

REICHERT

GEBRAUCHS ANWEISUNG

Dunkelfeld - Kondensoren
№ 706, 707, 702

OPTISCHE WERKE
C. REICHERT

WIEN XVII/107, HERNALSER HAUPTSTR. 219
(EINGANG : URBANGASSE 6)

OPTICAL WORKS
Vienna XVII/107 (Germany)

ATELIERS D'OPTIQUE
Vienne XVII/107 (Allemagne)

10 Gebote

zur Arbeit mit Dunkelfeld-Kondensoren für Eilige

1. Dunkelfeld-Kondensor in die Kondensorklemmhülse einführen. Kondensor in die höchste Lage bringen; Frontlinse des Kondensors muss in der Tisebene des Mikroskopes liegen.
2. Mikroskop-Objektive mit Objektiv-Aperturblenden versehen.
3. Beim Aplanatischen Dunkelfeld-Kondensor Nr.706 Frontlinse schräg von oben beleuchten. Mit einem schwachen Objektiv auf die Frontlinse einstellen und die dort eingravierten Zentrierringe suchen. Kondensor mit seinen zwei Zentrierschrauben zentrieren bis die Zentrierringe konzentrisch zum Gesichtsfeldrand liegen.
4. Eine Mikroskopierlampe mit kleiner Leuchtfläche und verstellbarem Kollektor etwa 10 bis 20 cm weit vom Mikroskop aufstellen. Licht parallel oder wenig konvergent auf die Mitte der ebenen Seite des Mikroskopspiegels richten.
5. Objektträger und Deckgläser von tadelloser Oberflächenbeschaffenheit und richtiger Dicke (1 mm, bzw. 0,18 mm) auswählen und sorgfältig reinigen; Kontrolle der Reinheit durch Schrägsicht über dunklem Untergrund, wobei kein heller Schimmer sichtbar sein darf. Objektträger Nr.742 mit abgeschrägter Karkante nach unten verwenden..
6. Zur Herstellung des Präparates wenig Material in dünner Schicht. Deckglas mit reinem Holzstückchen fest aufdrücken.
7. Vor dem Auflegen des Präparates je einen Tropfen Immersionsmittel auf die Oberseite der Kondensor-Frontlinse und auf die Unterseite des Objektträgers (Achtung auf Blasenfreiheit). Beim Auflegen Tropfen auf Tropfen.
8. Erste Orientierung im Präparat mit schwachem Objektiv und mittelstarkem Okular (z.B. Objektiv 10 x und Okular 10 x).
9. Mikroskopspiegel so wenden, dass bei Sicht von aussen ein heller Lichtfleck über der Mitte des Kondensors, bei Hineinschauen ins Mikroskop aber in der Mitte des Gesichtsfeldes erscheint.
10. Erst am Schluss zur Untersuchung der Einzelheiten mit starkem Objektiv übergehen. Spiegel nochmals nachstellen.

Allgemeine Anweisungen zur Dunkelfeld-Mikroskopie

Das Mikroskop.

Unsere Dunkelfeld-Kondensoren können an jedem Reichert-Mikroskop verwendet werden, wenn dieses einen mit einer Einstellvorrichtung versehenen Beleuchtungsapparat besitzt. Soll einer der Kondensoren an einem Mikroskop fremder Erzeugung verwendet werden, - welche Kondensorklemmhülsen von abweichender Weite besitzen -, so muss im allgemeinen ein normaler Kondensor des betreffenden Instrumentes samt seinem Stutzen an uns eingesandt werden, damit wir unseren Kondensor mit einem entsprechenden Passring versehen. Beim Aplanatischen Dunkelfeld-Kondensor Nr. 706, der zur Verwendung auswechselbarer Passringe eingerichtet ist, genügt dagegen die Angabe der Erzeugerfirma des Mikroskopes und der auf dieses gravierten Erzeugungsnummer.

Die Objektträger und Deckgläser für Dunkelfeld-Mikroskopie.

Die Dicke des Objektträgers.

