräparate von Kieselalgen in Luft. Anders ist es bei solchen Objekten, die sich von der Umgebung nur durch eine abweichende Brechzahl unterscheiden (sog. Phasenobjekte), wie ungefärbte Gefrierschnitte oder Deckglaspräparate von lebenden Bakterien oder von Infusorienaufschwemmungen. Letztere bleiben im normalen Hellfeldbild unsichtbar, da sie sich in ihrer Helligkeit nicht von der Umgebung unterscheiden.

Hier setzt das von dem holländischen Physiker Zernike¹) 1932 angegebene und von ihm theoretisch begründete Phasenkontrastverfahren ein, das in all seinen Punkten auf der konsequenten Anwendung der Abbeschen Theorie von der Bildentstehung im Mikroskop auf Phasenobjekte beruht und zuerst im Jenaer Zeisswerk von A. Köhler und W. Loos in die mikroskopische Praxis eingeführt worden ist. Mit Hilfe dieser Methode wird die von der Umgebung abweichende Brechzahl im Phasenobjekt in eine von der Umgebung abweichende Helligkeit im Bild des Phasenobjektes verwandelt. Zum tieferen Verständnis des Verfahrens muß zunächst das Wesen der Abbeschen Theorie erläutert werden.

Ihre physikalische Grundlage bildet das Huygenssche Prinzip der Lichtausbreitung und die daraus abgeleitete Beugung des Lichtes. Nimmt man einen Lichtpunkt in der vorderen Kondensorbrennebene an, so wird die Objektebene von einem parallelen Lichtbündel getroffen und jede Inhomogenität in ihr, hervorgerufen durch die von der Umgebung

¹⁾ siehe Nachwort



abweichende Absorption oder durch die Brechzahl, erzeugt in der hinteren Brennebene des Objektivs eine Fraunhofersche Beugungsfigur der Lichtquelle. Da deren Ausdehnung im umgekehrten Verhältnis zur Objektgröße steht, ist sie bei einem hinreichend kleinen Objekt weit auseinandergezogen, während die von der genügend großen Begrenzung des ausgeleuchteten Feldes erzeugte Beugungsfigur sich auf das geometrische Bild der Lichtquelle zusammenzieht (Bild 1). Diese entspricht also dem direkten, vom Objekt unbeeinflußten Licht. Die gesamte Beugungserscheinung in der hinteren Brennebene bezeichnet Abbe als das primäre Zwischenbild. Das eigentliche Zwischenbild in der Bildebene (nach Abbe: sekundäres Zwischenbild) entsteht dann durch Überlagerung (Interferenz) der von den beiden obenerwähnten Beugungsfiguren herrührenden Lichterregung. Daß die Beugungserscheinung in der hinteren Objektivbrennebene für die Bildentstehung wesentlich ist, hat Abbe durch seine Diffraktionsversuche auch experimentell bewiesen. Er benutzte für seine Versuche als Objekt ein Amplitudengitter (gewöhnliches Strichgitter) und konnte zeigen, daß man durch einen geeigneten Eingriff in der hinteren Brennebene ein objektunähnliches Bild erhalten kann. Diese Erkenntnis hat Zernike zur Sichtbarmachung von Phasenobjekten ausgenutzt. Das Phasenkontrastverfahren ist also im Abbeschen Sinn eine objektunähnliche Abbildung. Das Wesen des Verfahrens läßt sich am besten mit Hilfe der Vektorschreibweise klarmachen.



Bild 1. Abbildung der Lichtquelle

300386/1 a T

Ein Vektor ist eine gerichtete Größe, d. 2., erst durch Angabe von Betrag und Richtung ist er eindeutig festgelegt. Man kann ihn durch einen Pfeil darstellen sowie in Komponenten zerlegen; er wird mit einem deutschen Buchstaben bezeichnet. Beispiele aus der Physik sind die Geschwindigkeit v und die Kraft $\hat{\mathcal{K}}$.



Idealisiert man nun die von einer Lichtquelle ausgesandten Wellenzüge als unendlich ausgedehnte Sinuswellen, so kann man diese in bekannter Weise mit Hilfe eines mit konstanter Geschwindigkeit umlaufenden Pfeiles darstellen, den wir den Lichtvektor nennen wollen (Bild 2).



Bild 2. Darstellung einer Sinuswelle

300390/1 a T

Der Schwingungszustand kann also an jeder Stelle und zu jeder Zeit durch einen Lichtvektor dargestellt werden. Die Intensität ist dann gegeben durch das Quadrat des Betrages $J = |\mathfrak{r}|^2 = a_0^2$.

