

MIKROFOTOGRAFIE IN FARBEN

*Hiezu 2 Abbildungen auf
S. 44 und 45*

Von DR. ALFRED GRABNER, Wien

Die Möglichkeit, die natürlichen Farben fotografisch zu erfassen, stellt für die Mikrofotografie einen viel bedeutenderen Fortschritt dar als für irgendeine andere Sparte der wissenschaftlich angewandten Fotografie. Bei den Dingen, welche wir mit freiem Auge sehen können, sind uns die Farben aus der Erfahrung bekannt. Sie sind uns so gut bekannt, sie sind so in unserer Vorstellung verankert, daß das eintönig-graue Bild des Schwarz-Weiß-Fotos vollauf hinreicht, um durch unsere Phantasie die zugehörigen Farbvorstellungen entstehen zu lassen. Beim Mikrofoto ist das ganz anders. Beim Foto irgendeines biologischen Schnittpräparates kann kein Mensch — außer dem Hersteller — wissen, ob das abgebildete Gewebe im Präparat rot oder blau gefärbt ist, und noch weniger kann jemand erkennen, ob vielleicht durch eine Doppelfärbung ein Teil des Gewebes rot und ein anderer blau gefärbt ist — das Schwarz-Weiß-Foto zeigt nur Grau in Grau, und weder unsere Erfahrung noch unsere Vorstellung hilft da weiter. Und nicht anders ist es in der Metallografie. Das Schwarz-Weiß-Bild eines Erzschliffes zeigt wohl die Konturen der einzelnen Kristallindividuen, es gibt aber keinerlei Anhaltspunkte, ob die Kristalle durchwegs gleich gefärbt sind oder ob sie verschiedene Farben aufweisen.

Die Farbenfotografie schafft hier mit einem Schlag einen Wandel zum Besseren. Im Farbenfoto eines Ausstriches mit Tuberkulosebakterien leuchten die Bakterienleiber tiefrot aus ihrer grell blauen Umgebung, während das Schwarz-Weiß-Bild eine graue „Brühe“ zeigt, in der die kleinen dunklen Stäbchen nur schwer zu unterscheiden sind. Und im Farbenfoto eines Erzschliffes zeigt jeder Kristall seine charakteristische Eigenfarbe, reinweiß oder gelblich oder graublau u. ä. m., während das eintonige Bild höchstens geringe Unterschiede in der Helligkeit erkennen läßt, die aber auch von anderen Ursachen als von verschiedenen Farbtönen herkommen können. Gar bei dem modernsten mikroskopischen Verfahren, bei der Fluoreszenzmikroskopie, ist eine Schwarz-Weiß-Aufnahme überhaupt wertlos, denn hier kann ausschließlich das Farbenbild die in leuchtend buntem Glanz strahlenden Fluoreszenzfarben darstellen, die im nichtbunten Bild wegen ihrer ungefähr gleichen Helligkeit kaum Unterschiede erkennen lassen.

Die Farbenfotografie ist nicht nur für jede mikroskopisch-wissenschaftliche Arbeit und jede mikroskopisch-technische Untersuchung wichtig. Vielmehr ist sie auch für jeden Unterricht, der sich des Mikroskopes bedienen muß, besonders wertvoll, denn die Mikroprojektion liefert doch fast immer nur wenig befriedigende Ergebnisse und die Vorführung im Mikroskop selbst verbraucht nicht nur sehr viel Zeit, sondern gefährdet auch die oft unersetzlichen Originalpräparate und das wertvolle Mikroskop.

Die selbstverständlichen Voraussetzungen für eine erfolgreiche Farben-Mikrofotografie sind eine wirklich sichere Handhabung des Mikroskopes und

solide Kenntnisse in der Mikrofotografie mit der Kleinkamera. Dazu muß der in Farben arbeitende Mikrofotograf noch einige Kniffe und Tricks beherrschen, welche durch die besondere Verquickung Mikroskop-Kleinkamera-Farbenfilm bedingt werden.

Das Mikroskop und die Kamera

Zur Mikrofotografie in Farben kann jedes gute Mikroskop, soweit es nur einen einstellbaren Beleuchtungsapparat („Kondensor“) hat, verwendet werden. Ebenso kann jede Kleinkamera gebraucht werden, wenn sie mit einer Vorrichtung zum Auswechseln des Objektivs ausgestattet ist.

Die Mikrofotografie mit der Großkamera und mit der Kleinkamera

a) Die Großkamera. Bei der Mikrofotografie mit der Großkamera (9×12 cm u. dgl.) erfolgt die Aufnahme in der Weise, daß das mikroskopische Bild von der Mikroskop-Gesamtoptik (Mikroskop-Objektiv + Mikroskop-Okular) unmittelbar auf die Schicht des Aufnahmematerials projiziert wird; die Mikrocamera ist daher dabei nur ein leeres Gehäuse, welches eigentlich nur zur lichtdichten Abschirmung des Raumes zwischen Mikroskop und Aufnahmematerial dient. Dieser Vorgang ist — vom Standpunkt der strengen Theorie betrachtet — eigentlich nicht ganz korrekt. Die Mikroskop-Objektive sind ja so berechnet, daß sie ihr Bestes nur dann liefern, wenn sich das Präparat genau im vorderen Brennpunkt der Mikroskop-Gesamtoptik befindet und dementsprechend die einem jeden Dingpunkt zugehörigen Lichtstrahlen das Okular als in sich parallel gerichtetes Lichtbündel verlassen. Bei dieser der ideal richtigen Mikroskopeinstellung entsprechenden Strahlengang sieht nun wohl das entspannte, d. h. auf „Unendlich“ eingestellte, Auge dank seiner als zusätzliches Objektiv wirkenden Linse ein tadelloses scharfes Bild. Dagegen eignet sich dieser Strahlengang nicht zur Projektion über eine „endliche“ Entfernung, denn die in sich parallel gerichteten Lichtbündel können genau genommen erst in unendlicher Entfernung ein scharfes und unendlich großes Bild liefern. Will man aber eine Projektion in der endlichen Entfernung der mikrofotografischen Großkamera erzwingen, so muß man die Einstellung etwas ändern, das Objektiv ein wenig vom Präparat entfernen und so die einzelnen Lichtbündel konvergent machen und zu Lichtkegeln mit den Spitzen in der Schichtebene umformen. Bei der Großkamera und ihrer einem Format von 9×12 cm entsprechenden Bildweite von einigen Dezimetern spielt aber diese Verstellung keine nennenswerte Rolle und die Güte des Bildes wird kaum nennenswert beeinträchtigt.

b) Die Kleinkamera. Ganz anders ist es bei der Kleinkamera. Ihr Format ist schon so klein und daher die Entfernung vom Mikroskop zur Filmschicht notwendig so gering, daß zur Erzwingung einer scharfen Projektion schon ziemlich beachtliche Änderungen in der Mikroskopeinstellung notwendig wären, die eine deutliche Bildverschlechterung verursachen könnten. Bei der Mikrofotografie mit der Kleinkamera wird daher ganz all-