Das Leuchtfeld der Dunkelfeld-Kondensoren befindet sich in ganz bestimmter Entfernung von der Frontlinse desselben. Vor und hinter dieser Stelle ist das Leuchtfeld keine volle Kreisfläche, sondern nur ein Kreisring. Im Gegensatz zur Hellfeld-Mikroskopie muss sich daher die Präparatebene genau am Ort des Leuchtfeldes befinden oder - mit anderen Worten - es dürfen nur Objektträger von ganz bestimmter Dicke verwendet werden. Unsere Dunkelfeld-Kondensoren sind für die Verwendung von Objektträgern von genau 1 mm Dicke (Toleranz $\pm 0,1$ mm) bestimmt. Diese richtige Objektträgerdicke ist auf alle Kondensoren graviert vermerkt. Sie muss bei der Auswahl von Objektträgern zur Dunkelfeld-Mikroskopie genau eingehalten werden und sie ist bei einer Nachbestellung von Objektträgern zu diesem Zweck im Auftrag an uns unbedingt anzuführen.

Bei Verwendung der Kondensoren mit Cedernholzöl-Immersion ($n_D = 1,515$) können behelfsmässig auch Objektträger verwendet werden, welche dünner sind, als der genauen Vorschrift entspräche. Der Kondensor muss in diesem Falle nur mit Hilfe der Einstellvorrichtung des Beleuchtungsapparates des Mikroskopes so weit gesenkt werden, bis ein vollkommen gleichmässiges Leuchtfeld - also ohne dunklen Fleck in der Mitte -

entsteht. Bei der Verwendung der Kondensoren mit Wasser-Immersion ($n_D = 1,333$) muss dagegen die richtige Objektträgerdicke peinlich genau eingehalten werden.

Die Objektträger Nr. 742

Da die gewöhnlichen Objektträger manchmal kleine Risse, Schrammen oder auch punktförmige im Glas gelegene Unreinlichkeiten aufweisen, empfiehlt sich für exaktes Arbeiten die besonders für die Dunkelfeld-Mikroskopie bestimmten, fein geschliffenen Objektträger Nr. 742 zu verwenden. Zur Kennzeichnung der fein geschliffenen Fläche des Objektträgers ist eine seiner kurzen Kanten schräg abgeschliffen; die feingeschliffene Fläche ist jene, welche durch den Schrägschliff nicht verkürzt ist. Das zu untersuchende Material ist also so auf den Objektträger zu bringen, dass die Abschrägung an der Kanten nach abwärts weist. Diese Objektträger müssen stets sorgfältig gereinigt und in weiches Seidenpapier eingeschlagen, aufbewahrt werden.

Die Objektträger Nr. 741b.

Bei diesem Objektträger ist die eigentliche Präparatfläche, also jene Stelle, auf welche das zu untersuchende Material gebracht wird, etwas über die übrige Fläche erhöht. Bringt man ein Tröpfchen des flüssigen Untersuchungsmaterials auf diese erhöhte Präparatfläche und belegt man es dann mit einem Deckglas, so wird das Deckglas durch seine Adhäsion fest auf die erhöhte Präparatfläche aufgepresst, die überschüssige Flüssigkeit rinnt in eine die Präparatfläche umgebende Rinne und man erhält ein Präparat mit sehr dünner und gleichmässiger Materialschicht.

Die Dicke der Deckgläser.

Da sich bei der Dunkelfeld-Mikroskopie alle aus von der Norm abweichender Deckglasdicke resultierenden Abbildungsfehler in weitaus stärkerem Masse bemerkbar machen als im Hellfeld, muss man auch auf die richtige Dicke der Deckgläser ein besonderes Augenmerk richten. Unsere Objektive sind durchwegs für Deckgläser von 0,18 mm Dicke (Toleranz $\pm 0,01\text{mm}$) berechnet und dürfen nur Deckgläser dieser Dicke für die Dunkelfeld-Mikroskopie verwendet werden.

Die Deckgläser Nr. 746.

Um ganz sicher zu gehen, dass nur Deckgläser richtiger Dicke

verwendet werden, empfiehlt es sich die besonders für die Dunkelfeld-Mikroskopie bestimmten Deckgläser Nr. 746 zu verwenden, welche bei einer Grösse von 18 x 18 mm eine Dicke von genau 0,18 mm aufweisen.