Das von einer punktförmigen Lichtquelle in der vorderen Brennebene des Kondensors herrührende Parallellichtbündel entspricht einer ebenen Welle und hat deshalb in der gesamten Objektebene die gleiche Phasenlage; man kann das mit Pfeilen gleicher Rich-



Bild 3 300 388/aT Lichtvektoren in der Objektebene

tung andeuten (Bild 1). Vorausgesetzt, daß zunächst kein Präparat aufgelegt wird, tritt dann nur eine Beugung an der Lichtbündelbegrenzung ein. Da der Durchmesser des benutzten Lichtbündels immer groß gegen die Lichtwellenlänge ist, hat die Beugungsfigur nur eine sehr geringe Ausdehnung; die Lichtquelle wird in die hintere Objektivbrennebene abgebildet. Befindet sich nun in der Objektebene eine kleine Inhomogenität, so haben sich hinter dieser Stelle Richtung und Länge des Lichtvektors gegenüber der homogenen Umgebung verändert, je nachdem,



ob es sich um eine Stelle unterschiedlicher Brechzahl oder unterschiedlicher Absorption handelt. Im allgemeinen wird beides der Fall sein. Dieser veränderte Vektor \mathfrak{r} läßt sich, wie in Bild 3 angedeutet, zusammensetzen aus einem Vektor \mathfrak{r}_u , der dem ungestörten Licht entspricht, und einem durch die Störung hervorgerufenen Zusatzvektor \mathfrak{r}_z .

Dieser Zusatzvektor entspricht somit dem an dem kleinen Objekt abgebeugten Licht. Wir haben also jetzt in der hinteren Objektivbrennebene im Brennpunkt das Bild der Lichtquelle, hervorgerufen durch das ungestörte Licht, und — je nach Größe des Objektes — eine von letzterem herrührende mehr oder weniger ausgedehnte Beugungsfigur der Lichtquelle, die dem Zusatzvektor zugeordnet ist (Bild 4). Da nun alle Strahlen, die zur Abbildung des kleinen Objektes beitragen, die gleiche optische Weglänge haben, setzen sich die Vektoren \mathfrak{r}''_u und \mathfrak{r}''_z in der Bildebene in der gleichen Weise zusammen wie die entsprechenden Vektoren \mathfrak{r} und \mathfrak{r}_z unmittelbar hinter dem Objekt.



Bild 4. Phasenkontrastmikroskopische Abbildung eines Phasenobjektes 300391/1 a T

Daß das Auge nur Amplituden-, aber keine Phasenunterschiede wahrnimmt, folgt daraus, daß ein reines Phasenobjekt im normalen mikroskopischen Bild unsichtbar bleibt, denn in diesem Fall ist $|\mathbf{r}| = |\mathbf{r}_u|$ bzw. $|\mathbf{r}'| = |\mathbf{r}'_u|$. Wenn es gelänge, den Vektor \mathbf{r}'_u oder \mathbf{r}'_z so zu drehen, daß beide gleich oder entgegengesetzt gerichtet wären, so würde man an der Stelle des Bildes einen größeren oder kleineren resultierenden Vektor erhalten, d. h. größere oder kleinere Amplitude und damit größere oder kleinere Helligkeit als in der



Umgebung. Auf diese Weise hätte man das Phasenobjekt im Bild sichtbar gemacht. Daß dies möglich ist, hat Zernike in konsequenter Anwendung der Abbeschen Theorie auf nichtabsorbierende Objekte gezeigt.

Da in der Mikroskopie nur kleine Objekte interessieren, hat die von ihnen hervorgerufene Beugungsfigur stets eine erhebliche Ausdehnung, so daß bei genügend kleiner Lichtquelle deren Bild in der hinteren Brennebene die genannte Beugungsfigur nur wenig überdeckt und man beide weitgehend getrennt beeinflussen kann. Bei der anschaulichen Erklärung wollen wir uns hier auf Phasenobjekte mit sehr kleinen Phasenänderungen beschränken. Dann steht der Zusatzvektor fast senkrecht auf dem ungestörten Vektor, so daß man nur im geometrischen Bild der Lichtquelle ein Plättchen anzubringen braucht, das die Phase des letzteren um $\pm 90^{\circ}$ dreht (Bild 4).