gemein ein anderer — und zwar der optisch streng korrekte — Weg eingeschlagen. Man verwendet nämlich hier nicht so wie bei der Mikrofotografie mit der Großkamera nur ein leeres Kameragehäuse, sondern man macht die Aufnahme mit einem auf „Unendlich“ eingestellten Kamera-Objektiv. Ist das Mikroskop genau richtig eingestellt, und verlassen daher die einzelnen Lichtbündel das Okular in sich parallel gerichtet, so liefert ein am Fotoapparat auf „Unendlich“ eingestelltes Kamera-Objektiv ganz selbstverständlich ein scharfes Bild auf der Filmschicht, denn für das Wesen der Sache ist es natürlich ganz gleichgültig, ob das Objektiv parallel ausgerichtete Lichtbündel aufnimmt, die von einem fernen Berg oder aus einem Mikroskop kommen. Allerdings ist die Brennweite der Normal-Objektive mit im Durchschnitt 5 cm Länge für diesen Zweck zu kurz, denn das mikrofotografische Bild würde innerhalb des Formates $2,4 \times 3,6$ cm nur als kleines Scheibchen erscheinen. In dieser Hinsicht würden nun wohl die langbrennweitigen Objektive der Kleinkameras entsprechen, doch stößt bei ihnen wieder die Verbindung von Mikroskop und Kamera auf Schwierigkeiten und es sind überdies bei diesen, doch für die Großfotografie berechneten, Objektiven unkontrollierbare innere Reflexe zu befürchten. Ganz allgemein wird daher bei der Mikrofotografie mit einer Kleinkamera das normale Foto-Objektiv entfernt und an seine Stelle ein besonderer Tubus gesetzt, der ein zwar einfaches, jedoch für die Mikrofotografie besonders berechnetes langbrennweitiges Objektiv trägt, welches in dem Tubus fest in Einstellung für „Unendlich“ montiert ist.

Die Verbindung von Mikroskop und Kamera

a) **Die Aufsatzkamera.** Die Kleinkamera kann samt dem angesetzten Objektivstutzen mittels eines Zwischenstückes unmittelbar auf das Mikroskop aufgesetzt werden. Eine solche Einrichtung ist zwar sehr billig und einfach, hat aber den Nachteil, daß das Mikroskop mit dem Gewicht der Kamera belastet ist und bei einem etwas abgenutzten Instrument die Feineinstellung nachgeben kann, daß durch die starre Verbindung jede Erschütterung vom Mikroskop auf die Kamera übertragen wird, und daß zum Übergang vom Mikrofotografieren zum Mikroskopieren jedesmal die ganze Einrichtung abgebaut werden muß.

b) **Die Schwenkkamera.** Alle die erwähnten Nachteile vermeidet die sogenannte Schwenkkamera. Bei dieser wird die Kamera samt Objektivstutzen von einem um eine senkrechte Achse drehbaren Arm getragen, mit welchem sie über dem Mikroskop ein- und ausgeschwenkt werden kann, ohne jedoch dieses zu berühren. Selbstverständlich ist der Preis für eine solche Einrichtung verhältnismäßig hoch.

Die Einstellung des mikroskopischen Bildes

a) **Mit einem Einstellfernrohr.** Bei dieser Einstellvorrichtung trägt die Kleinkamera mit dem Mikroskop vereinigende Verbindungsvorrichtung seitlich ein kleines Fernrohr. In diesem Fernrohr befindet sich

ein Fadenkreuz, auf welches zuerst das Fernrohr-Okular scharf eingestellt wird. Sieht man dann im Fernrohr das Fadenkreuz und das mikroskopische Bild gleichzeitig scharf, so hat man die Sicherheit, daß die das Mikroskop-Okular verlassenden Lichtbündel streng parallel gerichtet sind und daher in der auf „Unendlich“ eingestellten Kleinkamera ein scharfes Bild liefern müssen. Die Einstellung durch ein Fernrohr ist sehr bequem und ermöglicht infolge des hellen Bildes auch bei dunklen Präparaten eine sichere Einstellung, bei Personen mit jugendlichen, stark akkomodationsfähigen Augen können aber Einstellfehler vorkommen.

Die Lichtzuführung mit einem Prisma. Die Zuführung des Lichtes zum Fernrohr kann durch ein im Zwischenstück befindliches Umlenkprisma erfolgen, welches dauernd einen kleinen Teil des vom Mikroskop-Okular zum Kamera-Objektiv strömenden Lichtes abzweigt. Dieses Verfahren ermöglicht eine Kontrolle des Bildfeldes auch während der Aufnahme (wichtig für Lebendaufnahmen!) und liefert in der Mehrzahl der Fälle trotz der nur geringfügigen Lichtabzweigung doch im Fernrohr ein hinreichend helles Bild.

Die Lichtzuführung mit einem Spiegel. Eine zweite Art der Lichtzuführung bedient sich eines ebenfalls im Zwischenstück gelagerten kleinen Spiegels, der während der Einstellung eingeschaltet und während der Aufnahme ausgeschaltet ist. Eine solche Einrichtung macht natürlich jede Kontrolle während der Aufnahme unmöglich und überdies liefert der Spiegel im Fernrohr meist ein so grell leuchtendes Bild, daß man dieses häufig zur Einstellung erst durch ein Graufilter dämpfen muß. Andererseits kann der Spiegel infolge der restlosen Lichtausnützung bei sehr dunklen Motiven, wie bei stark vergrößerten Fluoreszenzaufnahmen, gute Dienste tun.

b) Mit Blankscheibe und Einstellupe. Natürlich kann die Einstellung auch mit einem der gebräuchlichen Einstelladapter oder einem Einstellrevolver erfolgen. Allerdings kann man nicht auf der Mattscheibe einstellen, da deren Korn unter der Einstellupe grob stören würde. An Stelle der Mattscheibe verwendet man daher eine Blankscheibe (d. h. eine klare, nicht gerauhte Glasscheibe), auf der man allerdings nur mit einer Lupe — nicht aber mit freiem Auge — einstellen kann. Sehr praktisch sind für diesen Zweck Einstellscheiben, welche über den größten Teil ihrer Fläche mattiert sind, so daß man dort mit freiem Auge den richtigen Bildausschnitt feststellen kann, während sich in der Mitte eine kleine blanke Fläche befindet, welche der Einstellung dient. Die Einstellung mit Blankscheibe und Einstellupe ist zwar bei weitem nicht so bequem wie mit dem Fernrohr und bedingt jedenfalls allerlei Manipulationen an der Kamera, sie hat aber den großen Vorteil, daß bei Verwendung einer starken Lupe jede durch zu weitgehende Akkomodation des Auges verursachte Fehleinstellung verhindert wird. Zur Mikrofotografie bewegter Objekte (Kristallisationsvorgänge, lebendes Plankton u. dgl.) ist die Einstellung mit der Mattscheibe natürlich unbrauchbar.

Da die Schlitzverschlüsse der Kleinkameras meist etwas stoßen, ist es besser, wenn an dem Verbindungsstück ein eigener, weich arbeitender Sektorenverschluss angebracht ist, mit welchem man bei offen stehendem Kameraverschluss die Belichtung ausführt. Ist ein solcher zusätzlicher Verschluss nicht vorhanden und beobachtet man Verwackelungen durch den Kameraverschluss, so kann man dadurch abhelfen, daß man die Beleuchtung durch ein Graufilter (aber ja nicht durch Zuziehen der Blende am Beleuchtungsapparat des Mikroskopes!) so weit dämpft, daß die Belichtungszeit nicht unter etwa 15 bis 20 Sekunden liegt. Das Abflauen des Kamera-Schlitzverschlusses kann nämlich wohl eine Erschütterung der ganzen Apparatur verursachen, diese klingt aber in 1 bis 2 Sekunden ab, so daß man bei einer Belichtungszeit von zum Beispiel 20 Sekunden die Sicherheit hat, daß wenigstens 90 v. H. der Gesamtblendungszeit auf die vollkommene Ruhe der Apparatur entfallen, was zur Erlangung eines scharfen Bildes meist hinreicht.

