

# PHASENKONTRASTKONDENSOR- KF-1

УСТРОЙСТВО ДЛЯ НАБЛЮДЕНИЯ МЕТОДОМ ФАЗОВЫХ КОНТРАСТОВ КФ-1

## **Merkmale des Phasenkontrastverfahrens**

Wie Sie wissen, haben wir es in der Mikroskopie am häufigsten mit kontrastarmen Präparaten zu tun. Um solche Präparate sichtbar zu machen und einen ausreichenden Kontrast zu erhalten, ist es notwendig, sie einzufärben; dabei sterben lebende Präparate meist ab oder verändern ihre Struktur.

Eine der einfachsten Möglichkeiten, den Kontrast bei farblosen Proben zu erhöhen, ist die Verwendung von Aperturblendenkondensoren nach Abbe ([OI-14](#)), was jedoch die Auflösung und die Beleuchtungsstärke verringert, und der Betrag der Kontraststeigerung ist vernachlässigbar.

Die beste Methode zur Beobachtung von ungefärbten, kontrastlosen Präparaten war bisher die Dunkelfeldbeobachtung, die erfolgreich in der Bakteriologie und bei Kolloidstudien eingesetzt wurde. Diese Methode ergibt jedoch einen umgekehrten Kontrast: helle Bereiche des Präparats erscheinen dunkel und umgekehrt. Außerdem lassen sich mit dieser Methode nur die Konturen des Präparats erkennen, was eine Beurteilung seiner inneren Struktur unmöglich macht.

Eine perfekte Darstellung einer Präparation ist durch die Beobachtung mit dem Phasenkontrastverfahren gegeben. Diese Methode ermöglicht es, ungefärbte, nicht kontrastierte Objekte zu beobachten und ihr Kontrastbild zu erhalten, in dem dunkle und helle Flecken unterschiedlicher Dicke oder optischer Dichte im Präparat entsprechen.

Das Phasenkontrastverfahren eröffnet breite Möglichkeiten zur Untersuchung von lebenden, ungefärbten Präparaten.

## **Elementare Theorie der Methode**

Das Bild in einem Mikroskop entsteht aufgrund von Beugungserscheinungen des Lichts. Eine mikroskopische Probe wird als Gitter mit regelmäßiger Struktur betrachtet, z. B. als abwechselnde dunkle und helle Linien, die in gleichen Abständen angeordnet sind. Beim Durchlaufen eines solchen Gitters wird das Licht infolge der Beugung nicht nur in seine ursprüngliche Richtung, sondern auch in einige andere Richtungen abgelenkt, und zwar in einem bestimmten Winkel zur ursprünglichen Richtung. Dieser Winkel ist umso größer, je dünner die Struktur des Präparats ist.

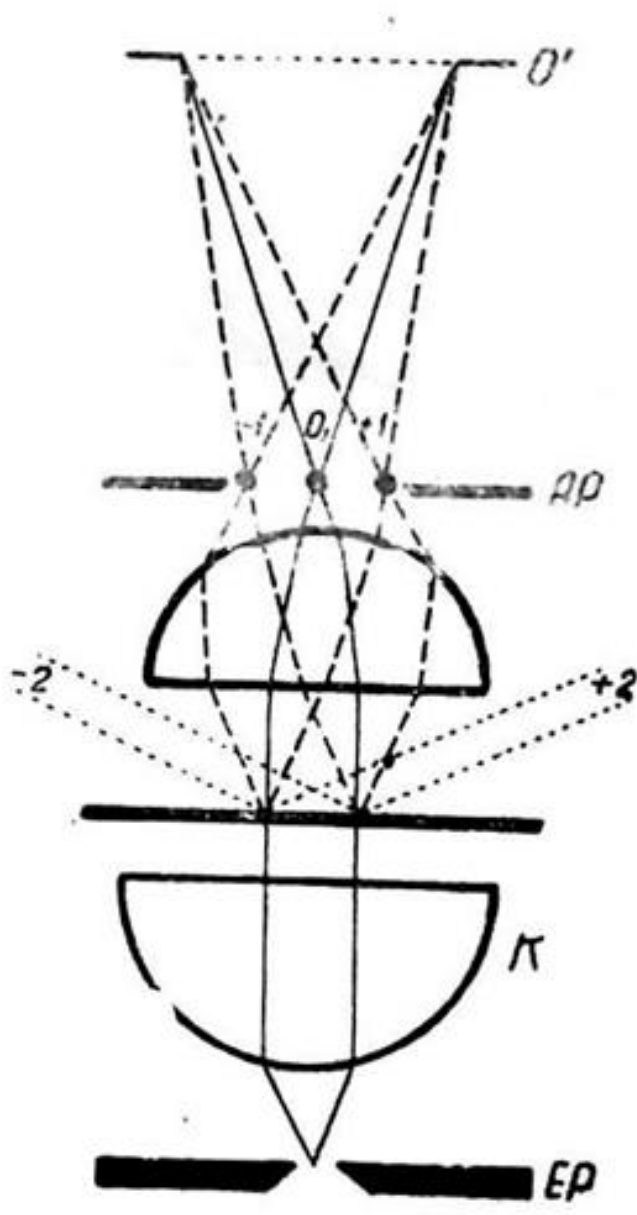


Рис. 1.