Die Reinigung von Objektträgern und Deckgläsern .

Jede Unreinlichkeit auf Objektträgern oder Deckgläsern (Staub, Schrammen u. dgl., aber auch Fingerabdrücke !) macht sich im Dunkelfeld sofort als helle, diffus leuchtende Verschleierung des Gesichtsfeldes bemerkbar. Die zur Verwendung gelangenden Objektträger und Deckgläser müssen daher vor Gebrauch sorgfältig mit heissem Wasser gewaschen, dann abgespült und schliesslich mit einem reinen, nichtfasernden und vollkommen fettfreien Leinenlappen trocken gerieben werden. Zur Kontrolle hält man das betreffende Glas über einen dunklen Untergrund und blickt schräg auf seine Fläche, wobei nicht der geringste grau-schimmernde Hauch sichtbar sein darf.

Die Objektive und Okulare.

Da bei der Dunkelfeld-Mikroskopie alle Abbildungsfehler der Optik sehr stark zur Auswirkung kommen, dürfen für sie nur bestens korrigierte Objektive verwendet werden. Um bei der Beobachtung lebenden Materials, z.B. von Spirochaeten, ein möglichst grosses Gesichtsfeld überblicken zu können, verwendet man zweckmässig ein schwächeres Objektiv in Verbindung mit einem stärkeren Okular. Zur genaueren Untersuchung dagegen wird die Kombination Objektiv-Okular wie üblich so gewählt, dass die erreichte Gesamtvergrösserung nicht das 1000-fache der Numerischen Apertur des Objektives überschreitet. Ueber ein besonders zur Dunkelfeld-Mikroskopie bestimmtes Immersions-Objektiv vergleiche Seite 5.

Die Objektiv-Aperturblenden.

Wenn Objektive von verhältnismässig hoher Numerischer Apertur zur Dunkelfeld-Mikroskopie verwendet werden, so muss deren Apertur so weit eingeschränkt werden, dass keine Spur von Licht direkt aus dem Kondensor in das Objektiv gelangen kann. Ueberdies wirkt eine solche Einschränkung der Objektivapertur auch der bildverschlechternden Wirkung einer allfälligen, abweichenden Deckglasdicke entgegen. Je nach der Type des Kondensors und seiner Anwendung muss von einer anderen Objektivapertur an, diese eingeschränkt werden :

Bei Verwendung des Aplanatischen Dunkelfeld-Kondensors und des Aplanatischen Hell-Dunkelfeld-Wechselkondensors mit Cedernholzöl-Immersion muss die Objektivapertur eingeschränkt werden, wenn sie höher als 1,00 ist.

Bei Verwendung der beiden genannten Kondensoren mit Wasser-Immersion und bei Verwendung des einfachen Dunkelfeld-Kondensors Nr. 702 mit Cedernholzöl- oder Wasser-Immersion muss die Objektivapertur eingeschränkt werden, wenn sie höher als 0,65 ist.

Je nach der Ausführungsform des verwendeten Objektives kommen verschiedene Objektivaperturblenden zur Anwendung:

Für jene Objektive, deren Fassung in modernster Ausführungsform ein einheitliches Ganzes bilden und leicht daran erkannt werden können, dass ihre Fassung einen vollkommen glatten Zylinder bildet, werden Objektiv-Aperturblenden zum Einschrauben verwendet. Zur Befestigung der Aperturblende wird die am Gewindeflansch des Objektives befindliche Abschlussblende herausgeschraubt und die Objektiv-Aperturblende in diese eingeschraubt.

Für mit Korrektionsfassung versehene Objektive werden Objektiv-Aperturblenden zum Einhängen verwendet. Sie werden einfach von der Seite des Gewindeflansches des Objektives in dieses eingehängt.

