

---

**GEBRAUCHSANWEISUNG  
ZUM MESSEN UND ZÄHLEN  
MIT DEM MIKROSKOP**

---

**REICHERT**

# GEBRAUCHSANWEISUNG ZUM MESSEN UND ZÄHLEN MIT DEM MIKROSKOP

---

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
Längenmessungen . . . . .	2
Rohe Messungen durch Schätzung . . . . .	2
Genauere Messungen mit Hilfe eines Mikrometers . . . . .	3
Bestimmung des Mikrometerwertes . . . . .	5
Herstellung runder Mikrometerwerte . . . . .	7
Genaueste Messungen mit Hilfe eines Schraubenmikrometerokulares . . . . .	8
Messungen nach Projektion, Zeichnung und Photographie . . . . .	10
Messungen krummer Linien . . . . .	11
Tiefenmessungen . . . . .	11
Bestimmung der Dicke des Deckglases an einem fertigen, geschlossenen Präparat . . . . .	13
Winkelmessungen . . . . .	14
Die Messung von Winkeln in der Präparatebene . . . . .	14
Die Messung von Winkeln außerhalb der Präparatebene . . . . .	14
Zählungen . . . . .	15
Zählungen an festen Objekten . . . . .	15
Rohe Zählungen durch Schätzung . . . . .	15
Genauere Zählungen mit Hilfe eines Mikrometers . . . . .	16
Zählungen in Flüssigkeiten . . . . .	17

---

OPTISCHE WERKE

**C. REICHERT**

WIEN, XVII.

legen des Okularmikrometers wird die Augenlinse wieder auf das Okular geschraubt. Um geringe Grade von Kurz- oder Weitsichtigkeit des Auges des Untersuchenden auszugleichen, schraubt man dann die Augenlinse des Okulares — während man dauernd durch dieselbe auf die Teilung des Okularmikrometers schaut — wieder etwas aus der Okularhülse heraus, und zwar so weit, bis die Teilung vollkommen scharf erscheint. In dieser Lage wird dann die Augenlinse dauernd belassen.

Wesentlich bequemer und zum Ausgleich höherer Grade von Kurz- oder Weitsichtigkeit unbedingt erforderlich sind die besonderen „**Meß-Okulare**“. Im Inneren derselben befindet sich ebenfalls ein Okularmikrometer, überdies ist aber die Augenlinse in einer Schneckenführung sehr bequem und weitgehend verschiebbar, so daß sie jedermann — ob kurz- oder weitsichtig — leicht auf die größte Schärfe der Teilung einstellen kann.

An sich liefert die Messung mit einem Okularmikrometer, bzw. einem Meß-Okular natürlich nur relative Werte, denn die an seiner Meßstrecke in ganzen und zehntel Millimetern erfolgende Ablesung beziehen sich ja gar nicht auf das Präparat selbst, sondern nur auf das vom Mikroskopobjektiv bereits vergrößerte und durch eine allfällige Feldlinse im Okular noch modifizierte reelle Projektionsbild in der Blendenebene des Okulars. Immerhin können solche relative Größenangaben unter Umständen — etwa zum Vergleich verschiedener Wandstärken verschiedener Zellarten in einem Gewebe — auch nützlich sein.

Zur Messung absoluter Längen muß der Wert eines Teiles<sup>1)</sup> der Meßstrecke des Mikrometers im Okular bezogen auf das Präparat selbst bekannt sein. Dieser sogenannte „**Mikrometerwert**“ ist für das verwendete Okular nicht konstant, sondern ist eine Funktion von Okular, Objektiv und mechanischer Tubuslänge. Ziffernmäßig gibt der Mikrometerwert an, wie viele Mikron (1 Mikron [ $\mu$ ] = 0,001 mm) im Präparat bei der angegebenen Optikkombination und Einhaltung der vorgeschriebenen mechanischen Tubuslänge einem Teil der Meßstrecke des Okularmikrometers entsprechen.

Die Messung einer Länge mit Hilfe des einer Liste entnommenen Mikrometerwertes erfolgt in folgender Weise: Man beobachtet, wie viele Teile der Meßstrecke des Okularmikrometers der zu messenden Strecke im Präparat entsprechen, multipliziert diese Zahl mit dem angegebenen Mikrometerwert und erhält so die gesuchte wahre Länge der zu messenden Strecke in Mikron.

---

<sup>1)</sup> Hier und im folgenden ist unter dem Wort „Teil“ immer der Abstand zwischen je zwei benachbarten Teilstrichen der Meßstrecke zu verstehen.