Schematisch ist der Verlauf der Strahlen in Abb. 1 dargestellt. Das von der Mitte der Aperturblende EP ausgehende Licht durchläuft den Kondensator des Mikroskops K und verlässt ihn in einem parallelen Strahl auf das Objekt O, das das Gitter ist. Das Licht durchläuft dann das Objektiv in seiner ursprünglichen Richtung und wird aufgrund von Beugung in die Richtungen  $\pm 1$  und  $\pm 2$  gebeugt, wie durch die gestrichelten Linien dargestellt:

Diese Strahlenbündel werden von der Linse in ihrer Brennebene AP gesammelt, wo das Bild der Kondensor-Aperturblende entsteht: im Punkt  $O1'$  der Strahlen, die das Objekt ohne Brechung passieren, und in den Punkten  $\pm 1$  der gebrochenen Strahlen, die durch die gestrichelte Linie dargestellt sind.

In der Brennebene des Objektivs erhalten wir also das sogenannte Beugungsspektrum.

Die aus dem Beugungsspektrum austretenden Strahlenbündel werden in der Bildebene  $O1$  gesammelt, wo ihre Interferenz ein dem Objekt  $O1$  ähnliches Bild erzeugt. Dieses Bild erscheint nur, wenn das Objektiv mindestens das erste Beugungsmaximum durchlässt.

Das Beugungsspektrum kann man sehen, wenn man das Okular herausnimmt und in den Tubus des Mikroskops schaut; dabei sieht man das in Abb. 2a und 2b gezeigte Bild:

a - in Abwesenheit der Zubereitung, b - in Anwesenheit des Gitters.

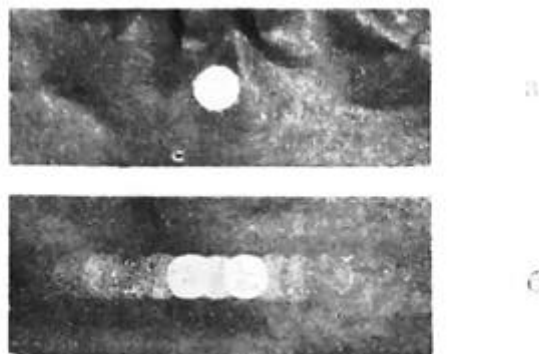


Рис. 2.

Die Intensität des zentralen Bildes ist viel größer als die Intensität der seitlichen Maxima, die umso schwächer sind, je weiter sie vom Zentrum entfernt sind.

Das zentrale helle Minimum wird von den Strahlen empfangen, die ohne Brechung durchgelaufen sind. Seitliche Maxima werden durch die Strahlen erzeugt, die an der Grenze zwischen den dunklen und hellen Strichen des Gitters gebrochen werden.

Die Verteilung der Intensität im Beugungsspektrum hängt vom Verhältnis der Breiten der hellen und dunklen Linien sowie von ihrer optischen Dichte ab.

In der Mikroskopie werden zwei Arten von Objekten unterschieden:

Objekte, deren Lichtabsorption an verschiedenen Stellen unterschiedlich ist. Solche Objekte verändern die Intensität des Lichts, das durch sie hindurchgeht, d.h. sie verändern die Größe der Amplitude der Lichtschwankung, die die Intensität bestimmt, und werden deshalb "Amplituden"-Objekte genannt. Zu diesen Objekten gehören alle farbigen Präparate; sie werden mit mehr oder weniger Kontrast abgebildet.

Objekte, deren Lichtabsorption sich in verschiedenen Bereichen nicht ändert, sondern nur ihre Dicke oder optische Dichte. Solche Objekte verändern nicht die Intensität des durchgelassenen Lichts, sondern ändern nur die Phase der Schwingung. Da eine Änderung der Schwingungsphase weder mit dem Auge noch mit einer fotografischen Platte sichtbar ist, sind solche Objekte unsichtbar und werden als "Phasen"-Präparate bezeichnet.

Die Schwingungsphase des Durchlichts ändert sich proportional zum Unterschied in der Dicke oder optischen Dichte verschiedener Teile der Präparation. Phasenpräparationen umfassen alle ungefärbten, nicht kontrastierenden Objekte.

Ein Phasengitter kann man sich als ein Beugungsgitter vorstellen, das aus abwechselnden Bändern und Schlitzen mit gleicher Lichtdurchlässigkeit, aber unterschiedlichen optischen Dicken besteht. Das Phasengitter ist in Abb.3 dargestellt.

Ein solches Gitter bewirkt eine Phasenänderung des Lichts, das die Schlitze passiert hat, in Bezug auf das Licht, das die Vorsprünge passiert hat.

Wie bei einem Beugungsgitter beobachten wir, dass sich das Licht, das das Phasengitter durchläuft, vom Beugungsspektrum des Amplitudengitters durch die Intensität des zentralen Peaks, der viel heller ist, und durch die Phasendifferenz zwischen dem Null- und den Seitenpeaks unterscheidet.

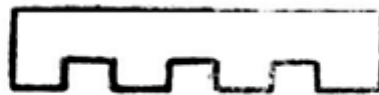


Рис. 3.

Nach der Beugungstheorie werden wir in der Bildebene  $O^1$  (Abb. 1) ein dem Objekt ähnliches Bild erhalten, und da wir das Objekt kontrastlos, unsichtbar hatten, werden wir auch ein gleichmäßig beleuchtetes weißes Feld in der Bildebene  $O^1$  erhalten.

Die Methode der Phasenkontraste besteht darin, ein kontrastiertes Bild in der  $O^1$ -Bildebene des Mikroskops zu erhalten, bei dem die Intensitätsverteilung der Phasendifferenzverteilung im Objekt entsprechen würde. In diesem Fall wären wir in der Lage, "unsichtbare" Objekte zu sehen.