Für jene Objektive, welche aus zwei Teilen, der die Linsen tragenden Fassung und dem leeren Konus, bestehen und leicht daran erkannt werden können, dass ihre Fassung eine Reihe von Rändelringen zeigt, werden Objektiv-Aperturblenden auf einem eigenen Konus verwendet. Zu ihrer Befestigung wird der die Linsen tragende Teil des Objektives vom Objektivkonus abgeschraubt und auf den Konus der Objektiv-Aperturblende aufgeschraubt.

Spezial-Dunkelfeld-Objektiv mit eingebauter Apertur-Irisblende

Von diesen Objektiven werden zwei Formen ausgeführt, für eine mechanische Tubuslänge von 160 mm das Objektiv "Ol-Im Blende NA = 1,25 100x" ("BARIS") und für 250 mm mechanischer Tubuslänge das Objektiv "Ol-Im Blende NA = 1,25 160 x 250." ("JAE OA"). Wenn diese Objektive für normales Hellfeld verwendet werden, so bleibt ihre Irisblende - die mittels eines

Stellringes an der Fassung betätigt wird - ganz geöffnet. Bei Arbeiten im Dunkelfeld wird die Blende so weit geschlossen, bis das Gesichtsfeld ganz rein und mit tiefschwarzem Untergrund erscheint.

Die Beleuchtung.

Zur Dunkelfeld-Mikroskopie sind kräftige Lichtquellen erforderlich, denn die Lichtstärke der beleuchteten Teilchen sinkt mit der sechsten Potenz ihrer linearen Grösse. Jedonfalls muss die verwendete Lampe mit einem Kollektor ausgestattet sein. Sehr gut eignen sich für die Dunkelfeld-Mikroskopie die Reichert-Mikroskopierlampen "Lux FN", "Lux FDN" und "Lux RC"; für einfachere Untersuchungen kann auch die für direkten Netzanschluss eingerichtete Mikroskopierlampe "Lux P" verwendet werden, mit der allerdings keine ganz gleichmässige Ausleuchtung des Gesichtsfeldes erreicht werden kann.

Die zur Verwendung kommende Lampe wird in einer Entfernung von etwa 10 bis 20 cm vom Mikroskop aufgestellt. Ihr Licht wird auf die Mitte der ebenen Seite (!) des Mikroskopspiegels gerichtet und der Lampenkollektor so eingestellt, dass auf dem Spiegel ein Lichtfleck entsteht, der etwas grösser ist als die Eintrittsöffnung des Dunkelfeldkondensors (16 mm). Ist dieser Lichtfleck bedeutend grösser, so kann das mikroskopische Bild zu dunkel werden, ist er bedeutend kleiner, so wird das Gesichtsfeld nicht gleichmässig ausgeleuchtet.

Die Herstellung von Dunkelfeld-Präparaten.

Da es sich bei der Dunkelfeldmikroskopie zumeist um die Untersuchung von flüssigen Materialien handelt, beziehen wir uns im folgenden nur auf die Herstellung solcher Präparate.

Man bringt ein kleines Tröpfchen des zu untersuchenden Materiales auf die Mitte des sauberen, trockenen Objektträgers und belegt mit einem Deckglas. Das Deckglas wird dann niedergedrückt, damit eine dünne Flüssigkeitsschicht entsteht und überflüssiges Material austritt; zum Niederdrücken muss man einen ganz reinen, trockenen und fettfreien Gegenstand verwenden, damit das Deckglas nicht verschmutzt wird (Präpariernadel, Spitze eines Federmessers od.dgl., keinesfalls einen Bleistift oder gar den Finger). Schliesslich wird die seitlich vom Deckglas ausgetretene überschüssige Flüssigkeit

mit einem Stückchen Filtrierpapier abgesaugt.

Häufig zeigt es sich, dass das Material im Präparat zu dicht liegt, sodass sich die einzelnen Teilchen überlagern. In einem solchen Falle muss das ursprüngliche Material mit destilliertem Wasser so stark verdünnt werden, dass im Präparat nur eine einzige Schicht von Materialteilchen entsteht.

Spezielle Anweisungen für die verschiedenen Dunkelfeld-
Kondensoren.
=====

Der Aplanatische Dunkelfeld-Kondensor Nr.706.