### Berechnung:

Scheinbare Länge der zu messenden Strecke, in Teilen der Meßstrecke des Okularmikrometers . . . . .  $I_{ok}$   
Mikrometerwert . . . . .  $M$

(3) Wirkliche Länge der zu messenden Strecke, in Mikron . . . .  $I_r = M \cdot I_{ok}$

### Beispiel:

Es wird mit einem normalen Durchlicht-Objektiv „10×“ bei der für dieses Objektiv vorgeschriebenen mechanischen Tubuslänge von 160 mm gearbeitet. Der Mikrometerwert dieses Objektivs (bezogen auf das Huygens-Meßokular „6×m.“) betrage 17. ( $M=17$ ). Die Länge einer Zelle deckt dabei 78 Teile der Meßstrecke des Okularmikrometers ( $I_{ok} = 78$ ). Die wirkliche Länge der Zelle beträgt dann nach (3)  $I_r = 17 \cdot 78 = 1326 \mu = 1,3 \text{ mm}$ .<sup>2)</sup>

### Bestimmung des Mikrometerwertes

Für sehr viele Messungen reicht die Genauigkeit der in unseren Gebrauchsanweisungen angegebenen Mikrometerwerten vollkommen aus. Für sehr genaue Messungen aber, insbesondere bei von der strengen Vorschrift abweichenden Tubuslängen, muß der Mikrometerwert gesondert bestimmt, der Mikrometer also geeicht werden. Man bedient sich dazu eines sogenannten „Objektmikrometers“. Für Arbeiten im Durchlicht besteht dieses aus einem auf einen normalen Objektträger gekitteten Gläschen, auf welchem sich eine photographisch reproduzierte Meßstrecke von 2 mm Länge, geteilt in  $1/100$  mm, befindet. Für Arbeiten im Auflicht dient für den gleichen Zweck ein Objektmikrometer aus Stahl, auf dessen spiegelnd polierte Oberfläche eine 1 mm lange, in  $1/100$  mm geteilte Meßstrecke graviert ist. Zur Bestimmung des Mikrometerwertes wird das Objektmikrometer wie ein gewöhnliches Präparat im Mikroskop eingestellt und dabei festgestellt, wie viele der  $1/100$  mm großen Teile seiner Meßstrecke einem der Teile der Meßstrecke des Okularmikrometers entsprechen. Die Arbeit wird am besten wie folgt durchgeführt: Nachdem das Objektmikrometer scharf eingestellt ist, dreht man das Okular im Mikroskoptubus derart, daß beide Meßstrecken, die des Objekt- und des Okularmikrometers, vollkommen parallel verlaufen; dann verschiebt man das Objektmikrometer so weit seitwärts, bis sich die beiden Meßstrecken mit ihren Teilungen eben noch übergreifen. Nun sucht man zwei Koinzidenzpunkte der beiden sich berührenden Meßstrecken, wo gerade je ein Teilstrich des Objektmikrometers und einer des Okularmikrometers zu-



<sup>2)</sup> Es empfiehlt sich, mikroskopische Messungen immer auf zwei bezifferte Stellen ab-, bzw. aufzurunden, um keine Genauigkeit vorzutauschen, die tatsächlich gar nicht vorhanden ist. So ist in obigem Beispiel an Stelle des sich durch die Multiplikation ergebenden vierstelligen Wertes von 1326  $\mu$  als Endresultat der auf zwei bezifferte Stellen abgerundete Wert von 1,3 mm angegeben.

sammenfallen. Da dies zumeist an mehreren Stellen der Fall ist, wählt man zur Bestimmung des Mikrometerwertes zweckmäßig zwei Koinzidenzstellen, welche ziemlich weit auseinander liegen, denn die Genauigkeit ist natürlich um so größer, je länger die beiden verglichenen Strecken sind; allerdings sollen die Koinzidenzpunkte auch nicht fast am Rand des Gesichtsfeldes liegen, da sonst durch eine allfällige Bildfeldwölbung Meßfehler entstehen können. Der gesuchte Mikrometerwert ist gleich dem Tausendfachen des Quotienten aus der Länge der Strecke zwischen den beiden Koinzidenzpunkten im Objektmikrometer gebrochen durch die Länge der gleichen Strecke im Okularmikrometer.

**Berechnung:**

Wirkliche Länge der zwischen den beiden Koinzidenzpunkten im Objektmikrometer liegenden Strecke, in Millimeter . . . . .  $l_{ob}$   
 Länge der zwischen den beiden Koinzidenzpunkten im Okularmikrometer liegenden Strecke, in Teilen der Meßstrecke des Okularmikrometers . . . . .  $l_{ok}$   
 (4) Mikrometerwert . . . . .  $M = 1000 \cdot \frac{l_{ob}}{l_{ok}}$

**Beispiel:**

Die Teilstriche 0,56 und 1,43 der Meßstrecke des Objektmikrometers fallen mit den Teilstrichen 27 und 73 der Meßstrecke des Okularmikrometers zusammen. Die Länge der im Objektmikrometer zwischen den Koinzidenzpunkten liegenden Strecke beträgt daher  $1,43 - 0,56 = 0,87$  mm ( $l_{ob} = 0,87$  mm); die Länge der gleichen Strecke im Okularmikrometer beträgt  $73 - 27 = 46$  Teile ( $l_{ok} = 46$  Teile). Der gesuchte Mikrometerwert für einen Teil der Meßstrecke des Okularmikrometers beträgt dann gemäß (4)  $M = 1000 \cdot \frac{0,87}{46} = 18,9$ .