Der Abbildungsmaßstab

Bei der Kleinkamera-Mikrofotografie ergibt sich der Abbildungsmaßstab des $2,4 \times 3,6$ cm großen Originals durch Multiplikation der visuell-mikroskopischen Vergrößerung mit dem Faktor

Brennweite des Kamera-Objektives

25

Hat z. B. das Mikroskop-Objektiv den Abbildungsmaßstab 100 \times , das Mikroskop-Okular die Lupenvergrößerung 5 \times und das Kamera-Objektiv eine Brennweite von 12,5 cm, so ergibt sich eine visuell-mikroskopische Vergrößerung von $100 \cdot 5 = 500 \times$ und ein mikrofotografischer Abbildungsmaß-

stab von $100 \cdot 5 \cdot \frac{12,5}{25} = 250 \times$.

Infolge geringer, aber unvermeidlicher Abweichungen der tatsächlichen optischen Konstanten von den listenmäßigen Nennwerten ergibt diese Formel aber nur für Überschlagsrechnungen brauchbare Richtwerte. Es sollte daher niemand die kleine Mühe scheuen und für sein Mikroskop ein für allemal die Genauwerte der Abbildungsmaßstäbe feststellen. Das geschieht ganz einfach in der Weise, daß man mit jeder an dem verwendeten Mikroskop möglichen Objektiv-Okular-Kombination in der Kleinkamera eine Aufnahme eines Objektmikrometers anfertigt und durch Ausmessung der Negative die genauen Abbildungsmaßstäbe ermittelt. Die so gefundenen Werte behalten für das betreffende Mikroskop — aber nur für dieses! — dauernd ihre Gültigkeit und werden in einer kleinen Tabelle vereinigt dem Mikroskop beigelegt.

Während man bei den mit einem Balgen ausgerüsteten Großkameras den Abbildungsmaßstab schon für das Negativ stetig ändern kann, geht das bei der starren Kleinkamera — leider — nicht. Daher kann man auch für das Farben-

dia die sogenannten Normvergrößerungen¹⁾ nicht einstellen. Andererseits sollten doch alle im Druck erscheinenden mikroskopischen Abbildungen ausschließlich in diesen genormten Stufen der Abbildungsmaßstäbe erscheinen — was im Interesse aller Mikroskopierenden liegt. Man muß daher dem Buch- oder Zeitschriftenverlag bzw. dem Hersteller der Druckstöcke genau angeben, wie stark die gedruckte Abbildung, die „Reproduktion“, gegenüber dem $2,4 \times 3,6$ cm großen Original vergrößert sein muß, damit im gedruckten Bild genau eine Stufe der Norm-Abbildungsmaßstäbe eingehalten ist. Bei dieser Gelegenheit sei wieder einmal eindringlichst darauf hingewiesen, daß bei jeder Veröffentlichung eines mikrofotografischen Bildes unbedingt der Abbildungsmaßstab der Reproduktion angegeben sein muß — ein Mikrofoto ohne Angabe des Abbildungsmaßstabes ist mindestens zur Hälfte entwertet.

Die Lichtquelle

Für die Farben-Mikrofotografie kommen als Lichtquelle ausschließlich elektrische Glühlampen in Frage. Das Tageslicht unterliegt sowohl in bezug auf seine Stärke als auch in bezug auf seine Farbe so raschen und starken Änderungen, daß es ganz ungeeignet ist. Elektrische Bogenlampen, die von manchen wegen ihrer großen Lichtstärke für die Schwarz-Weiß-Mikrofotografie bevorzugt werden, haben wieder eine so unglücklich liegende Lichtfarbe, daß man sie nur mit Korrektionsfiltern anwenden könnte. In gewöhnlichen Schreibtisch- oder Laboratoriumslampen sind allerdings auch die Glühlampen nicht brauchbar, da man mit solchen Lampen eine korrekte und saubere Lichtführung im Mikroskop nicht erreichen kann. Zweckmäßig verwendet man daher für die Mikrofotografie in Farben ausschließlich die besonders konstruierten „Mikroskopierlampen“, welche zur Herstellung der „KÖHLERSchen Beleuchtung“²⁾ mit einem einstellbaren Lampenkollektor und einer Irisblende ausgestattet sind. Was die eigentliche Lichtquelle anlangt, so ist diese in den erwähnten Mikroskopierlampen meist eine sogenannte „Niedervolt-Glühlampe“, welche bei einer ansehnlichen Leistungsaufnahme mit nur niedriger Spannung betrieben wird (z. B. 6 Volt und 5 Ampere u. ä.). Diese Glühlampen sind sehr lichtstark und haben eine nur sehr kleine Leuchtfläche bzw. eine hohe Leuchtdichte, wodurch die Einstellung der „KÖHLERSchen Beleuchtung“²⁾ sehr erleichtert wird. Was die Lichtfarbe der Niedervoltglühlampen betrifft, so liegt diese wohl nicht gerade ungünstig, die verschiedenen gebräuchlichen Nieder-

¹⁾ Die Norm-Abbildungsmaßstäbe sind

				2,5	3,2	4,0	5,0	6,3	8,0
10	12,5	16	20	25	32	40	50	63	80
100	125	160	200	250	320	400	500	630	800
1000	1250	1600	2000						

Sie entsprechen der Reihe R 10 des Normblattes DIN 323.

²⁾ Siehe Seite 36.

voltglühbirnen zeigen aber doch je nach ihrer Erzeugerfirma, ihrer Type und ihrem Alter recht verschiedene Lichtfarben, die mehr oder weniger von jener Lichtzusammensetzung abweichen, für welche der Farbfilm geeicht ist. Um dem abzuhelpen, bzw. um nicht durch eine unrichtige Farbe des Lampenlichtes zu Farbstichen Anlaß zu geben, verwendet man die Niedervoltglühbirnen am besten mit einem regelbaren und mit einem Meßgerät (Amperemeter oder Voltmeter) ausgestatteten Widerstand oder Transformator. Je nachdem man nämlich die Glühbirne unterspannt oder überspannt brennt, liefert sie ein mehr rötliches oder mehr bläuliches Licht. Man hat es so in der Hand, durch geschickte Betätigung der Regelvorrichtung am Anschlußgerät die Farbe des Lampenlichtes der Emulsion des gerade verwendeten Farbfilmes anzupassen, wodurch gleichzeitig ein allfälliger, in der Emulsion selbst gelegener Farbstich ausgeglichen wird. Macht man auf einem Farbfilm bestimmter Emulsionsnummer einmal eine Aufnahmereihe mit gestaffelten Unter- und Überspannungen, so findet man bestimmt eine Stromeinstellung, bei welcher die Farbenwiedergabe die beste ist, und diese Einstellung des regelbaren Anschlußgerätes kann dann — einmal vorgemerkt — für alle Aufnahmen auf Farbfilmern der gleichen Emulsionsnummer verwendet werden.

Der Farbfilm

Aus dem Inhalt des vorhergehenden Abschnittes ergibt sich bereits, daß für alle farbigen Mikrofotografien nur der Farbfilm mit Kunstlichtemulsion verwendet werden kann. Eine Ausnahme bildet einzig die farbige Fluoreszenz-Mikrofotografie. Bei dieser handelt es sich ja nicht um mit Glühbirnenlicht beleuchtete Objekte, sondern um ein eigenes Licht ausstrahlende Selbstleuchten, zu deren farbrihtiger Wiedergabe natürlich nur die Tageslichtemulsion verwendbar ist.

Die Beleuchtung

Bei jeder mikrofotografischen Arbeit ist die Art der Lichtführung von der Mikroskopierlampe durch den Mikroskopkondensator und das Präparat hindurch bis zum Mikroskopobjektiv von ganz ausschlaggebender Bedeutung und ich möchte behaupten, daß der Erfolg in der Mikrofotografie zu 80 v. H. von der Beleuchtung abhängt. Gilt das schon von der Arbeit in Schwarz-Weiß, so gilt es gar doppelt von der Farbenfotografie. Das liegt im Wesen der Farbenfotografie und wird ganz besonders dadurch bedingt, daß es sich beim Farbendia um ein Umkehrverfahren handelt. Jedenfalls macht sich jede, auch noch so geringe Ungenauigkeit in der Beleuchtung bei Farbenfotos sofort durch sehr störende dunkle Flecken bemerkbar, die das Farbendia fast immer unbrauchbar machen.