Der Kondensor wird in die Kondensor-Helmhölse des Beleuchtungsapparates des Mikroskopes vollständig, d.h. bis zum Anschlagen eingeführt, wobei darauf zu achten ist, dass der Kondensor so gedreht wird, dass seine beiden Zentrierschrauben mit der Hand bequem erreicht werden können. Der Kondensor wird nun mit Hilfe der Einstellvorrichtung des Beleuchtungsapparates so weit gehoben, bis sich die Oberfläche der Frontlinse genau in der Tischebene befindet. Man stellt nun mit Hilfe eines schwachen Mikroskop-Objektives auf die Oberfläche der Frontlinse des Kondensors ein, wobei man diese gleichzeitig schräg von oben her mit einer Mikroskopierlampe beleuchtet. Dabei werden auf der Frontlinse zwei konzentrische, gravierte Zentrierkreise sichtbar. Liegen diese nicht genau konzentrisch im mikroskopischen Gesichtsfeld, so verschiebt man den Kondensor mit Hilfe seiner beiden Zentrierschrauben so lange, bis dieses genau der Fall ist.

Der Aplanatische Hell-Dunkelfeld-Wechselkondensor Nr.707.

Dieser Kondensor wird gerade ebenso wie der vorgenannte Kondensor Nr.706 in den Beleuchtungsapparat des Mikroskopes eingesetzt, doch entfällt bei ihm das Zentrieren. Dagegen ist darauf zu achten, dass der Kondensor so in die Kondensor-Helmhölse eingeschoben wird, dass der an seiner Unterseite befindliche Hebel vollkommen frei beweglich bleibt. Dieser Hebel dient zur Umschaltung auf Hellfeld.

Bei Arbeiten in reinem Dunkelfeld muss der Schalthebel vollkommen, d.h. bis zum Anschlagen ausgeschwenkt sein. Wird der Hebel langsam eingeschwenkt, so treten zu den die Dunkelfeldbeleuchtung bewirkenden Lichtstrahlen hoher Apertur langsam immer mehr und mehr Strahlen niedriger Apertur und es entsteht zuerst ein aus Hell- und Dunkelfeld gemischtes "Graufeld". Bei weiterem Einschwenken des Schalthebels werden dann die Dunkelfeldstrahlen überhaupt abgeblendet und es bleibt schliesslich nur ein reines Hellfeld übrig.

Der einfache Dunkelfeld-Kondensor Nr. 702.

Dieser Kondensor besitzt eine besondere Justiervorrichtung zur Einstellung der Oberfläche seiner Frontlinse in die Tischebene des Mikroskopes. Die Justierung erfolgt in folgender Weise: Man lüftet zuerst den die Kondensorfassung umgebenden Passring (auf den die richtige Objektträgerdicke graviert ist). Dann wird der Kondensor in die Klemmhülse des Mikroskopbeleuchtungsapparates eingeschoben und mit Hilfe der Einstellvorrichtung des Beleuchtungsapparates bis zum Anschlagen gehoben. Man prüft nun mit Hilfe eines Lineales, ob die Frontlinse des Kondensors über oder unter der Tischebene liegt. Je nachdem, ob die eine oder die andere Abweichung vorliegt, wird nun die Fassung in den Stützen hinein- bzw. aus ihm herausgeschraubt. Ist schliesslich die richtige Stellung erreicht, so wird die Fassung durch Anziehen des vorher gelüfteten Gegenringes fixiert.

Die Einstellung des Präparates.

Die Dunkelfeld-Kondensoren können nur als Immersions-Kondensoren verwendet werden, d.h. es muss zwischen ihrer Frontlinse und der Unterseite des Objektträgers mit Hilfe einer Immersionsflüssigkeit ein optischer Kontakt hergestellt sein.

Als Immersionsflüssigkeit kann man sowohl Cedernholzöl ($n_D = 1,515$) oder auch Wasser ($n_D = 1,333$) verwenden. Die klarsten und kontrastreichsten Bilder bei grösstmöglicher Lichtstärke erhält man bei Verwendung des Cedernholzöles. Vielfach findet man aber auch mit Wasser sein Auslangen, welches die Annehmlichkeit bietet, dass die Reinigung nach Gebrauch wesentlich einfacher und sauberer ist; dagegen muss man bei der Anwendung von Wasser peinlich genau darauf achten, dass nur Objektträger von genau 1 mm Dicke verwendet werden.