Selbstverständlich gelten die so gewonnenen Mikrometerwerte nur für jene Objektive und Okulare, für welche sie bestimmt wurden und nur für die dabei gebrauchte mechanische Tubuslänge. Bezüglich des letzteren Punktes ist zu beachten, daß bei binokularen Mikroskopen, bei welchen die Einstellung für den individuellen Augenabstand durch seitliche Verschiebung der Okularstützen erfolgt, die Mikrometerwerte auch nur für jenen Augenabstand gelten, bei welchem sie ursprünglich bestimmt wurden.

**Tabellen der Werte der Meßstrecke eines Okularmikrometers.**

Die Mikrometerwerte stellen zumeist ganz unrunde und für das Kopfrechnen recht unbequeme Zahlen dar, wie z. B. 3,69, 17,7 u. dgl. Man kann sich die Arbeit mit diesen Zahlen wesentlich erleichtern, wenn man die verschiedenen an der Meßstrecke abgelesenen Längen die entsprechenden wahren Längen in Millimetern in eine Tabelle sammelt. Wie eine solche Tabelle zweckmäßig angeordnet sein soll, zeigt folgendes Beispiel:

**Tabelle der Mikrometerwerte:**

Trocken-Achromat-Objektiv „10 ×“.  
 Huygens-Meß-Okular „6 × m.“.  
 Mechanische Tubuslänge 160 mm.  
 Mikrometerwert 17,3.

An der Meßstrecke des Okularmikrometers abgelesene Länge:	Wirkliche Länge der Strecke in Millimeter:
0	0,0000
1	0,0173
2	0,0346
3	0,0519
4	0,0692
5	0,0865
6	0,104
.	.
.	.
.	.
96	1,66
97	1,68
98	1,70
99	1,71
100	1,73

**Herstellung runder Mikrometerwerte**

Liegt ein häufig gebrauchter Mikrometerwert nahe einer bequem verwendbaren, runden Zahl (wie etwa 9,76 nahe von 10,0), so kann man die Gesamtvergrößerung des Mikroskopes — vorausgesetzt, daß dieses einen verschiebbaren Tubusauszug besitzt — durch Änderung der mechanischen Tubuslänge so einstellen, daß man gerade einen runden Mikrometerwert erhält. Ist der für die vorgeschriebene mechanische Tubuslänge erhaltene Mikrometerwert etwas kleiner als die nächste runde Zahl, so ist zur Abrundung eine Verlängerung des Tubus, im gegenteiligen Falle eine Verkürzung notwendig. Die zur Erreichung eines runden Mikrometerwertes notwendige mechanische Tubuslänge kann annähernd (nicht genau!) errechnet werden, dagegen kann die dazu notwendige genaue mechanische Tubuslänge nur durch Probieren gefunden werden.

**Berechnung:**

Vorschriftmäßige mechanische Tubuslänge, in Millimeter . . . . .  $t_m$   
 Bei der vorschriftmäßigen mechanischen Tubuslänge erhaltener unrunder Mikrometerwert . . . . . M  
 Gewünschter runder Mikrometerwert . . . . .  $M_d$

(5) Zur Erreichung des runden Mikrometerwertes notwendige, von der Vorschrift abweichende mechanische Tubuslänge, in Millimeter, ungefähr  $t_{md} = \frac{T \cdot M_d}{M}$

### Beispiel:

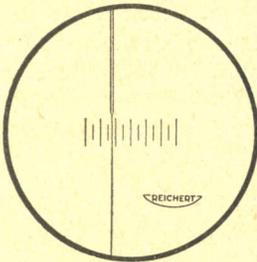
Bei einer vorschriftmäßigen mechanischen Tubuslänge von 160 mm ( $t_m = 160$  mm) wurde ein Mikrometerwert von 9,76 gefunden ( $M = 9,76$ ). Die zur Erreichung des nahe liegenden, bequemen, runden Mikrometerwertes von 10,0 ( $M_d = 10,0$ ) notwendige mechanische Tubuslänge beträgt gemäß (5) ungefähr (!!)

$$t_{md} = \frac{160 \cdot 10,0}{9,76} = 163,9 \text{ mm.}$$

Die zur Erreichung solcher abgerundeter Mikrometerwerte notwendigen Abweichungen von der vorschriftmäßigen mechanischen Tubuslänge bedingen wohl bei stärkeren Objektiven eine gewisse Verschlechterung des mikroskopischen Bildes. Diese kann aber, da es sich ja eben um Zählungen und nicht um die Betrachtung feinsten Details handelt, unbesorgt in Kauf genommen werden. Arbeitet man mit einem solchen künstlich gewonnenen runden Mikrometerwert, so muß selbstverständlich die dabei verwendete von der Vorschrift abweichende mechanische Tubuslänge genauestens vorgemerkt und immer wieder eingestellt werden.