Die hier schon wiederholt erwähnte „KÖHLERsche Beleuchtung“ ist das einzige Verfahren, das bei bester Lichtausbeute eine wirklich saubere Lichtführung sichert, und dieses Verfahren sollte daher die unverrückbare Grundlage jeder mikrofotografischen Arbeit sein. Eine ausführliche Darstellung

des „KÖHLERschen Beleuchtungsprinzipes“ würde den Raum dieses Artikels weit überschreiten. Seine Ausführung kann daher im folgenden nur in Schlagworten angedeutet werden, während die Einzelheiten in der reichen Fachliteratur über Mikrofotografie nachzulesen sind. Im wesentlichen geht man zur Einstellung der „KÖHLERschen Beleuchtung“ wie folgt vor:

1. Miß die größte Öffnung der voll geöffneten Irisblende des Mikroskopkondensors (meist etwa 30 mm).

2. Stelle die brennende Mikroskopierlampe so vor einer Wand auf, daß der Lampenkollektor ein Projektionsbild des glühenden Lampenwendels auf die Wand entwirft.

3. Bringe die Lampe in eine solche Entfernung von der Wand, daß das auf die Wand entworfen und mit dem Lampenkollektor scharfgestellte Bild des glühenden Lampenwedels ungefähr die gleiche Größe einnimmt, wie sie die voll geöffnete Irisblende des Mikroskopkondensors hat (meist bei etwa 20—30 cm Entfernung).

4. Stelle die Mikroskopierlampe in der nach Punkt 3 gefundenen Entfernung vom Mikroskop auf.

5. Richte die Lampe so aus, daß ihr Lichtkegel genau auf die Mitte des Mikroskopspiegels fällt.

6. Stelle den Lampenkollektor so ein, daß auf dem Mikroskopspiegel ein scharfes Bild des glühenden Lampenwendels entsteht (genau genommen sollte dieses Bild eigentlich auf der Irisblende des Mikroskopkondensors entstehen, doch ist dort seine Beobachtung recht unbequem und der Mikroskopspiegel ist so nahe der Mikroskopirisblende, daß der Unterschied vernachlässigt werden kann).

7. Stelle das Mikroskop in gewohnter Weise mit Grob- und Feintrieb auf ein Präparat ein.

8. Schließe die Irisblende an der Mikroskopierlampe.

9. Drehe und wende den Mikroskopspiegel so, daß im mikroskopischen Gesichtsfeld ein — vorläufig allerdings noch ganz unscharfes — Bild der Öffnung der Lampenirisblende sichtbar wird.

10. Stelle mit Hilfe der Einstellvorrichtung des Mikroskop-Beleuchtungsapparates den Kondensor so ein, daß das Bild der Öffnung der Lampenirisblende im Mikroskop gleichzeitig scharf mit dem Bild des mikroskopischen Präparates sichtbar wird (dabei darf die Einstellung des Mikroskopes selbst, d. h. die Stellung von Grob- und Feintrieb, nicht mehr geändert werden!).

11. Drehe und wende den Mikroskopspiegel so, daß das nun scharfe Bild der Lampenirisblende genau konzentrisch im mikroskopischen Gesichtsfeld liegt.

12. Öffne die Lampenirisblende so weit, daß sie eben aus dem mikroskopischen Gesichtsfeld heraustritt.

Die oben angeführte Anweisung zur Ausführung der KÖHLERschen Beleuchtung erscheint beim Durchlesen sehr langatmig und kompliziert. Aber schon bei nur geringer Übung macht man alle Handgriffe fast automatisch und ist in etwa $\frac{1}{2}$ bis 1 Minute mit der ganzen Sache fertig. Und für diese

kleine Mühe wird man durch eine erstaunliche Lichtfülle und wunderbar reine Ausleuchtung des ganzen Gesichtsfeldes belohnt.

Die Belichtungszeit und ihre Bestimmung

a) **Der Elektrobeltungsmesser.** Elektrobeltungsmesser werden in der Mikrofotografie verhältnismäßig nur wenig verwendet, hauptsächlich wohl deshalb, weil sie nur bei starker Beleuchtung ansprechen, während sie gerade dort, wo man am dringendsten ihre Hilfe brauchte, nämlich bei dunklen Präparaten, versagen.

b) **Die Probelichtung.** Der bei den Mikrofotografen beliebteste Weg zur Feststellung der richtigen Belichtungszeit ist die sogenannte „Stufenbelichtung“, bei welcher man von der gleichen Präparatstelle mehrere Aufnahmen mit geometrisch gestaffelten Belichtungszeiten³⁾ macht. Dieser Weg ist bei der Farben-Mikrofotografie nicht ohne weiteres gangbar, denn der Farbfilm wird ja von der Erzeugerfirma entwickelt, und man muß so unter Umständen lange auf das Ergebnis der Probelichtung warten, während man den Schwarz-Weiß-Film selbst entwickelt und daher schon nach zehn Minuten das Ergebnis weiß und die endgültige Aufnahme machen kann. Ein Ausweg ist in der Weise möglich, daß man die Probeaufnahmen auf einem gut panchromatischen Schwarz-Weiß-Film macht, diesen sofort selbst entwickelt und auf Grund des Ergebnisses nach einem Umrechnungsschlüssel die für den Farbfilm richtige Belichtung ermittelt. Bei der Berechnung des Umrechnungsschlüssels ist aber ein Wesensunterschied zwischen dem Schwarz-Weiß- und dem Farbfilm zu beachten. Der Schwarz-Weiß-Film hat einen sehr weiten Belichtungsspielraum und es handelt sich bei ihm um ein Negativ-Positiv-Verfahren, die Folge ist, daß verschieden belichtete Negative in der Kopie durchaus gleich gute Ergebnisse zeigen können. Der Farbfilm hat dagegen keinen Belichtungsspielraum und es handelt sich um ein Umkehrverfahren, weshalb es nur eine einzige richtige Belichtung gibt. Zur Bestimmung des Umrechnungsschlüssels geht man daher wie folgt vor. Man wählt ein Präparat, das neben dem eigentlichen Objekt auch noch reichlich leere Räume zeigt (bei Durchlicht Löcher im Objekt, bei Auflicht strukturlose, blank spiegelnd-polierete Stellen). Nun macht man eine Reihe von Stufenbelichtungen auf dem Schwarz-Weiß-Film und auf dem Farbfilm. Man sucht nun aus dem Schwarz-Weiß-Film jene Aufnahme heraus, welche bei geringster Allgemeindeckung doch auch schon die feinsten Details zeigt. Wurde dieses schwarz-weiße Negativ z. B. mit 3 Sekunden belichtet und brauchte das beste Farbfeld z. B. $4\frac{1}{2}$ Sekunden, so beträgt der Umrechnungsschlüssel $\frac{4,5}{3} = 1,5$. Das einmal zur Bestimmung des Umrechnungsschlüssels gewählte schwarz-weiße Negativ hebt man als Standard für weitere Versuchsaufnahmen auf. Bei weiteren Probeaufnahmen sucht man

³⁾ Man wählt die einzelnen Stufen zweckmäßig so, daß sie sich wie
1 : 2 : 4 : 8 : 16 : 32 : 64 : 128 usw. verhalten.