Bild 5. Phasenkontrastmikroskopische Abbildung eines Amplitudenobjektes 300 389/a

In der Darstellung ist der positive Kontrast gezeichnet (die durch das Phasenplättchen hervorgerufene Phasenänderung ist — 90°), Stellen größerer Brechzahl erscheinen dunkler als die Umgebung. Bei kleinen Phasenänderungen ist der Zusatzvektor bedeutend kleiner I als der ungestörte Vektor, so daß sich der Betrag des resultierenden und des ungestörten Vektors, also $|\mathbf{r}'|$ und $|\mathbf{r}'_u|$, und damit auch die Helligkeit im Bild des Objektes nur wenig von der der Umgebung unterscheiden. Aus diesem Grund gibt man dem Phasenplättchen gleichzeitig eine absorbierende Wirkung und kann so den Betrag des resultierenden Vektors bis auf Null herabdrücken, d. h. völlige Dunkelheit im Bild des Objektes erreichen. Man muß allerdings in Kauf nehmen, daß kleine Amplitudenobjekte im Bild verschwinden oder noch heller erscheinen als die Umgebung; das ergibt sich ohne weiteres aus der Darstellung in Bild 5, die analog der in Bild 4 gegebenen ist.



Es können also grundsätzlich nicht gleichzeitig Phasen- und Amplitudenobjekte mit maximalem Kontrast abgebildet werden.

Bei der bisherigen Beschränkung auf kleine relative Phasenänderungen im Objekt hat sich eine durch das Phasenplättchen hervorgerufene Phasenänderung von 90° als am günstigsten erwiesen, da in diesem Fall der Zusatzvektor im Objekt nahezu senkrecht auf dem ungestörten Vektor steht (Bild 4). Für größere relative Phasenänderungen im Objekt trifft das nicht mehr zu. Hier sind andere, von 90° abweichende Phasenänderungen im Phasenplättchen am günstigsten, auch seine günstigste Durchlässigkeit ist dann vom Objekt abhängig. Streng genommen wäre zur Erzielung optimalen Kontrastes für jedes Objekt ein Phasenplättchen ganz bestimmter Durchlässigkeit und Phasenänderung erforderlich. Diese Forderung führte zu dem von einigen Autoren vorgeschlagenen variablen Phasenkontrast. Durch geeignete Kombination von Polarisatoren mit einem doppelbrechenden Kristallplättchen kann man die Phasenänderung und Durchlässigkeit kontinuierlich verändern.

Praktisch ist dieser an sich gute Vorschlag allerdings von geringer Bedeutung, und zwar aus folgenden Gründen:

- 1. Es hat sich gezeigt, daß man in 90% bis 95% aller Fälle für jedes Objektiv mit einem festen Phasenplättchen von 90° Phasenänderung bei einer Durchlässigkeit von 25% auskommt. Diese Tatsache kann damit begründet werden, daß bei der Phasenkontrastabbildung nur Objekte mit sehr kleiner relativer Phasenänderung interessieren, da andere meist schon so stark absorbieren, daß sie auch im Hellfeld ganz gut zu beobachten sind.
- 2. Das Mikroskop ist gegenüber Eingriffen in den Strahlengang äußerst empfindlich (darauf beruht ja gerade das Phasenkontrastverfahren). Man muß darum stets bemüht sein, möglichst wenig zusätzliche, optisch wirksame Mittel in den Strahlengang hineinzubringen und sie mit äußerster Präzision anzufertigen. Bei der erwähnten Einrichtung zum Erzielen variablen Phasenkontrastes dürfte sich das kaum realisieren lassen, so daß besonders bei starken Objektiven auf jeden Fall eine Bildverschlechterung zu erwarten ist.



Bei der praktischen Anwendung tritt noch eine weitere Komplikation hinzu. Da zur Erzielung ausreichender Bildhelligkeit die Lichtquelle und damit auch das Phasenplättchen eine gewisse Ausdehnung haben müssen, wird stets ein Teil der vom Objekt herrührenden Beugungsfigur vom Phasenplättchen mit beeinflußt. Das führt im Bild eines Phasenobjektes zu Strukturen, die im Objekt selbst nicht vorhanden sind. Es entstehen helle Höfe um das Phasenobjekt und Aufhellungen in seinem Innern. Man muß also der Aperturblende und damit auch dem Phasenplättchen eine solche Form geben, daß der störende Einfluß bei möglichst großer leuchtender Fläche möglichst klein wird. Diese Bedingungen werden vom Kreisring am besten erfüllt. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß alle bisher auf dem Markt erschienenen Nachbauten unseres Jenaer Phasenkontrastgerätes die Ringblende und das ringförmige Phasenplättchen benutzen. Außerdem ist es an Hand der gegebenen Erklärung leicht einzusehen, daß der störende Einfluß mit kleiner werdendem Objekt und schmalerem Phasenring immer geringer wird.