### Genaueste Messungen mit Hilfe eines Schraubenmikrometerokulares

Für Messungen, bei welchen es — wie bei Forschungsarbeiten, in der Kriminalistik oder bei Gutachten — auf die höchste überhaupt erreichbare Genauigkeit ankommt, bedient man sich zweckmäßig eines sogenannten „**Schraubenmikrometerokulares**“. Die besondere Genauigkeit dieses Verfahrens wird durch zwei Eigenheiten desselben bedingt. Fürs erste wird nicht die Koinzidenz des Teilstriches einer Meßstrecke mit einem Grenzpunkt der zu messenden Strecke beobachtet, sondern es werden zwei bewegliche, knapp nebeneinander liegende Meßlinien so eingestellt, daß der zu messende Grenzpunkt genau zwischen sie zu liegen kommt. Während nämlich sonst der Grenzpunkt der zu messenden Strecke durch den betreffenden Teilstrich der Meßstrecke des Okularmikrometers, der immerhin eine meßbare Breite besitzt, verdeckt wird und so nicht mit größtmöglicher Schärfe beobachtet werden kann, liegt hier der Grenzpunkt im freien Raum zwischen zwei Meßlinien, wozu noch kommt, daß Schätzungen bezüglich der Lage eines Punktes zwischen zwei knapp nebeneinander liegenden Linien mit besonderer Genauigkeit gelingen. Der andere Vorteil ist der, daß die Ablesung an einer sehr großen Meßtrommel erfolgt, wodurch ein sehr rasches und genaues Messen ermöglicht wird.



Das Schraubenmikrometerokular ist im wesentlichen ein normales Meß-Okular mit verstellbarer Augenlinse. In seinem Gesichtsfeld befindet sich eine 6 mm lange, in  $\frac{1}{2}$  mm geteilte Meßstrecke. Über diese feste Teilung

gleitet eine Meßlinie, welche in etwas mehr als der Hälfte des Gesichtsfeldes als einfache Linie, im Rest als enge Doppellinie ausgeführt ist. Die Bewegung dieser Meßlinie erfolgt mit Hilfe einer seitlich angebrachten Mikrometerschraube, deren Stellung an einer Teiltrommel abgelesen wird. Die Teiltrommel,

die an einem festen Indexstrich vorübergeleitet, ist in 50 Hauptteile (beziffert 0, 10, 20, 30, 40) geteilt, zwischen denen sich noch je ein kurzer Zwischenstrich zur Schätzung der Unterteilungen befindet. Eine ganze Umdrehung der Teiltrommel entspricht dem Abstand zwischen je zwei Teilstrichen der festen Teilung (= 0,5 mm). Der Abstand zwischen je zwei größeren Teilstrichen der Teiltrommel entspricht demnach einem  $\frac{1}{50}$  des Abstandes zwischen zwei Teilstrichen der festen Teilung (0,01 mm).

Die Bestimmung des Mikrometerwertes eines Schraubenmikrometerokulares geschieht in folgender Weise: Man setzt das Okular in den Tubusstützen des Mikroskopes, und zwar so, daß seine Teiltrommel nach rechts zu stehen kommt, in welcher Lage das Okular mit Hilfe seiner kleinen Klemmschraube am Tubusstützen des Mikroskopes befestigt wird. Nun bringt man das Objektmikrometer auf den Objektisch des Mikroskopes, dreht es derartig, daß seine Meßstrecke von links nach rechts verlaufend parallel zu jener im Okular zu stehen kommt und verschiebt schließlich das Objektmikrometer noch so, daß seine Teilstriche in die obere Hälfte des Gesichtsfeldes zu liegen kommen, wo die bewegliche Meßlinie des Okulares verdoppelt ist. Als Meßpunkte im Objektmikrometer wählt man jene zwei Teilstriche desselben, welche links als erster, bzw. rechts als letzter innerhalb der festen Teilung des Okulares liegen. Für den ersten, linken dieser Meßpunkte stellt man nun die Doppellinie durch Drehen der Mikrometerschraube so ein, daß der betreffende Teilstrich des Objektmikrometers genau in der Mitte des Abstandes der beiden verdoppelten Meßlinien voneinander zu liegen kommt, wonach man an der Teiltrommel abliest. Dann bewegt man die Meßlinie über die Teilung nach rechts weiter und stellt in der gleichen Weise auf den zweiten, rechten Meßpunkt ein. Der gesuchte Mikrometerwert ist gleich dem 1000fachen des Quotienten aus der Länge der Strecke zwischen den beiden Meßpunkten im Objektmikrometer gebrochen durch die Länge der gleichen Strecke im Okularmikrometer.