Wie Theorie und Erfahrung gezeigt haben, ist das durchaus möglich. Es ist nur erforderlich, dass das durch das Phasengitter gegebene Beugungsspektrum dem Beugungsspektrum des Amplitudengitters gleicht. Dazu ist es notwendig, eine Phasendifferenz zwischen dem Null- und dem Seitenmaximum um  $90^\circ$  zu verändern und die Intensität des Nullmaximums zu verringern. Folglich muss eine Platte in der Brennebene des Objektivs platziert werden, um das zentrale Maximum zu überlappen, seine Intensität zu verringern und die Phase um  $90^\circ$  zu ändern.

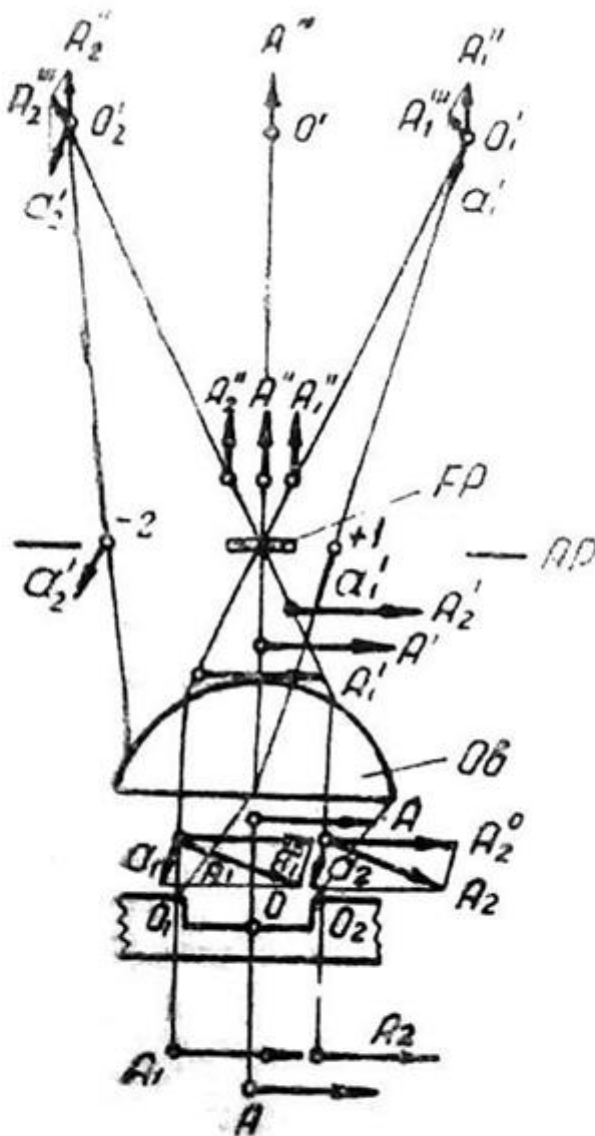


FIG. 4.

Zur Erläuterung der Methode sei hier auf Abb. 4. Hier ist  $O_1O_2$  ein Objekt, das eine Kombination aus Schlitz  $O$ , Vorsprüngen  $O_1$  und  $O_2$  darstellt.

Stellen wir die Amplitude der Lichtschwingung als einen Vektor dar, dessen Größe die Intensität des Lichts bestimmt, und seine Richtung - die Phase der Schwingung. Ein Lichtstrahl mit den Amplituden  $A$ ,  $A_1$  und  $A_2$ , bzw. deren Spalt und zwei benachbarten Leisten fällt auf das Objekt. Da unsere Präparation phasengleich ist, ändert sich die Intensität des Lichts nach dem Durchgang nicht, und folglich ändert sich auch der Betrag der Vektoren  $A$ ,  $A_1$  und  $A_2$  nicht.

Der Vektor  $A$ , der den Schlitz durchquert hat, ändert weder seinen Betrag noch seine Phase; die Vektoren  $A_1$  und  $A_2$  bleiben zwar in ihrem Betrag unverändert, ändern aber ihre Richtung, wie in der Abbildung unterhalb des Vorsprungs des Gitters gezeigt.

Die Richtungsänderung wird aufgrund der unterschiedlichen Dicke des Objekts umso geringer ausfallen, je kleiner der Wegunterschied an der Stelle des Schlitzes und des Vorsprungs ist.

Wir können die Vektoren  $A_1$  und  $A_2$  oberhalb der Gitterleiste nach der Parallelogrammregel in zwei Komponenten zerlegen, wobei wir die Richtung und den Wert einer der Komponenten gleich dem Vektor unter dem Schlitz wählen. Dann wird die zweite Komponente, die von der Größe her unbedeutend ist, mit der ersten einen Winkel von annähernd  $90^\circ$  einnehmen, und umso größer wird der Unterschied des Weges sein. In der Abbildung sind diese Komponenten durch die Vektoren  $a_1$  und  $a_2$  dargestellt. Die Vektoren  $A_1^\circ$ ,  $A_2^\circ$  und  $A$ , dargestellt in der Ebene  $AR$  durch die Vektoren  $A_1'$ ,  $A_2'$  und  $A'$ , nehmen an der Bildung des Nullmaximums teil, während die Vektoren  $a_1$  und  $a_2$ , dargestellt in derselben Ebene durch die Vektoren  $a_1'$  und  $a_2'$  an der Bildung der Seitenmaxima  $+1$  und  $-2$  teilnehmen.