Bild 6. Köhlersches Beleuchtungsprinzip

300 387/1 a T

Diese kritischen Betrachtungen können auf keinen Fall die Bedeutung des Phasenkontrastverfahrens vermindern, im Gegenteil, erst wenn man die Wirkung des Verfahrens genau kennt, ist man weitgehend gegen Fehldiagnosen auf Grund der erhaltenen Bilder gesichert.

In diesem Zusammenhang soll noch besonders darauf hingewiesen werden, daß es bei weniger bekannten Objekten unbedingt erforderlich ist, jedem Phasenkontrastbild das Hellfeldbild gegenüberzustellen. Für den Erfolg des Phasenkontrastverfahrens zeugen die vielen wissenschaftlichen Veröffentlichungen der letzten Zeit.





Bild 7 300 385/a Ringförmiges Phasenplättchen in der bildseitigen Brennebene des Objektivs

Zur praktischen Durchführung des Verfahrens legt man das Köhlersche Beleuchtungsprinzip (Bild 6) zugrunde. Zunächst erreicht man damit die gleichmäßige Ausleuchtung eines scharf begrenzten Teiles der Objektebene und außerdem die erforderliche Abbildung der Aperturblende in die hintere Objektivbrennebene, und zwar auf folgende Weise:

Die Lichtquelle wird mit Hilfe einer Kollektorlinse in die vordere Kondensorbrennebene (Aperturblendenebene) und gemeinsam mit der Aperturblende durch Kondensor + Objektiv in die hintere Objektivbrennebene abgebildet. Das hier angeordnete Phasenplättchen wird so ausgeführt, daß es nach Justierung der

Aperturblende deren Bild gerade überdeckt. Zur Begrenzung des ausgeleuchteten Objektfeldes wird unmittelbar hinter der Kollektorlinse eine als Iris ausgeführte Leuchtfeldblende angebracht und mit Hilfe des Kondensors in die Objektebene abgebildet.



Bild 8 Phasenkondensor

von oben

von unten

300 009/a

Bild 9. Forschungsmikroskop "Lumipan" mit Phasenkontrasteinrichtung

300 394

ě







Bild 10. Ringblendenzentrierung

300 384/a

Zur Einstellung des Köhlerschen Prinzips legt man ein gewöhnliches Durchlichtpräparat auf den Tisch des Mikroskops, stellt, nachdem die Beleuchtung grob eingerichtet ist, auf das Präparat scharf ein und verstellt dann den Kondensor in der Höhe, bis die Leuchtfeldblende gleichzeitig mit dem Präparat scharf erscheint. Dann wird sie so weit geöffnet, bis das Sehfeld gerade ausgeleuchtet ist.

Da für die zur Phasenkontrastbeobachtung benutzten Objektive infolge ihrer verschiedenen Aperturen Phasenplättchen (Bild 7) verschiedener Abmessungen nötig sind, mußten



Bild 11. Hilfsmikroskop 300 010/b

auch Aperturblenden verschiedener Abmessungen vorgesehen werden. Hierfür sind zwei Lösungen gefunden worden: einmal der Blendenrevolver (Bild 8), der in einer etwa in der Aperturblendenebene liegenden Revolverscheibe die verschiedenen Blenden trägt, zum anderen die veränderliche Abbildung mit Hilfe eines pankratischen Systems unter dem Kondensor, wie ihn das "Lumipan" (Bild 9) als erstes Mikroskop besaß. Voraussetzung für das Erzielen eines einwandfreien Phasenkontrastbildes ist die genaue Justierung des Ringblendenbildes (Bild 10). Dazu ist einmal notwendig, daß immer die zum benutzten Objektiv passende Ringblende eingeschaltet wird, andererseits muß eine Zentriermöglichkeit für die Ringblendenbilder vorhanden sein. Um die an sich bei Zeiss-Geräten schon bis zur höchsten Vollendung gesteigerte Zentriergenauigkeit der Objektive nicht durch eine willkürlich bedienbare





Zentrierung zu beeinträchtigen, wurde die Zentriermöglichkeit für die Ringblendenbilder in den Kondensor gelegt. Beim Zeiss-Phasenkondensor erfolgt sie mit der bewährten Dreipunktzentrierung, beim Lumipan mit der Exzentereinrichtung der Aperturblende.