**Berechnung:**

Wirkliche Länge der zwischen den beiden Meßpunkten im Objektmikrometer liegenden Strecke, in Millimeter . . . . .	$I_{ob}$
Anzahl der zwischen den beiden Meßpunkten liegenden ganzen Teilen der festen Meßstrecke des Okulares . . . . .	$A_0$
Erster für den linken Meßpunkt an der Meßtrommel abgelesener Wert . . . . .	$A_1$
Zweiter für den rechten Meßpunkt an der Meßtrommel abgelesener Wert . . . . .	$A_2$
(6) Mikrometerwert . . . . .	$M = 1000 \cdot \frac{I_{ob}}{(50 - A_1) + 50 \cdot A_0 + A_2}$

**Beispiel:**

Die zu Messungen verwendete Strecke im Objektmikrometer reichte von deren Teilstrich 1,40 bis 1,75, ihre Länge beträgt also  $1,75 - 1,40 = 0,35$  mm ( $I_{ob} = 0,35$  mm). Die Meßpunkte lagen in der festen Meßstrecke des Okularmikrometers innerhalb des links 1. und des rechts letzten, 12. Teiles, es liegen also zwischen den beiden Meßpunkten 10 Teile der festen Teilung ( $A_0 = 10$ ). Die erste Ablesung im ersten Teil links betrug an der Meßtrommel 12,5, die zweite im letzten 12. Teil rechts betrug

35,0 ( $A_1 = 12,5$ ,  $A_2 = 35,0$ ). Der gesuchte Mikrometerwert für einen ganzen Teil der Teilung der Meßtrommel beträgt dann nach

$$(6) M = 1000 \cdot \frac{0,35}{(50 - 12,5) + 10 \cdot 50 + 35,0} = 1000 \cdot \frac{0,35}{572,5} = 0,611.$$

Die Ausführung und Auswertung von Messungen erfolgt vollkommen analog der Bestimmung des Mikrometerwertes.

**Berechnung:**

Anzahl der zwischen den beiden Meßpunkten liegenden ganzen Teile der festen Meßstrecke des Okulares . . . . .	$A_0$
Erster an der Meßtrommel abgelesener Wert . . . . .	$A_1$
Zweiter an der Meßtrommel abgelesener Wert . . . . .	$A_2$
Mikrometerwert . . . . .	$M$

(7) Wirkliche Länge der zu messenden Strecke in Mikron

$$l_r = M \cdot ([50 - A_1] + 50 \cdot A_0 + A_2).$$

**Beispiel:**

Es wird mit einem normalen Durchlicht-Objektiv „45 X“ bei einer für dieses Objektiv vorgeschriebenen mechanischen Tubuslänge von 160 mm gearbeitet. Der Mikrometerwert dieses Objektivs (bezogen auf das Schraubenmikrometerokular) beträgt 0,343 ( $M = 0,343$ ). Die eine zu messende Diatomee begrenzenden Meßpunkte liegen innerhalb des 3. und des 10. Teiles der festen Meßstrecke des Okulares; die Anzahl der zwischen diesen Meßpunkten liegenden ganzen Teile der festen Meßstrecke des Okulares beträgt daher 6 ( $A_0 = 6$ ). Der erste, links liegende Meßpunkt entspricht einer Ablesung an der Meßtrommel von 18,0, der zweite, rechts liegende einer solchen von 13,5 ( $A_1 = 18,0$ ,  $A_2 = 13,5$ ). Die wirkliche Länge der Diatomee beträgt dann nach (7)

$$l_r = 0,343 ([50 - 18,0] + 50 \cdot 6 + 13,5) = 118,5 \mu = 0,12 \text{ mm.}$$

**Messungen nach Projektion, Zeichnung und Photographie**

Sehr bequem und rasch lassen sich Messungen — besonders wenn es sich um Serienuntersuchungen handelt — am Mikroprojektionsbild ausführen. Dabei ist es allerdings sehr wichtig, daß die verwendete Schirmfläche genau senkrecht zur optischen Achse des Mikroskopes ausgerichtet ist, da andernfalls der Abbildungsmaßstab nach verschiedenen Richtungen hin ungleich ist. Zur Kontrolle, ob die Schirmfläche vollkommen richtig steht, mißt man den Durchmesser des kreisförmigen Projektionsbildes nach mindestens drei verschiedenen Durchmessern; wenn alle gemessenen Durchmesser gleich lang sind, so ist das Bild der kreisförmigen Okularblende ebenfalls ein Kreis und die Schirmfläche steht senkrecht auf der optischen Achse des Mikroskopes. Zur Messung im Projektionsbild projiziert man zuerst einen Objektmikrometer und zeichnet dessen einzelne Teilstriche (jeder Teil = 0,01 mm) auf ein Papierband. Dieses Band dient dann als Maßstab bei der Projektion des zu messenden Präparates, jeder gemessene Teil entspricht unmittelbar einem  $\frac{1}{100}$  mm.

Auf Mikrozeichnungen und Mikrophotographien, deren Abbildungsmaßstab natürlich bekannt sein muß, mißt man mit einem guten, prismatischen Lineal und dividiert die in Millimetern gefundenen Werte durch die Vergrößerung der Zeichnung oder Photographie.

### **Messungen krummer Linien**

Krumme, beliebig gestaltete Linien mißt man an Hand einer Mikrozeichnung oder Mikrophotographie in bekanntem Abbildungsmaßstab mit Hilfe eines sogenannten „Meßrädchens“, wie solche zur Messung von Straßen und Eisenbahnlinien auf Landkarten verwendet werden. Die dazu notwendige Eichung des Laufrädchens erfolgt mit einer im gleichen Maßstab angefertigten Mikrozeichnung oder Mikrophotographie eines Objektmikrometers.