dann unter den neu angefertigten Stufenbelichtungen jedesmal jenes Negativ aus, bei welchem die Deckung leerer Stellen gerade so groß ist wie bei dem schwarz-weißen Standard-Negativ; der früher gefundene Umrechnungsschlüssel ist dann ohne weiteres wieder anwendbar. Selbstverständlich gilt ein bestimmter Umrechnungsschlüssel nur zwischen einem Schwarz-Weiß-Film einer bestimmten Emulsionsnummer und einem Farbfilm ebenfalls einer bestimmten Emulsionsnummer.

c) **Die Berechnung der Belichtungszeit.** Kennt man für eine bestimmte Objektiv-Okular-Kombination die richtige Belichtung, so kann man die richtige Belichtung für eine andere Objektiv-Okular-Kombination auch rechnerisch finden. Beträgt die bei einer numerischen Apertur A und einem Abbildungsmaßstab β als richtig befundene Belichtung B und bezeichnet man die gesuchte Belichtung mit B_x , welche bei einer numerischen Apertur A_x und einem Abbildungsmaßstab β_x gemacht werden soll, so besteht der Zusammenhang

$$B_x = B \cdot \frac{A^2 \cdot \beta_x^2}{A_x^2 \cdot \beta^2}.$$

Diese Umrechnung ist allerdings nur möglich, wenn dabei die Stellung der Irisblende des Mikroskopkondensors nicht geändert wird, dagegen kann dabei das Präparat gegen ein anderes ähnlicher Helligkeit ausgetauscht werden.

Die Apertur der Beleuchtung

Daß zur Erlangung einer hinreichend kontrastreichen Abbildung die am Beleuchtungsapparat des Mikroskops befindliche Kodensor-Irisblende meist etwas geschlossen werden muß, darf als bekannt vorausgesetzt werden. Weniger — ja vielfach sogar überhaupt nicht — bekannt ist, daß ein zu starkes Schließen dieser Blende grobe Fälschungen des mikroskopischen Bildes verursacht. Wird die Kondensorblende zu eng geschlossen, so entstehen infolge von Lichtbeugungen um alle Details des Bildes schmale Höfe und Doppelkonturen, die sogenannten „Diffractions säumchen“. Diese Säumchen entstellen nicht nur das Bild, sondern können dem weniger Erfahrenen auch allerlei Strukturdetails, Schleimhüllen u. dgl. vortäuschen, Dinge, die überhaupt nicht im Präparat gelegen sind, sondern nur auf optischem Weg im Bild hineingetragen werden. Zur sicheren Vermeidung solcher Diffractions säumchen öffnet man zuerst die Kondensorblende zur vollen Weite, schließt sie dann so eng, daß die Säumchen deutlich sichtbar werden, und öffnet die Blende schließlich wieder so weit, daß die letzten Spuren der Säumchen sicher verschwunden sind. Im allgemeinen ist es bei der Farben-Mikrofotografie besser, wenn die Apertur der Beleuchtung etwas zu groß als zu klein ist, man schließt also die Kondensor-Irisblende nur so weit als unbedingt nötig.

Die Begutachtung des Farbendias

Die Begutachtung der farbigen Mikrofotografie erfolgt in zwei Richtungen, bezüglich der richtigen Belichtung und bezüglich der richtigen Farbenwiedergabe.

a) Die Belichtung. Ob das Foto richtig belichtet ist, begutachtet man durch Betrachtung in der freien Hand. Die hellsten Stellen müssen rein glasklar und ohne jede Färbung sein. Dabei müssen aber doch auch die zartesten Details noch vollständig erhalten sein und das Bild darf nirgends, wie man zu sagen pflegt, „ausgerissen“ aussehen. Um sicher wenigstens ein vollkommen richtig belichtetes Bild zu bekommen, empfiehlt es sich, nicht nur eine einzige Aufnahme mit der aus der Probebelichtung erhaltenen Belichtungszeit zu machen, sondern überdies noch je eine Aufnahme mit der doppelten bzw. mit der halben Belichtungszeit.

b) Die Farbenwiedergabe. Die Begutachtung der Farben soll immer nur nach dem Projektionsbild erfolgen. Bevor man über die Farbenwiedergabe ein Urteil fällt, muß man sich die Frage vorlegen, ob es im vorliegenden Fall überhaupt auf eine streng richtige Farbenwiedergabe ankommt oder ob eine solche vielleicht gar nicht notwendig ist. So kommt es z. B. bei irgendeinem rot gefärbten, biologischen Schnittpräparat gar nicht darauf an, ob das Rot etwas mehr gelbstichig oder purpurstichig ist — wichtig ist nur, daß sich das „Rot“ scharf und kontrastreich von einer allfälligen Gegenfärbung abhebt. Dagegen müssen z. B. bei einem Erzschliff, der Kristallindividuen verschiedener chemischer Zusammensetzung nebeneinander zeigt, die zartesten und kaum merklichen Unterschiede etwas zwischen blaßgelb und blaßbraun oder zwischen hellblau und hellgrau peinlich genau und streng richtig dargestellt sein. Der häufigste Grund für einen Farbstich ist, daß die Lichtfarbe der verwendeten Lampe nicht zu der Filmemulsion paßt. Gegen diesen Fehler — der durch bräunliche bzw. bläuliche Farbenverzerrungen charakteristisch ist — hilft eine sorgfältige Abstimmung der Leistungsaufnahme der Lampe durch entsprechende Regelung des Widerstandes oder Transformators. Daneben kommen aber auch Fehlfarben vor, die in der Filmemulsion und in der Entwicklung bedingt sind. Gegen die seltenen violettbraunen und tiefblauen Farbstiche gibt es kein Mittel, dagegen kann der gefürchtete „Grünstich“ mit den im Handel befindlichen Gegenmitteln meist gut behoben werden. Bei der Verwendung solcher Mittel gegen den Grünstich ist aber zu beachten, daß die einen dieser Mittel auch die weißen, also farbstoff- und daher auch farbstichfreien, Gebiete des Dias rosa anfärben, während die anderen wieder eine Abschwächung des ganzen Bildes verursachen.

ZU DEN ABBILDUNGEN SEITE 41—48

Zu „ARZT“, Seite 41:

Abb. 1. Beleuchtungsgrundplatte „Lux E“ der Optischen Werke C. REICHERT, Wien. In einem kugelförmigen Gehäuse (i. d. Abb. ganz links) befindet sich eine Niedervoltglühbirne. Hinter ihr ist ein Hohlspiegel angebracht, der das nach hinten gestrahlte Licht nach vorne reflektiert. Das gesamte Licht wird von einem einstellbaren Kollektor aufgenommen. Zwischen dem Kollektor und der eigentlichen Grundplatte sind 2 Filterschieber angeordnet, welche nach Bedarf eingeschaltet werden. Das Licht verläuft dann im Inneren der Grundplatte und trifft schließlich auf einen Spiegel (i. d. Abb. senkrecht unter dem Mikroskop), der es nach oben in das Mikroskop entsendet

Abb. 2. *Spirochaeta pallida*. Lebend und ungefärbt im frischen Ausstrich. Aplanatischer REICHERT-Dunkelfeldkondensator. (Abbildungsmaßstab 1000:1)

ZU „KISSER“, Seite 42:

Abb. 1. Holz der Walnuß (*Juglans regia*) mit Maserung (sogenannte „Pyramide“) (Abbildungsmaßstab 1:5 [verkleinert!])

Abb. 2. Holz der Birke (*Betula pendula*) mit Jahresringen sehr verschiedener Breite zwischen 0,25 und 1,0 mm (Abbildungsmaßstab 25:1)

ZU „FEYRTER“, Seite 43:

58jähriger Mann (L. Ö. Nr. 1040 43, Pathologisches Institut Graz). Glioma cerebri. Glandula submandibularis, unfixiert. Gefrierschnitt. Einschluß färbung in 1% iger wässriger Kryselechtviolettlösung, Vergr. 200fach. 1, 1' Streifenstück. 2 seröses Drüsengewebe, 3 muköses Drüsengewebe (der Schleim ungefärbt). 4 Fetttropfen (ungefärbt) einer Fettzelle, beim Anfertigen des Schnittes etwas verschoben.