In der Ebene  $AR$  wird eine Phasenplatte  $EP$  platziert, die das Null-Maximum abdeckt, dessen Intensität um  $50\%$  reduziert und die Phase der Schwingung um  $90^\circ$  ändert. Nach dem Austritt des Lichts aus dem Gitter durch das Null-Maximum wird sein Zustand durch die Vektoren  $A_1''$ ,  $A''$ ,  $A_2''$  dargestellt, die um  $90^\circ$  in Bezug auf die Vektoren  $A'$ ,  $A_1'$ ,  $A_2'$  gedreht sind und einen um das Doppelte geringeren Betrag aufweisen.

Nach der Beugungstheorie erhalten wir in der Ebene  $O_2'$ ,  $O'$ ,  $O_1'$  ein Bild des Objekts. Im Punkt  $O'$  kommt das Licht, das durch das Nullmaximum aus dem Spalt mit der Amplitude  $A''$  geht, im Punkt  $O_2'$  und  $O_1'$  an - das Licht, das durch das Nullmaximum aus der Leiste und durch die Seitenmaxima mit den Amplituden  $A_2''$  und  $a_2' - A_1''$  bzw.  $a_1'$  geht. Um die Resultierende zu erhalten, ist es notwendig, diese Vektoren nach der Parallelogrammregel zu addieren. Als Ergebnis erhalten wir die Vektoren  $A_1''$  und  $A_2''$ . Wenn wir sie in ihrer Größe mit dem Vektor  $A''$  vergleichen, werden wir sehen, dass sie kleiner als dieser sind; deshalb werden wir in der Ebene  $O_2'$ ,  $O'$ ,  $O_1'$  an verschiedenen Stellen unterschiedliche Lichtintensität erhalten: zwischen den Punkten  $O_2'$  und  $O_1'$  wird die Beleuchtung stärker sein, als in den Punkten  $O_2'$  und  $O_1'$ , die dem dickeren Teil des Präparats entsprechen.

So entsteht im Sichtfeld des Mikroskops ein Bild der Gitterstruktur, dessen Intensitätsverteilung der Änderung ihrer Schwingungsphase entspricht. Wie gesagt, um den Kontrast zu erhalten, muss man nur die Differenz des Verlaufs des Nullmaximums ändern, ohne sie für die seitlichen Maxima zu ändern.

Dies ist mit einer Blende und Phasenplatte in Form eines Kreises nicht möglich, da sich die Null- und Seitenmaxima überschneiden, wie in Abb. 2b gezeigt; daher werden Blende und Phasenplatte in Form eines Rings gewählt, wie in Abb. 1 gezeigt. 5a und 5b; die Überlappung ist minimal und von geringem praktischen Nutzen.

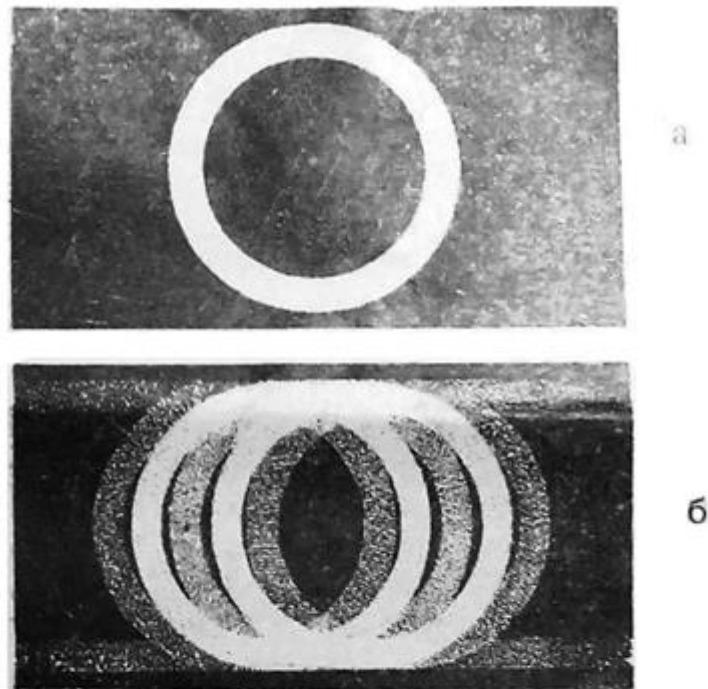


Рис. 5.

## DEFINITION UND ZWECK

Ein Phasenkontrast-Beobachtungsgerät, bestehend aus einem Satz Spezialobjektive, einem Kondensator und einem Hilfsmikroskop, dient zur Untersuchung von kontrastarmen Objekten, die unter normalen Beobachtungsbedingungen im Mikroskop nicht sichtbar sind, und ist für die Verwendung mit den biologischen Mikroskopen MBI-1, MBI-3, MBI-4, M-9 und M-10 vorgesehen.

Das Phasenkontrastgerät kann in Laboratorien von Bildungs- und Forschungseinrichtungen für verschiedene Operationen im Bereich der Biologie, Bakteriologie, Botanik, Medizin usw. eingesetzt werden, insbesondere zur Untersuchung lebender kontrastarmer Objekte ohne Färbung.

Der Hauptbestandteil des KF-1-Gerätes sind spezielle achromatische Phasenobjektive, die zusammen mit kreisförmigen Blenden, die in der Drehscheibe vor dem Kondensator installiert sind, die Möglichkeit der Beobachtung nach der Phasenkontrastmethode bieten.