### **Tiefenmessungen**

Tiefenmessungen, d. h. Messungen in einer Richtung parallel zur optischen Achse des Mikroskopes, werden in der Weise ausgeführt, daß man mit Hilfe des Feintriebes — der „Mikrometerschraube“ — des Mikroskopes nacheinander auf den oberen und den unteren Grenzpunkt der zu messenden Strecke einstellt und die dabei vorgenommene Verschiebung des Mikroskoptubus an der Meßtrommel der Mikrometerschraube abliest. Bei solchen Messungen müssen zwei Fehlerquellen ausgeschaltet werden — die unbewußte Akkomodation des Auges des Mikroskopierenden und die Bildfeldwölbung.

Zur möglichsten Ausschaltung einer bei den zwei Messungen verschiedenen Akkomodation des Auges führt man beide Messungen einheitlich in der Weise aus, daß man zuerst den Mikroskoptubus über die beste Scharfeinstellung hinaus vom Präparat entfernt, ihn dann langsam senkt und die Messung in dem Moment ausführt, wenn das mikroskopische Bild eben scharf erscheint. Auch dadurch kann man sich gegen Fehler sichern, daß man ein Mikrometer- oder Fadenkreuz-Okular verwendet, dessen Augenlinse man vorher genau auf höchstmögliche Schärfe der Teilung, bzw. des Fadenkreuzes eingestellt hat. Die Kontrolle beruht dann darauf, daß man beobachtet, ob bei leichter Seitwärtsbewegung des Auges keine Verschiebung des mikroskopischen Bildes gegenüber der Teilung oder dem Fadenkreuz eintritt. Überdies führt man Tiefenmessungen stets mit möglichst starken Objektiven und bei starker Vergrößerung aus, da so eine nur sehr geringe Schärfentiefe resultiert und man daher nicht so leicht durch unbewußte Änderung des Akkomodationszustandes des Auges auf verschieden tiefe Schichte einstellen kann.

Um Verfälschungen der Meßresultate durch eine allfällige Bildfeldwölbung zu verhindern, wählt man entweder zwei ungefähr an derselben Stelle des Gesichtsfeldes übereinander liegende Meßpunkte oder aber — wenn das nicht möglich ist — verschiebt man zwischen den beiden Messungen das Präparat mit Hilfe eines Kreuztisches derartig, daß beide Meßpunkte ungefähr an der gleichen Stelle des Gesichtsfeldes gemessen werden. Grundsätzlich wiederholt man jede mikroskopische Tiefenmessung mehrfach und bestimmt nach Ausscheidung offener Fehlmessungen den Mittelwert.

Die Einteilung der Meßtrommel der verschiedenen Reichert-Mikroskope ist die folgende:

**Mikroskop „RD“:** Steighöhe für eine Umdrehung der Meßtrommel = 0,2 mm; Meßtrommel mit 50 Teilen zu je 0,004 mm.

**Mikroskope „RC“ und „CSM“:** Steighöhe für eine Umdrehung der Meßtrommel = 0,2 mm; Meßtrommel mit 100 Teilen zu je 0,002 mm.

**Universal-Mikroskop „Z“, Universal-Kamera-Mikroskop „Me F“ und Großes Metall-Mikroskop „Me A“:** Steighöhe für eine Umdrehung der Meßtrommel = 0,1 mm; Meßtrommel mit 100 Teilen zu je 0,001 mm.

Wenn sich zwischen den beiden Meßpunkten im Präparat ein Medium von gleichem Brechungsindex befindet wie ihn das zwischen dem Präparat und der Frontlinse des Objektivs befindliche Medium aufweist, so ergibt die Differenz der beiden Ablesungen unmittelbar die tatsächliche Tiefenerstreckung.

**Berechnung:**

Wert eines Teiles der Meßtrommel, in Millimeter . . . . . M  
 Erste, obere Ablesung an der Meßtrommel . . . . . A<sub>1</sub>  
 Zweite, untere Ablesung an der Meßtrommel . . . . . A<sub>2</sub>  
 (8) Wirkliche Tiefenerstreckung des zu messenden Abstandes, in Millimeter  
 $T = M \cdot (A_2 - A_1)$ .

**Beispiel:**

Es wird mit einem „RC“-Mikroskop gearbeitet, dessen Meßtrommel 100 Teile besitzt, von denen jeder 0,002 mm entspricht ( $M = 0,002$ ). Die erste, obere Ablesung zeigt an der Meßtrommel 4, die zweite erfolgt nach einer ganzen Umdrehung der Meßtrommel bei 34 ( $A_1 = 4, A_2 = 100 + 34 = 134$ ). Da es sich um ein Trockenpräparat mit dem Einbettungsmittel Luft handelt und auch ein Trockenobjektiv verwendet wird, kommt Formel (8) zur Anwendung. Die wirkliche Tiefenerstreckung des zu messenden Abstandes beträgt dann nach (8)  $T = 0,002 \cdot (134 - 4) = 0,26$  mm.