Zu „GRABNER“, Seite 44, 45:

Abb 1. Kopfhaut des Menschen mit Haaren (Flächenschnitt) Durchlicht-Hellfeld. Abb.-Maßstab der Aufnahme 30:1. Abbildungsmaßstab der Wiedergabe 160:1. REICHERT Laboratoriums-Mikroskop „RC“. Durchlicht-Achromat-Objektiv 10:1, A = 0,25. Plan-Okular 5X. Niedervolt-Glühbirne 6 V, 5 A. Agfacolor-Film mit Kunstlichtemulsion. Belichtungszeit $\frac{1}{8}$ Sekunde (Aufnahmen Ing. A. FINDEIS)

Abb. 2. Gewebe der Lunge des Menschen. Blaugrün = Bindegewebe, dunkelgrün = rote Blutkörperchen, hell-rotbraun = Drüsengewebe und Wandungen von Gefäßen, schwarz = Lücken im Gewebe und Öffnung von Gefäßen. Fluoro-chromiert $\frac{1}{2}$ Minute mit Akridinorange 1:1000. Abbildungsmaßstab des Originalen 93:1, Abbildungsmaßstab der Abbildung 500:1 (Aufnahmen Ing. A. FINDEIS)

Zu „BRÄUTIGAM“, Seite 46, 47, 48:

Abb. 1. Altes Mikroskop, französische Arbeit aus der Mitte des 18. Jahrhunderts (Sammlung des Kunsthistorischen Museums in Wien)

Abb. 2. Modernes, mittelgroßes binokulares Mikroskop („CSM“ der Optischen Werke C. REICHERT, Wien)

Abb. 3. Modernes großes Universal-Kamera-Mikroskop („Me F“ der Optischen Werke C. REICHERT, Wien)

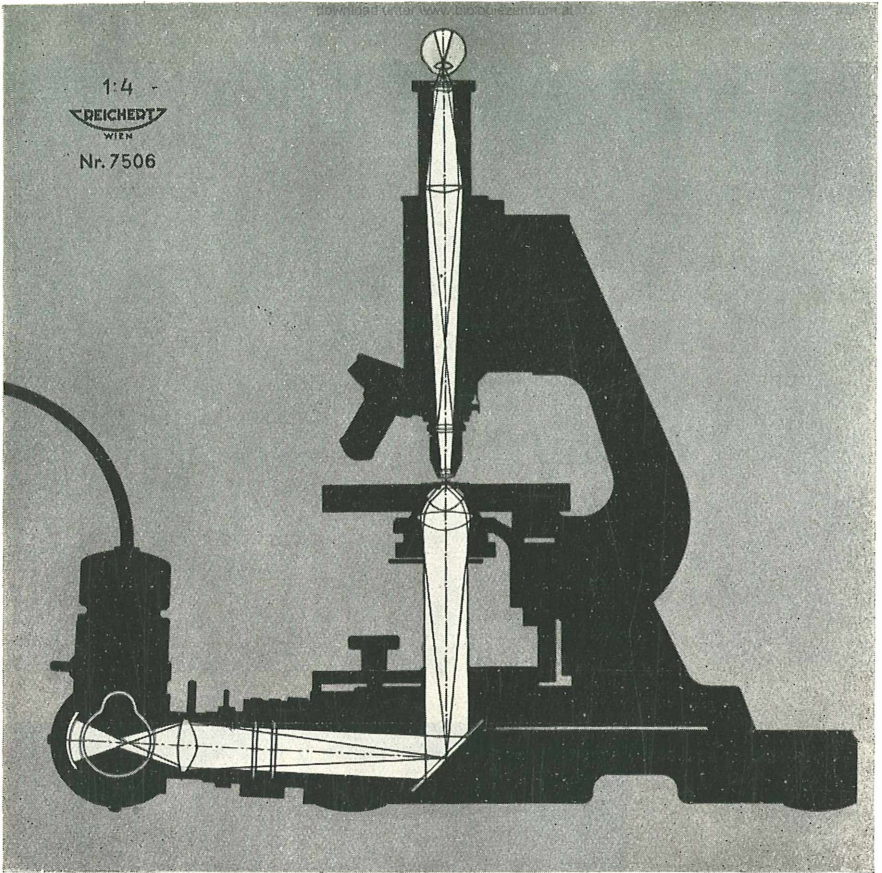
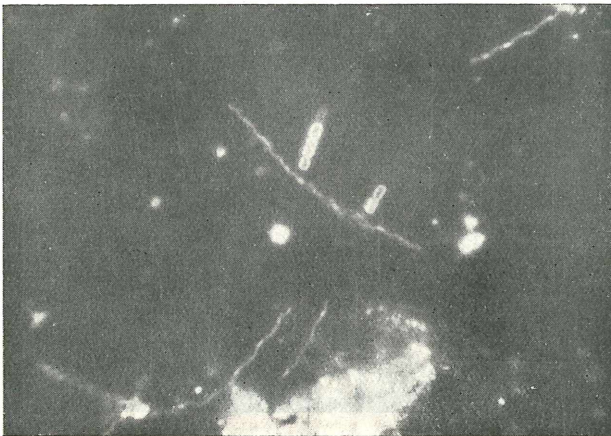