Zum Beobachten der Zentrierung dient das zu jeder Phasenkontrasteinrichtung gehörende Hilfsmikroskop (Bild 11), mit dem das Ringblendenbild und der Phasenring in der hinteren Brennebene des Objektivs betrachtet werden können (Bild 10).

Obwohl die von uns benutzten Phasenplättchen für den gesamten sichtbaren Spektralbereich brauchbar sind, also mit Hilfe unserer Phasenkontrasteinrichtung Phasenstrukturen in beliebig gefärbten Objekten sichtbar gemacht werden können, empfiehlt es sich, um die letzten Feinheiten herauszuheben, einen beschränkten Spektralbereich zur Beobachtung zu verwenden. Da grünes Licht für das Auge am angenehmsten ist, wird jeder Phasenkontrasteinrichtung ein Lichtfilter mit dem Durchlässigkeitsmaximum bei 550 m μ beigegeben.

Voraussetzung für das erfolgreiche Arbeiten mit dem Phasenkontrastgerät ist eine Mikroskopierleuchte mit Kollektor und Irisblende wie die von uns gefertigten Typen D und E sowie ein Mikroskop mit in der Höhe verstellbarem, auswechselbarem Kondensor wie unsere L-Stative. Am Forschungsmikroskop Lumipan ist die Forderung nach einer optisch einwandfreien Leuchte mit der eingebauten Beleuchtung erfüllt, die Auswechselbarkeit des Kondensors ist im Hinblick auf das pankratische System hinfällig.

Folgende Teile bilden somit die Zeiss-Phasenkontrasteinrichtung für normale Mikroskope (Bild 13):

- Phasenkondensor, ein Trockenkondensor n. A. 0,65, mit Blendenrevolver einschließlich 4 Ringblenden und 2 freier Durchgänge
- Phasenobjektive Achromat Ph 10/0,30; Ph 20/0,40; Ph 40/0,65; Ph 90/1,25 H. I, durch ein roteingelegtes Ph als solche gekennzeichnet
- 3. Hilfsmikroskop
- 4. Gelbgrünfilter

Der Kondensor enthält eine Irisblende, so daß er beim Einschalten eines freien Durchgangs des Blendenrevolvers wie jeder Trockenkondensor zum Beobachten im Hellfeld



Bild 13. Zeiss-Phasenkontrasteinrichtung für normale Mikroskope



und im polarisierten Licht sowie zur Lumineszenzmikroskopie zu benutzen ist. Die vier Objektive sind ihrer Korrektion nach Achromate und auch für gewöhnliche Hellfeldbeobachtung anwendbar.

An Stelle des auf Bild 13 gezeigten Phasenkondensors wird künftig der Phasenkondensor mit Einzelzentrierung (Bild 14) treten. Er hat gegenüber der jetzigen Ausführung den wesentlichen Vorteil, daß die Ringblenden für das jeweils zu benutzende Ph-Objektiv einzeln zentriert werden können; außerdem ist die Stellung der Aperturblende an einer Teilung bequem abzulesen.

Die Phasenkontrasteinrichtung für das "Lumipan" (s. Bild 9) enthält an Stelle des nichterforderlichen Phasenkondensors eine Ringblende, die in den Farbglashalter über der Aperturblende eingesetzt wird. Im übrigen gleichen sich die beiden Ausrüstungen völlig.

Die schon in die Hunderte gehenden wissenschaftlichen Arbeiten, die mit dem Phasenkontrastmikroskop durchgeführt worden sind, lassen klar die Bedeutung dieser Methode erkennen. Sie beruht im wesentlichen auf folgenden Punkten:

Das Phasenkontrastverfahren erlaubt die Beobachtung lebenden bzw. überlebenden Materials ohne die bisher für diese Zwecke notwendigen zweifelhaften Hilfsmittel. Da lebende Objekte häufig eine ihrem umgebenden Medium sehr ähnliche Brechzahl aufweisen und meist auch nicht sehr eindrucksvoll gefärbt sind, ergab die Hellfeldbeobachtung in diesem Fall außerordentlich kontrastarme Bilder. Man suchte den Kontrast zu steigern, indem man die Aperturblende zuzog, außerhalb der besten Schärfe einstellte oder Vitalfärbungen anwandte. Alle diese Verfahren haben erhebliche Nachteile: Das Zuziehen der Aperturblende beschränkt die Beleuchtungsapertur und setzt damit das Auflösungsvermögen erheblich herab, das Einstellen außerhalb der besten Schärfe ergibt logischerweise unscharfe Bilder, und die Vitalfärbung stellt einen letztlich unkontrollierbaren Eingriff in den Lebenslauf des Objektes dar.