Anders verhält es sich, wenn das Einbettungsmittel des Präparates einen anderen Brechungsindex besitzt, als das zwischen Präparat und Frontlinse des Objektivs befindliche Medium, da in diesem Falle ein Korrektionsfaktor anzubringen ist. Besitzt nämlich das Einbettungsmittel den Brechungsindex  $n_b$ , das zwischen Präparat und Objektiv befindliche Medium aber den Brechungsindex  $n_g$ , so muß das aus den Ablesungen an der Meßtrommel gefundene Resultat noch mit dem Faktor

$\frac{n_b}{n_g}$  multipliziert werden. Hätte etwa das dem vorigen Beispiel zugrunde gelegte

Präparat Wasser als Einbettungsmittel gehabt ( $n_b = 1,333$ ) und hätte die Untersuchung mit einem Zedernholzöl-Immersionsobjektiv ( $n_g = 1,515$ ) stattgefunden, so müßte das aus den bloßen Ablesungen an der Meßtrommel sich ergebende Resultat

noch mit dem Faktor  $\frac{1,333}{1,515} = 0,880$  multipliziert werden und es ergäbe sich das Resultat  $0,26 \cdot 0,880 = 0,23$  anstatt des in diesem Falle falschen Wertes von 0,26 mm.

Arbeitet man mit einem Trockenobjektiv, so entfällt der Divisor  $n_D'$  des Faktors, da der Brechungsindex der Luft 1,000 ist. Der Brechungsindex des Deckglases tritt bei Tiefenmessungen nicht in Erscheinung, da sich seine Wirkung auf beide Meßpunkte des unter dem Deckglas befindlichen Präparates gleich stark auswirkt.

### Bestimmung der Dicke des Deckglases an einem fertigen, geschlossenen Präparat

Nach der gleichen Methode wie jede Tiefenmessung am Mikroskop ausgeführt wird, kann auch die Dicke des Deckglases eines bereits fertig verschlossenen Präparates gemessen werden. Man stellt dazu zuerst auf die Oberfläche des Deckglases ein, eine Arbeit, die man sich allfällig dadurch erleichtern kann, daß man die Oberfläche des Deckglases durch einen kleinen Tuschpunkt markiert. Dann wird auf den obersten Punkt des Präparates eingestellt, der ja mit hinreichender Annäherung als die Unterseite des Deckglases betrachtet werden kann.

#### Berechnung:

Wert eines Teiles der Meßtrommel, in Millimeter . . . . .	M
Erste, obere Ablesung an der Meßtrommel . . . . .	$A_1$
Zweite, untere Ablesung an der Meßtrommel . . . . .	$A_2$
Brechungsindex des Glases des Deckglases . . . . .	$n_D'$
Brechungsindex des Mediums zwischen Deckglas und Objektiv . . . . .	$n_D''$
(9) Wirkliche Dicke des Deckglases, in Millimeter . . . . .	$d = \frac{n_D'}{n_D''} \cdot M \cdot (A_2 - A_1)$

#### Beispiel:

Es wird mit einem „RC“-Mikroskop gearbeitet, dessen Meßtrommel 100 Teile besitzt, von denen jeder 0,002 mm entspricht ( $M = 0,002$  mm). Das verwendete Objektiv ist ein Trocken-Objektiv ( $n_D' = 1,000$ ), der Brechungsindex des Deckglasglases kann mit dem abgerundeten Wert 1,5 angenommen werden ( $n_D' = 1,5$ ). Bei der ersten, oberen Ablesung zeigt die Meßtrommel 17, die zweite erfolgt nach einer ganzen Umdrehung der Meßtrommel bei 4 ( $A_1 = 17, A_2 = 100 + 4 = 104$ ). Die wirkliche Dicke des Deckglases berechnet sich dann nach (9) zu

$$d = \frac{1,5}{1,000} \cdot 0,002 \cdot (104 - 17) = 0,26 \text{ mm.}$$

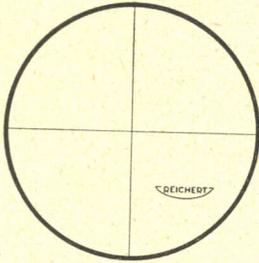
Erfolgt die Messung mit einem Zedernholzöl-Immersionsobjektiv, so kann die Differenz der Ablesungen der Meßtrommel unmittelbar als Deckglasdicke angenommen werden, da sich in diesem Falle der Zähler des Faktors, der Brechungsindex des Glases 1,5, mit hinreichender Genauigkeit gegen den Nenner, den Brechungsindex des Zedernholzöles, 1,515 kürzen läßt.