Abb. 1



ZU „ARZT“

Abb. 2

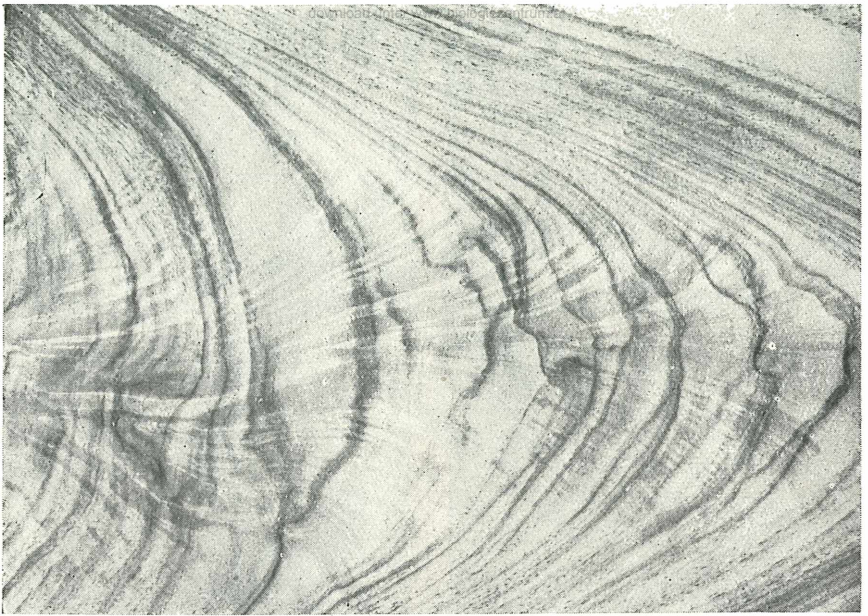


Abb 1

ZU „KISSER“

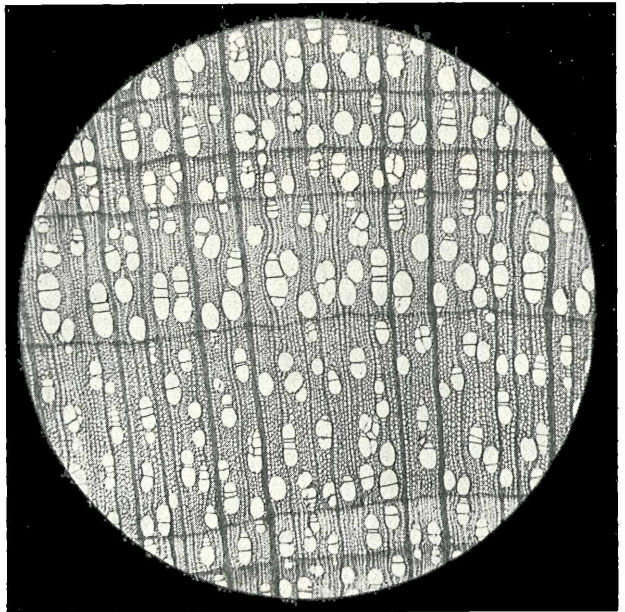
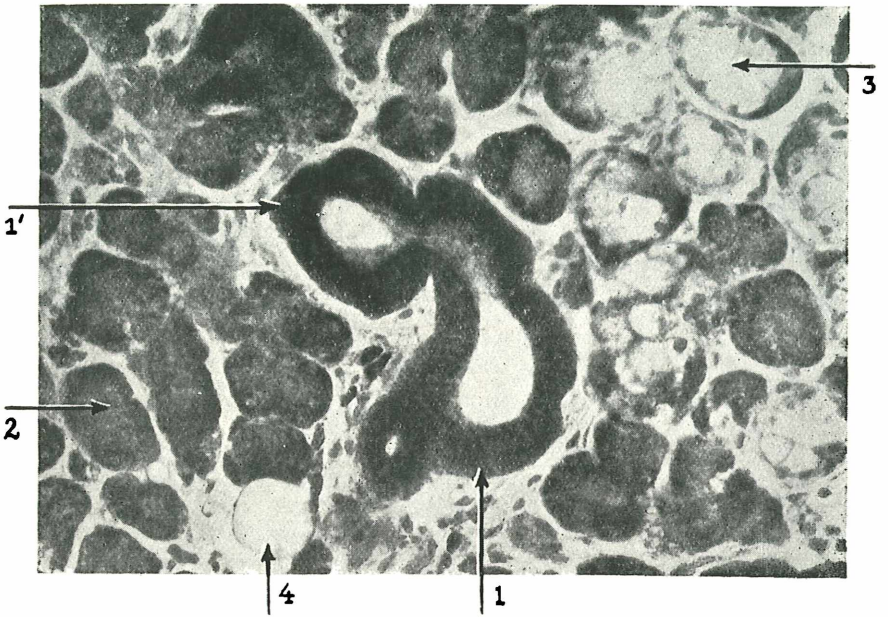