Bei der häufig angewandten Dunkelfeldbeobachtung sieht man nur die äußeren Umrisse eines Phasenobjektes und kann also auf Grund des Dunkelfeldbildes nicht auf seine innere Struktur schließen.

Das Phasenkontrastverfahren ermöglicht die Lebendbeobachtung des Objektes im natür-



Bild 14. Zeiss-Phasenkondensor mit Einzelzentrierung

300 383/a

lichen, umgebenden Medium. Bei einigermaßen behutsamer Behandlung kann man das Beobachtungsmaterial weiter kultivieren und so z. B. Entwicklungsvorgänge im Leben studieren. Solche Arbeiten sind z. B. mit Bakterien-, Pilz- und Gewebekulturen möglich sowie bei Abstrichen, Ausstrichen, Klatsch- und Quetschpräparaten mannigfacher Objekte.

Auch Hand- und Gefrierschnitte unfixierter Gewebe sind für die Phasenkontrastbeobachtung gut geeignet. Es ist also verständlich, daß die phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen hauptsächlich den Gebieten der Biologie, Medizin und Mikrobiologie entstammen.



So wurden mehrfach Zellteilungsvorgänge untersucht und gefilmt, Sperma-Untersuchungen durchgeführt sowie Mitochrondrien und Golgiapparate beobachtet.

Besonderes Interesse ist der phasenkontrastmikroskopischen Untersuchung bösartiger Geschwülste zugewandt worden. Mehrere Arbeiten beschäftigten sich mit der Anwendung des Phasenkontrastmikroskops in der normalen und pathologischen Histologie; dabei wurde festgestellt, daß das Phasenkontrastverfahren unter Umständen auch in gefärbten Präparaten mehr Einzelheiten innerhalb gefärbter Komplexe zeigt als die Hellfeldbeobachtung.

Ferner sind viele Arbeiten über Phasenkontrastbeobachtungen an lebenden Bakterien veröffentlicht worden, und neuerdings erweist sich auch die phasenkontrastmikroskopische Untersuchung von frischem Blut als erfolgversprechend.

In der Entomologie hat sich das Phasenkontrastverfahren bei der Beobachtung und systematischen Bestimmung kleinster Objekte, wie Milben, Mallophagen u. a., bewährt. In diesen durchsichtigen Objekten zeigt das Phasenkontrastmikroskop feinste Haare und Borsten sowie systematisch wichtige Chitin Strukturen deutlicher als jedes andere Gerät.

Die Paläontologie benutzt das Phasenkontrastmikroskop z. B. zur Pollenanalyse, und in der Erforschung der Struktur der Kohle hat seine Anwendung ebenso zu neuen Ergebnissen geführt wie in der Faser- und Textilforschung.

Auch zur Untersuchung von Oberflächen ist das Phasenkontrastverfahren herangezogen worden, indem man an Gläsern vor allem die Politur optischer Flächen untersucht sowie von undurchsichtigen Objekten Kollodium- oder Lackabzüge nimmt und im Durchlicht beobachtet. Ebenfalls ist die Phasenkontrastmethode auf dem Gebiet der mineralogischen sowie der Erz- und Metallmikroskopie angewandt worden, wo man an Dünnschliffen und mit Hilfe von Lackabzügen Untersuchungen vornimmt.

Diese kurze, keineswegs erschöpfende Zusammenfassung der Einsatzmöglichkeiten des Phasenkontrastmikroskops zeigt, daß dieses Gerät im Lauf von 13 Jahren zum unentbehrlichen Werkzeug der Mikroskopie geworden ist. Eine Zusammenstellung uns bisher bekannt gewordener Veröffentlichungen auf dem Gebiet der Phasenkontrastmikroskopie gibt unsere Druckschrift CZ 30-L304a-1 "Schrifttumsverzeichnis über Phasenkontrastmikroskopie".