Zur Einstellung bringt man auf die Frontlinse des bis zum Anschlagen gehobenen Kondensors einen Tropfen des Immersionsmittels. Dann legt man das zu untersuchende Präparat auf den Objektstisch des Mikroskopes, sodass die Unterseite des Objektträgers in das Immersionsmittel taucht. Schliesslich schaut man dann ins Mikroskop und senkt den Kondensor mit Hilfe der Einstellvorrichtung des Mikroskop-Beleuchtungsapparates, bis die günstigste Beleuchtung erreicht ist.

Häufige Fehler bei der Dunkelfeld-Mikroskopie.

1. Die Einzelheiten erscheinen nur in einer Ringzone richtig beleuchtet, während die Mitte des Gesichtsfeldes dunkel ist.

Ursache : Die Präparatebene liegt über oder unter der Ebene des Leuchtfeldes des Kondensors.

Abhilfe : Wenn der Objektträger die richtige Dicke von 1,0 mm hat, so muss der Abstand der Frontlinse des Kondensors von der Unterseite des Objektträgers mit Hilfe der Einstellvorrichtung des Beleuchtungsapparates so lange geändert werden, bis das ganze Gesichtsfeld gleichmässig - d.h. ohne dunklen Fleck in der Mitte - erleuchtet erscheint. Im Falle der Objektträger zu dick oder zu dünn ist, muss dieser gewechselt werden. Wenn der Objektträger zu dünn ist, so kann man auch in der Weise Abhilfe schaffen, dass man anstelle von Wasser Cedernholzöl als Immersionsmittel verwendet.

2. Die hell leuchtenden Konturen der Präparatdetails sind nach einzelnen Richtungen auffallend stark verbreitert.

Ursache : Die Beleuchtung ist einseitig schräg.

Abhilfe : Die Beleuchtung wird durch entsprechendes Wenden des Mikroskopspiegels (ebene Seite zum Kondensor !) zentriert.

3. Das Bild ist stellenweise oder gänzlich wie mit einem hellen Schleier belegt.

Ursache : Entweder sind Objektträger oder Deckglas unrein oder das Material liegt im Präparat zu dick.

Abhilfe : Ein neues Präparat mit reinem Objektträger und reinem Deckglas und weniger Material anfertigen.

4. Bei Verwendung starker Objektive erscheint das ganze Bild verschleiert und die hellen Konturen sind auffällig breit.

Ursache : Das Deckglas hat eine unrichtige Dicke.

Abhilfe : Wenn das verwendete Objektiv eine Deckglaskorrektionsfassung hat, so wird diese so lange verstellt, bis das Bild klar und der Untergrund reinschwarz erscheint. Besitzt das Objektiv zwar keine Korrektionsfassung, dagegen das Mikroskop einen verschiebbaren Tubusauszug, so wird für diesen durch Verschieben nach Auf- oder Abwärts eine Stellung gesucht, bei welcher das Bild gut sichtbar ist. Fehlen beide Hilfsmittel, so muss ein neues Präparat mit einem Deckglas von richtiger Dicke angefertigt werden.

5. Das Gesichtsfeld sieht ganz leer, "öde" aus.

Ursache : Entweder hat man auf eine Luftblase im Präparat eingestellt oder der optische Kontakt durch das Immersionsmittel zwischen Kondensorfrontlinse und der Unterseite des Objektträgers ist gerissen.

Abhilfe : Man versucht zuerst, ob man durch Verschieben des Objektträgers auf dem Tisch des Mikroskopes eine andere, luftblasenfreie Stelle des Präparates ins Gesichtsfeld bekommen kann. Gelingt das nicht, so muss die Immersion erneuert werden, indem man etwas neue Immersionsflüssigkeit zwischen Kondensor und Objektträger bringt.

....oooo0000oooo....