Phasenobjektive sind wie herkömmliche Objektive für eine Tubuslänge von 160 mm und für die Verwendung mit 0,17 mm dickem Deckglas ausgelegt.

Der Hauptunterschied zwischen Phasenobjektiven und herkömmlichen Linsen besteht darin, dass sie einen Phasenring auf einer der Innenflächen der Linse mit bestimmten Abmessungen haben.

Phasen-Objektive werden in Verbindung mit Standard-Huygens-Okularen (oder Kompensationsokularen) verwendet und ermöglichen eine Gesamtvergrößerung des Mikroskops von bis zu 1350x.

Bei ausgeschalteter Kondensator-Ringblende können Phasenobjektive als herkömmliche Objektive verwendet werden.

## **LIEFERUMFANG**

Der KF-1-Bausatz enthält:

Achromat-Phasenobjektive

10X0,30

20X0,40

40X0,65

90X1,25 (Ölimmersion);

Phasenkondensator mit Revolver;

ein Hilfsmikroskop [MIR-4](#).

Das Zubehör des Geräts KF-1 ist in Abb.6 dargestellt.

## **KF-1 ZUBEHÖRKONSTRUKTION**

Phasen -Objektive

Phasenkontrast-Objektive unterscheiden sich von herkömmlichen Achromat-Objektiven nur dadurch, dass auf der Austrittspupillenebene des Objektivs ein Phasenring angebracht ist, der die Phase des Null-Maximums um 90° ändert und dessen Intensität reduziert.

Der Phasenring wird auf der Innenfläche einer der verklebten Linsen in der Nähe der Austrittspupille der Linse angebracht.



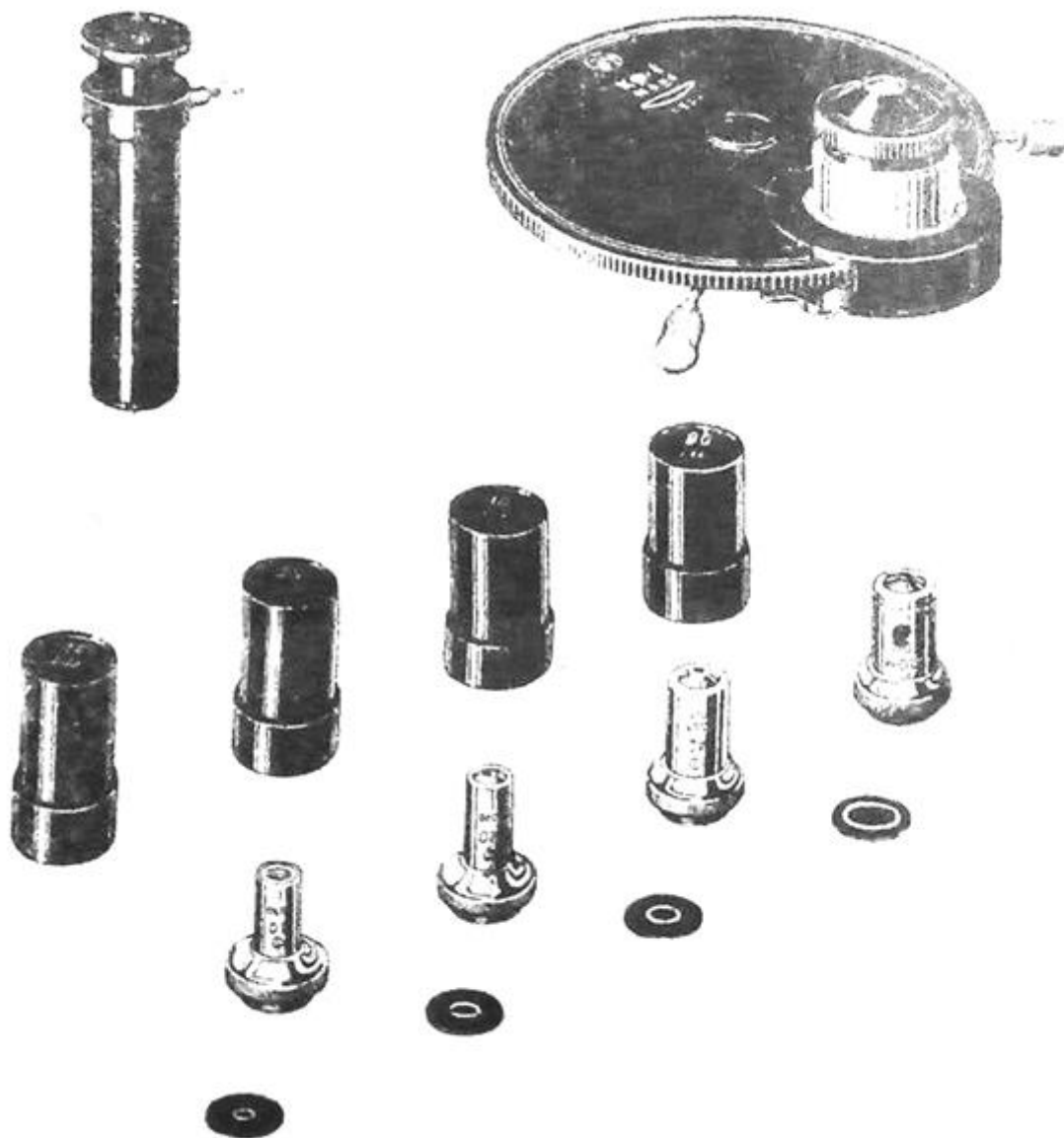


Рис. 6.