Nachwort

Im November 1953 hat Prof. Zernike, Groningen, den Nobelpreis für Physik für sein Phasenkontrastverfahren erhalten. Es sind seitdem verschiedene Notizen zu diesem Thema veröffentlicht worden, die nicht immer den Sachverhalt in seiner historischen Entwicklung richtig darstellen. Daher erscheint es uns zweckmäßig, auf Grund der uns vorliegenden Unterlagen die Entwicklung der Methode und der zu ihrer Durchführung erforderlichen Geräte geschichtsgetreu wiederzugeben.

Die theoretischen Grundlagen des Phasenkontrastverfahrens wurden uns bereits in den Jahren 1932 und 1933 von Prof. Zernike mitgeteilt bzw. in Jena vom Erfinder an Hand einiger Versuche an geeigneten Objekten demonstriert. Weiter wurden in den Jahren 1933 und 1934 grundlegende Arbeiten darüber von Prof. Zernike in verschiedenen Zeitschriften veröffentlicht. (Handelingen van het XXIVe Ned. Natuur- u. Geneskundig Congr. 18 bis 20. April te Wagenlingen [1933]; Physica 1934; Z. f. Physik 1934 usw.) Das Patent zu diesem Verfahren (DRP 636 Kl. 24 H Gr. 610) wurde im Mai 1935 der Firma Carl Zeiss, Jena, erteilt.

Zwischen diesem Zeitpunkt und der praktisch brauchbaren Durchführung des Verfahrens am Mikroskop bzw. bis zum Vertrieb einer verkaufsfähigen Einrichtung im Jahr 1941 lag ein verhältnismäßig großer Zeitraum. Er bedeutete allerdings für die seinerzeit daran beteiligten wissenschaftlichen Mitarbeiter von Carl Zeiss, Jena, Jahre angestrengter Arbeit, in deren Verlauf manche Rückschläge zu überwinden waren. Wir halten uns für berechtigt, in diesem Zusammenhang besonders den Namen unseres inzwischen verstorbenen Mitarbeiters, Prof. Dr. Dr. h. c. August Köhler, zu nennen, der auf diesem Gebiet Pionierarbeit geleistet hat und seine Erfahrungen und praktischen Ergebnisse 1941 zusammen mit Dr. Loos in der Zeitschrift "Die Naturwissenschaften" veröffentlichte.

Es ist inzwischen allgemein bekannt, daß die Phasenkontrasteinrichtung für die Mikroskopie heute wieder in bekannter Qualität, dazu in verbesserter Form, im VEB Carl Zeiss Jena hergestellt wird. Selbstverständlich sind wir auch an der Geburtsstätte der praktischen Verwirklichung des Phasenkontrastverfahrens um seine Weiterentwicklung ständig bestrebt.

15.Januar 1954



Bestelliste

Benennung	Gewicht kg	Bestell- nummer	Bestell- wort
Phako-Einrichtung Ph mit Kondensor 0,65/39,5 Ø			
(Achromate 160/0,17)	1.625	20 42 41	Vyhai
fur unsere Mikroskope) Eg, Ei, Eu nint Ennianger o	1,055	50 45 41	Купеј
bestehend aus:	1.000	20 42 40	<i>V</i> .
Phasenkondensor und Hilfsmikroskop, in Behalter	1,260	30 43 40	Kutoe Diami
A abromat Db 10/0 20	0,005	20 20 82	Гјарі
A abromat Ph 20/0.40	0,055	30 20 83	Vumun
Achromat Ph 20/0,40	0,033	30 20 80	Kusyo
A abromat Ph 00/1 25 H J	0,070	20 20 81	Kutay
Achioniat Pil 90/1,25 H. I	0,070	30 20 82 20 87 21	Kuleu Kamur
To the minimum storison $n_D = 1,515$	0,050	30 87 21	Kogur
Doppennasche	0,090	30 87 20	Ksous
Phako-Einrichtung Ph zum pankratischen Kon-			
densor (Achromate 160/0,17)			
für Mikroskop "Lumipan"	1,085	30 43 42	Kyhin
bestehend aus:			
Ringblende mit Fassung und Hilfsmikroskop	0,210	30 40 27	Kutka
Gelbgrünfilter	0,005	30 47 55-41	Pjapi
Achromat Ph 10/0,30	0,055	30 20 83	Kusuk
Achromat Ph 20/0,40	0,055	30 20 80	Kusyo
Achromat Ph 40/0,65	0,070	30 20 81	Kutap
Achromat Ph 90/1,25 H. I	0,070	30 20 82	Kuteu
Behälter für obige Teile	0,500	30 96 56	Kzcte
10 cm^3 Immersionsöl $n_D = 1,515$	0,030	30 87 21	Kogur
Doppelflasche	0,090	30 87 20	Ksoas
Phako-Einrichtung Ph mit Kondensor 0,65/39,5 Ø			
für unsere Mikroskone ¹) L. g. Lr. Ly mit Einhönger o	1 555	20 42 42	Krauf
hostshand aust	1,555	50 45 45	KZCUJ
Phasenkondensor mit Einzelzentrierung			
und Hilfsmikroskop, in Behälter	1,180	30 43 39	Kzcvg
Gelbgrünfilter	0,005	30 47 55-41	Pjapi
Achromat Ph 10/0,30	0,055	30 20 83	Kusuk
Achromat Ph 20/0,40	0,055	30 20 80	Kusyo
Achromat Ph 40/0,65	0,070	30 20 81	Kutap
Achromat Ph 90/1,25 H. I	0,070	30 20 82	Kuteu
10 cm^3 Immersionsöl $n_D = 1,515$	0,030	30 87 21	Kogur
Doppelflasche	0,090	30 87 20	Ksoas