Abb. 2

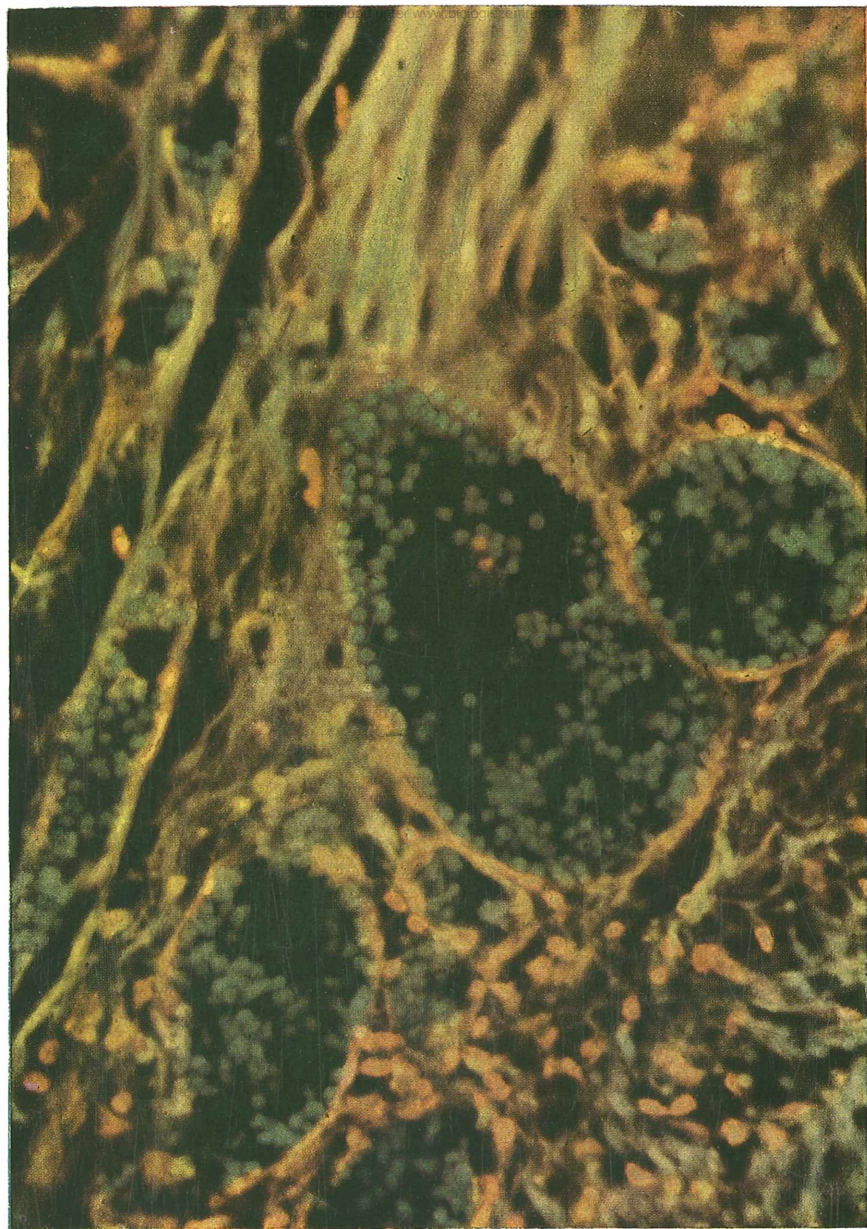


ZU „FEYRTER“



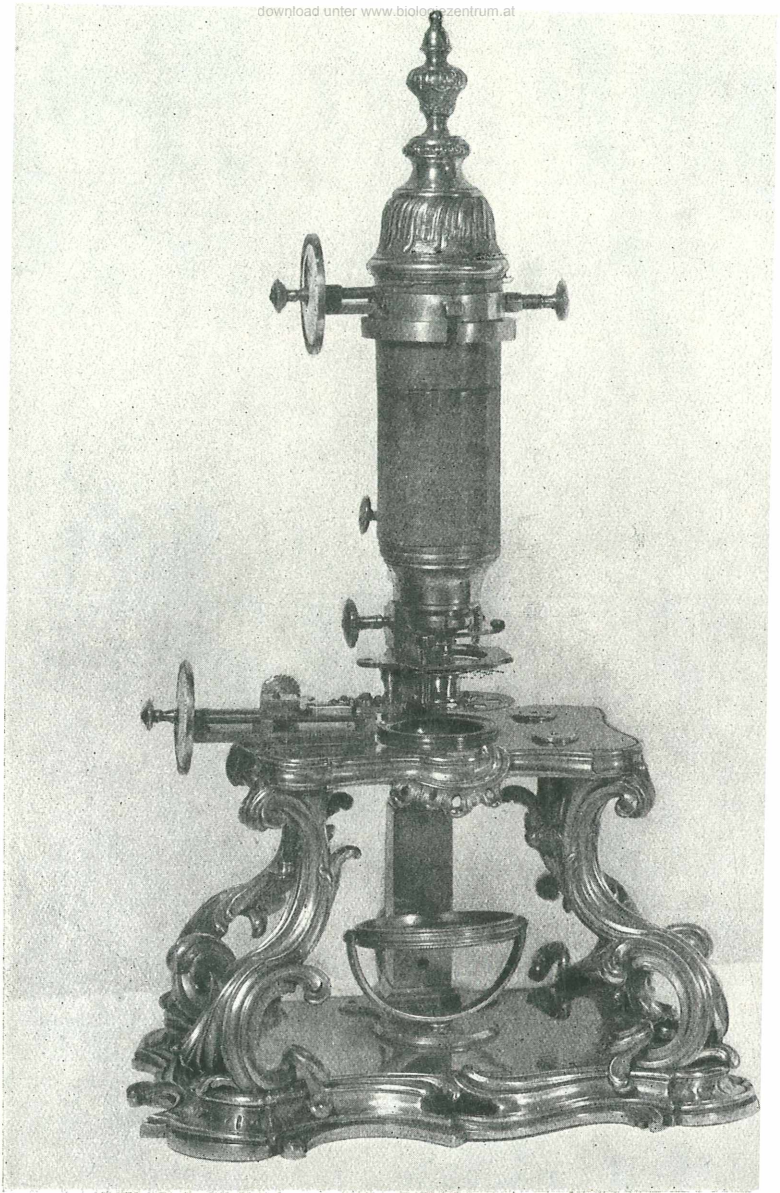
ZU „GRABNER“

Abb. 1



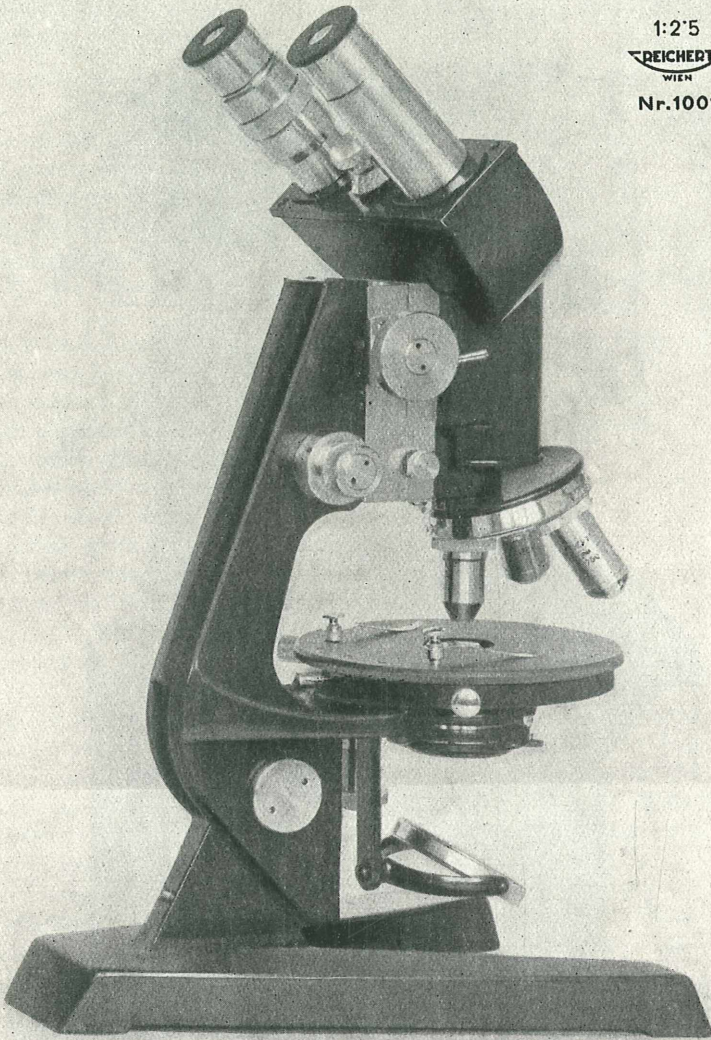
ZU „GRABNER“

Abb. 2



ZU „BRÄUTIGAM“

1:2'5
REICHERT
WIEN
Nr.1001



ZU „BRÄUTIGAM“

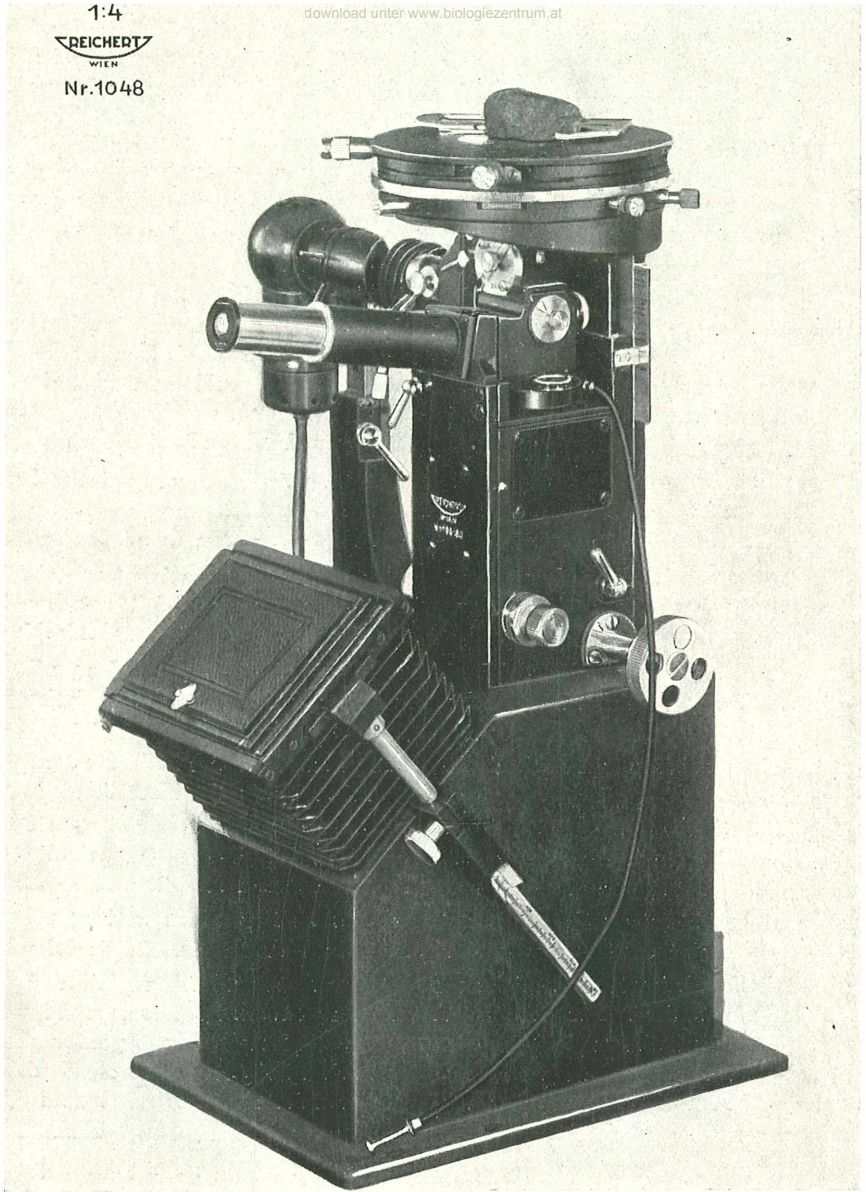
Abb. 2

1:4

download unter www.biologiezentrum.at

REICHERT
WIEN

Nr.1048



ZU „BRAUTIGAM“

Abb.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1946/1947

Band/Volume: [1](#)

Autor(en)/Author(s): Grabner Alfred

Artikel/Article: [Mikrofotografie in Farben. 29-48](#)