Wenn wir die Phasenobjektive von hinten betrachten, sehen wir einen dunklen Ring auf der Oberfläche der Linse, wie in Abbildung 7 dargestellt. 7. Auf dem Objektivdeckel ist zusätzlich zur üblichen Gravur der Buchstabe "F" eingraviert, was darauf hinweist, dass diese Objektive phasenverschoben sind. Die Verwendung dieser Objektive wird für Routineuntersuchungen nicht empfohlen, da sie aufgrund der Phasenplatte eine geringere Bildqualität liefern.



Рис. 7.

### **Drehbarer Phasenkondensator**

Der Phasenkontrastkondensator unterscheidet sich optisch nicht von einem Kondensator, außer dass in seiner Brennebene ein Blendenring angebracht ist. Da jedes Objektiv eine bestimmte Blende benötigt, ist im Kondensator ein Aperturwechsler eingebaut. Zusätzlich ist unter der Revolverscheibe eine Irisblende für die konventionelle Beobachtung und eine spezielle Bohrung in der Revolverscheibe für Durchlicht vorgesehen. Der Kondensator kann somit sowohl für die Beobachtung nach der konventionellen Methode als auch für die Beobachtung nach der Phasenkontrastmethode verwendet werden. Der Kondensator ist in Abb. 8 und 8a dargestellt.

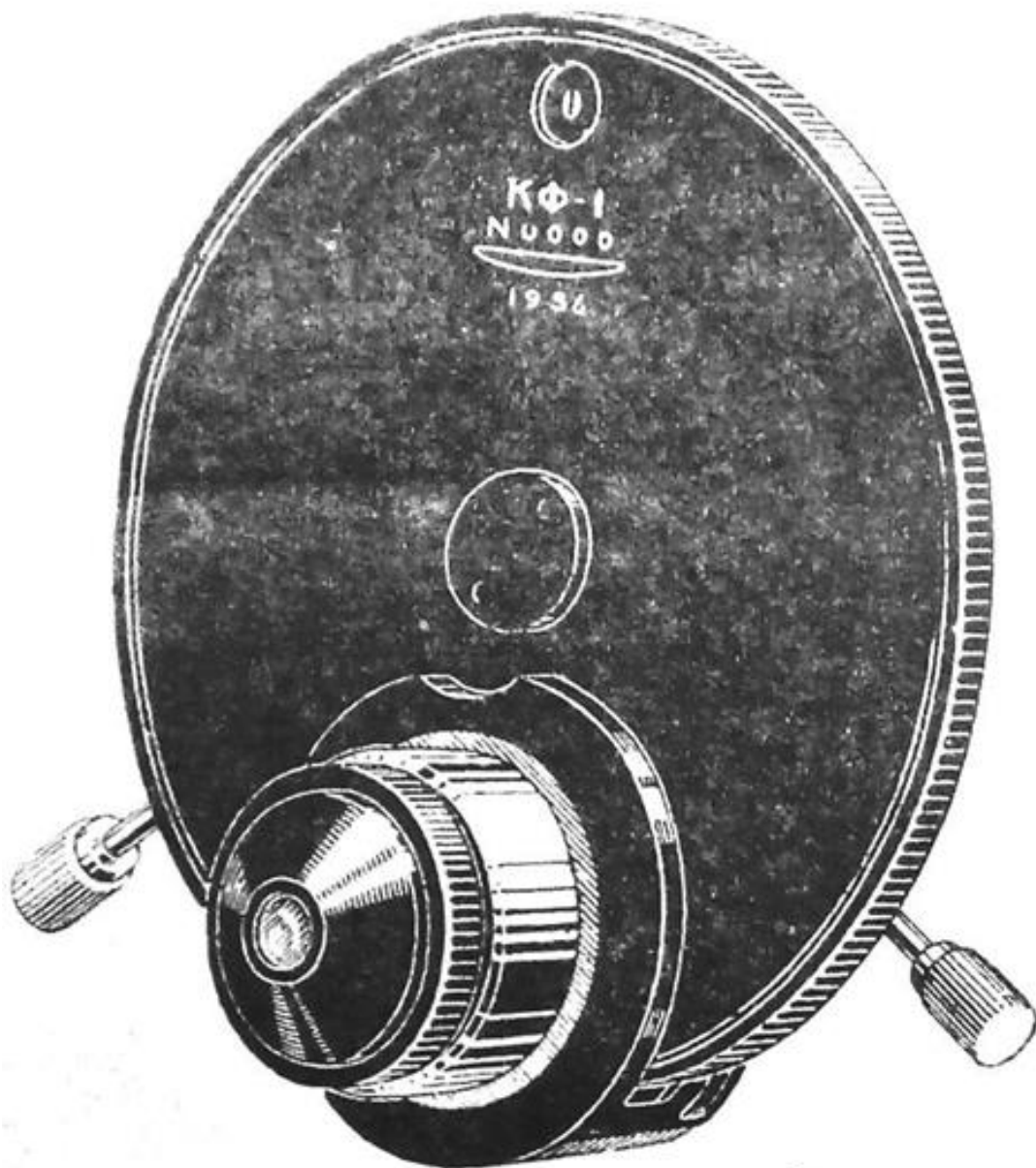


Рис. 8.

Der Kondensator wird in den Kondensatorhalter des Mikroskops MBI-1 oder M-9 eingesetzt und in gewohnter Weise mit einer Schraube darin festgeklemmt.