¹) Die Anpassung an Mikroskopen fremden Fabrikates ist möglich, soweit die Kondensorschiebhülse einen Durchmesser von 39,5 mm hat und genügend Platz für die Revolverscheibe des Phasenkondensors (Durchmesser 96 mm) vorhanden ist.







Bild 15 a Lebistes Kopf, frontal, Retina, Schnerveintritt. Hellfeld. Abbildungsmaßstab etwa 350 :1

300 378/a Bild 15b Lebistes Kopf, frontal, Retina, Sehnerveintritt. Phasenkontrast. Abbildungsmaßstab etwa 350 :1









Bild 17. Pleurapunktat. Phasenkontrast. Abbildungsmafistab etwa 800 :1

300 376/a



Bild 18 300 379/a Fettkörnchenzelle. Phasenkontrast Abbildungsmaßstab etwa 800 :1



Bild 19 Herzmuskel. Phasenkontrast Abbildungsmaßstab etwa 420 :1

300 380/a



FERTIGUNGSPROGRAMM

Mikroskope Mikrophotographische Geräte Mikroprojektionsgerät Lumineszenzeinrichtung Zusatzgeräte für Mikroskopie Elektronenmikroskop

Kolposkope Operationsmikroskop Beleuchtungseinrichtungen für Operationssäle Mundleuchte Ohrlupe

Geräte zur Untersuchung der Augen Geräte zur Bestimmung und Prüfung von Brillen Lupen

Refraktometer Laboratoriums-Interferometer Handspektroskope Spiegelmonochromator UV-Spektrograph Q 24 Lichtelektrische Photometer Pulfrich-Photometer Polarimeter Konimeter Abbe-Komparator Skalengalvanometer Schleifengalvanometer Elektrometer Schlierengerät

Mechanische Geräte für Längenund Gewindemessungen Zahnradprüfgeräte Optisch-mechanische Geräte für Längen-, Gewinde- und Profilmessungen Geräte für Winkel-, Teilungsund Fluchtungsprüfungen Profilprojektoren Interferenzkomparator Endmaße

Nivelliere Theodolite Reduktions-Tachymeter Zusatzeinrichtungen. Phototheodolit Stereokomparator Spiegelstereoskop

Photozellen Photoelemente Sekundär-Elektronenvervielfacher Optische Teile aus synthetischen Kristallen Schwingquarze Ultraschallgeräte

Photographische Objektive Kino-Aufnahme- und Projektions-Objektive Reproduktions-Optik Prismenvorsätze für Stereoaufnahmen

Tonkinokoffer-Anlagen 35 mm und 16 mm Stummfilmkoffer 16 mm Epidiaskope Kleinbildwerfer Röntgendiaskop Röntgenschirmbildkameras Aufnahme- und Lesegeräte für Dokumentation Schreibprojektor

Feldstecher Theatergläser Zielfernrohre

Refraktoren Astrographen Spiegelteleskope Schulfernrohre Aussichtsfernrohre Kuppeln Spektrographen Passagegerät Großplanetarium Kleinplanetarium

Punktal-, Uro-Punktal- u. Umbral-Brillengläser Katralgläser Zweistärkengläser Haftgläser Fernrohrbrillen Lupenbrillen

Druckschriften stellen wir gern zur Verfügung

Druckschriften-Nr. CZ 30-304b-l

Waren-Nr. 37 14 81 00