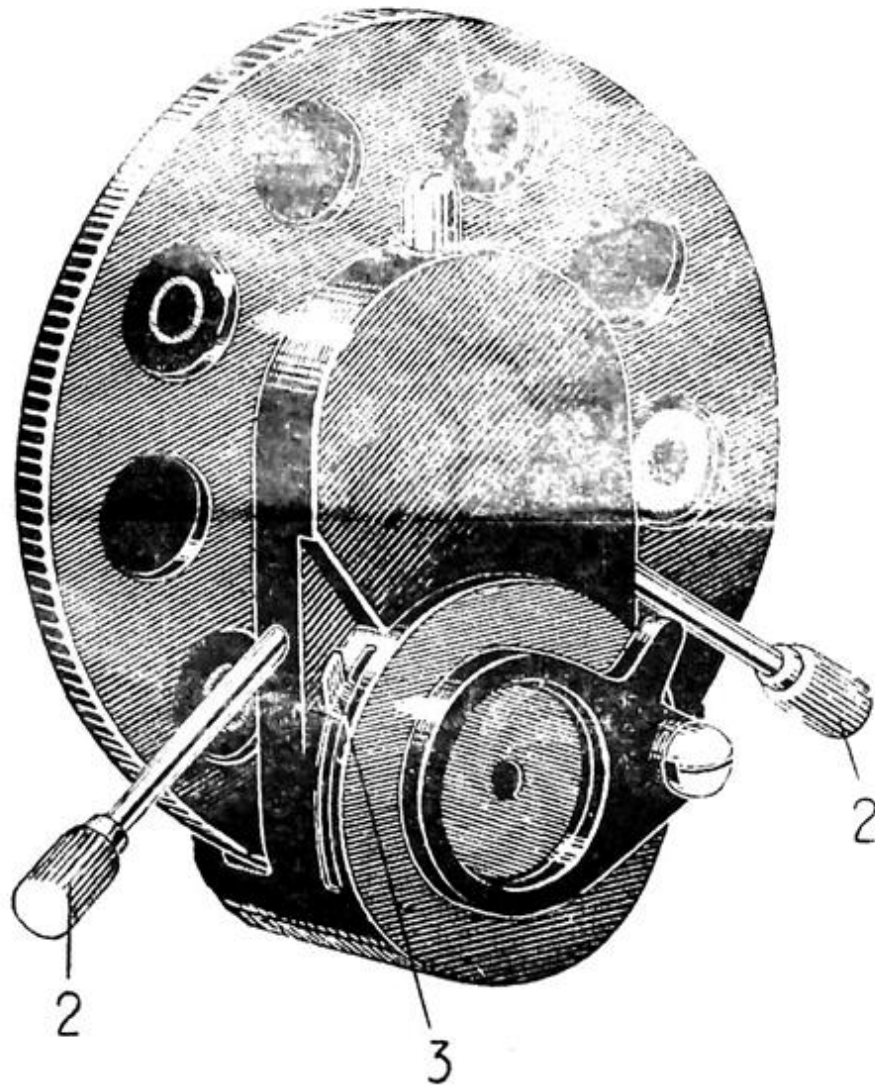


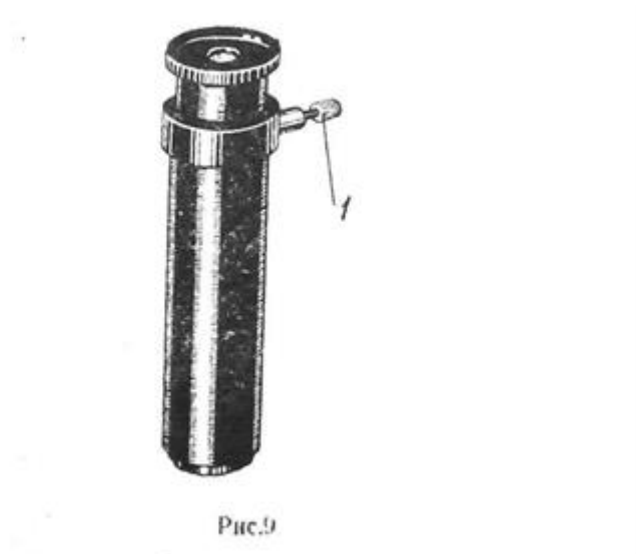
Рис. 8а.

Die Blenden werden, je nach verwendetem Objektiv, durch Drehen der Drehscheibe am gerändelten Teil bis zum Einrasten geändert, und im Fenster des Kondensordeckels sollte die Zahl erscheinen, die der Vergrößerung des verwendeten Objektivs entspricht (in Abbildung 8 entspricht die „0“ der freien Öffnung), wobei nur jede zweite Öffnung mit einer Phasenblende belegt ist.

Die beiden Schrauben 2 rechts und links dienen zur Zentrierung der Ringblende gegenüber der Phasenlinsenplatte. Der Handgriff 3 dient zum Öffnen der Irisblende.

## Hilfsmikroskop

Das Hilfsmikroskop [MIR-4](#). (Abb. 9) dient zur Beobachtung der Zentrierung der Kondensorringblende in Bezug auf die Phasenplatte des Objektivs. Es wird anstelle des Okulars in den Mikroskoptubus eingesetzt und nach Abschluss der Zentrierung wieder durch das Okular ersetzt. Das Mikroskop-Zubehör besteht aus einem Objektivtubus, in den ein Okulartubus eingesetzt wird. Der Okulartubus ist im Objektivtubus beweglich und kann durch die Schraube 1 in jeder Position arretiert werden.



## BETRIEB MIT PHASENKONTRASTGERÄT

Setzen Sie das ausgewählte Okular und die Phasenkontrast-Objektive in den Mikroskoptubus ein.

Tauschen Sie den Normalkondensator gegen den Phasenkontrastkondensator aus (der Kondensator-Revolver muss auf "O" stehen). Der Phasenkontrast-Kondensator kann immer an dem Mikroskop belassen werden, da er auch für Routinearbeiten im Durchlicht geeignet ist.

Legen Sie die Probe auf den Mikroskoptisch und richten Sie den Beobachtungstubus auf die Probe.

Richten Sie die Beleuchtungseinrichtung OИ-7 nach den Regeln der Normalbeleuchtung ein, d.h. der Lampenfaden sollte in der Ebene der Irisblende des Kondensators und die Feldapertur der Lampe - in der Ebene des Präparats - abgebildet sein. Die Leuchtfeldblende sollte in Bezug auf das Sichtfeld des Objektivs zentriert und entsprechend dem Sichtfeld des Okulars geöffnet sein (siehe Beschreibung des Mikroskops MBI-1 und der Beleuchtungseinrichtung OИ-7 für Details).

Öffnen Sie die Irisblende des Kondensors vollständig.

Setzen Sie das Hilfsmikroskop anstelle eines Okulars ein und stellen Sie dessen Okular auf den Phasenring des Objektivs ein (Abb. 7). Es darf weder der Grob- noch der Feintrieb des Mikroskops berührt werden.

Drehen Sie den Kondensator-Revolver, um die gewünschte Ringblende einzuschalten; die dem eingeschalteten Objektiv entsprechende Zahl sollte im Fenster der Kondensatorabdeckung erscheinen. Im Hilfsmikroskop sehen wir nun, neben dem Phasenring, den Lichtblendenring (Abb. 10a).

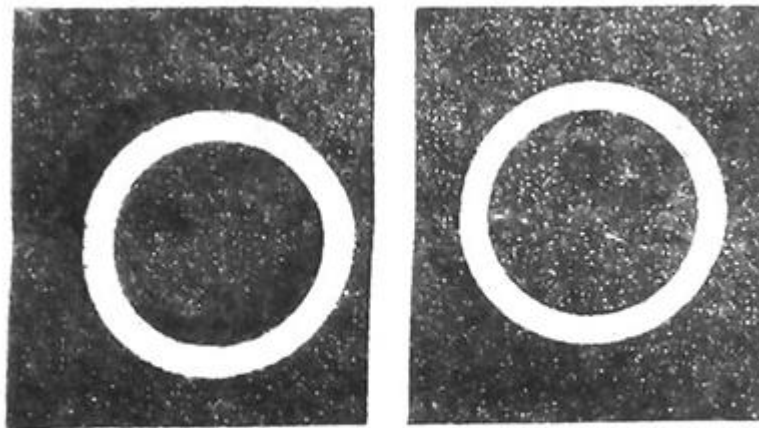


Рис. 10а и 10б

Richten Sie den hellen Ring mit dem dunklen Ring aus (Abb. 10b), indem Sie die Zentrierschrauben 2 des Kondensors drehen (Abb. 8a).

Ersetzen Sie das Hilfsmikroskop durch ein Okular.

Es wird empfohlen, die im Mikroskop-Set enthaltenen Lichtfilter zu verwenden, um einen größeren Effekt zu erzielen. Es ist zu beachten, dass man beim Wechsel des Objektivs oder der Präparation die Zentrierung der Ringblende mit dem Phasenring überprüfen sollte, danach kann man sicher sein, dass man den richtigen Kontrast erhält. Eine ungenaue Abdeckung führt zu einem geringeren Kontrast.

Die folgenden Fehler können bei Phasenkontrastbeobachtungen auftreten:

Das Sichtfeld ist ungleichmäßig ausgeleuchtet, es erscheinen dunkle Flecken.  
Ursache: falsche Kondensoreinstellung - die Feldblende wird nicht in der Objektebene abgebildet; es ist notwendig, den Kondensator so zu verschieben, dass die Feldblende möglichst scharf auf dem Präparat abgebildet wird.

Nach dem Einschalten der Kreisblende wird das Sichtfeld des Mikroskops dunkel. Grund: Irisblende ist geschlossen - es ist notwendig, sie vollständig zu öffnen.

Es wird ein unzureichender Kontrast erzielt. Ursache: Schlechte Zentrierung der Kreisblende und der Platte oder die falsche Blende ist eingerastet. Prüfen Sie die Zentrierung mit einem Hilfsmikroskop.

Um von der Phasenkontrastbeobachtung auf die Hellfeldbeobachtung umzuschalten, schalten Sie einfach den Kondensorrevolver auf die benachbarte freie Blende oder stellen Sie ihn auf "0"; bedenken Sie jedoch, dass Phasenkontrastobjektive im Hellfeld eine etwas schlechtere Bildqualität liefern.

### **GEWICHT UND ABMESSUNGEN**

Gerätgewicht in Betriebsstellung - 0,48 kg

Gewicht des kompletten Satzes - 0,79 kg

Gewicht des Geräts in einem Koffer - 1,6 kg

Abmessungen in Arbeitsposition - 120x108x55 mm

Abmessungen der Tragetasche - 220x150x82 mm