# Winkelmessungen

## Die Messung von Winkeln in der Präparatebene

Die Messung von Winkeln, welche in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse des Mikroskopes liegen, kann in zweierlei Weise erfolgen. Entweder man bedient sich dazu eines sogenannten „**Goniometer-Okulares**“. Es ist das ein Fadenkreuzokular mit drehbarem Fadenkreuz, dessen Stellung an einer das Okular umgebenden Kreisteilung abgelesen werden kann. Zur Messung bringt man die Spitze des zu messenden Winkels in den Schnittpunkt des Fadenkreuzes, dreht dieses so, daß einer seiner Fäden mit dem einen Schenkel des Winkels zusammenfällt und liest an der Kreisteilung ab. Dann dreht man das Fadenkreuz so

weit, bis der andere Schenkel des Winkels mit dem früher verwendeten Faden des Fadenkreuzokulares zusammenfällt und liest neuerlich ab. Die Differenz der beiden Ablesungen ergibt die Winkelgröße. In Ermanglung eines Goniometer-Okulares kann man die Winkelmessung auch mit Hilfe eines gewöhnlichen „**Fadenkreuzokulares**“ und eines „**Drehtisches mit Kreiseinteilung**“ ausführen; der Vorgang ist der gleiche, nur erfolgt die Einstellung der beiden Winkel durch Drehen des Tisches, während das Fadenkreuzokular unbewegt bleibt. Bei dieser zweiten Methode ist nur dafür Sorge zu tragen, daß der Drehtisch und die optische Achse des Mikro-



skopes sorgfältig zueinander zentriert sind, damit beim Drehen des Tisches nicht die Spitze des Winkels vom Schnittpunkt des Fadenkreuzes abweicht.

## Die Messung von Winkeln außerhalb der Präparatebene

Winkel, welche in beliebiger Neigung zur optischen Achse des Mikroskopes liegen, können durch eine Kombination von Längen- und Tiefenmessungen, deren Resultate dann trigonometrisch ausgewertet werden, gemessen werden. Eine ausführliche Darstellung dieses ziemlich umständlichen Vorganges, der überdies wohl in der Praxis nur sehr selten vorkommen dürfte, fällt außerhalb des Rahmens dieser Anleitung.

# Zählungen

## Zählungen an festen Objekten

### Rohe Zählungen durch Schätzung

Um sich ein ungefähres Bild davon zu machen, wie viele irgend welcher Einzelheiten (etwa der Spaltöffnungen auf einem Blatt) auf die Flächeneinheit, das Quadratmillimeter, entfallen, genügt, wenn es sich dabei um eine nur geringe Zahl von Zählpunkten im Gesichtsfeld handelt, oft eine Schätzung. Man berechnet sich dazu den wirklichen Durchmesser des im Mikroskop übersehenen Gesichtsfeldes, indem man die Sehfeldzahl des verwendeten Okulares durch die Eigenvergrößerung des Objektivs dividiert; aus dem Durchmesser berechnet man dann weiter den Flächeninhalt des mikroskopischen Gesichtsfeldes. Zählt man nun die im Gesichtsfeld sichtbaren Zählpunkte, so kann man leicht auf die Flächeneinheit, das Quadratmillimeter, umrechnen.

#### Berechnung:

Sehfeldzahl des verwendeten Okulares . . . . . S

Eigenvergrößerung des verwendeten Objektivs . . . . .  $\beta_1$

Wirklicher Durchmesser des mikroskopischen Gesichtsfeldes, in Millimeter, ungefähr

$$\varnothing_r = \frac{S}{\beta_1}$$

Wirklicher Flächeninhalt des mikroskopischen Gesichtsfeldes, in Quadratmillimeter,

$$\text{ungefähr } F_r = \frac{\pi}{4} \cdot \varnothing_r^2 = 0,785 \ 40 \cdot \varnothing_r^2$$

Gesamtzahl der im Gesichtsfeld ausgezählten Zählpunkte . . . . . P

(10) Wirkliche Anzahl der Zählpunkte in einem Quadratmillimeter (Schätzungswert)

$$Z = \frac{P}{F_r}$$

#### Beispiel:

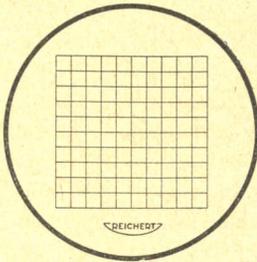
Es wird mit einem Objektiv mit 10facher Eigenvergrößerung ( $\beta_1 = 10$ ) und einem Okular mit der Sehfeldzahl 17 ( $S = 17$ ) gearbeitet; der Durchmesser des Gesichtsfeldes beträgt demnach  $\varnothing = \frac{17}{10} = 1,7$  mm und sein Flächeninhalt  $F_r = 2,270$  mm<sup>2</sup>. Im Gesichtsfeld wurden insgesamt 38 Spaltöffnungen gezählt ( $P = 38$ ). Die wirkliche Zahl der Zählpunkte im Quadratmillimeter beträgt dann nach (10)

$$Z = \frac{38}{2,270} = 16,74.$$

Diese Zählmethode läßt sich noch verfeinern, wenn man den Flächeninhalt des Gesichtsfeldes nicht aus Sehfeldzahl und Eigenvergrößerung errechnet, sondern exakt durch eine Messung des Gesichtsfelddurchmessers mit Hilfe eines Objektmikrometers bestimmt; die Berechnung bleibt im übrigen die gleiche.

## Genauere Zählungen mit Hilfe eines Mikrometers

Sind im Gesichtsfeld viele Zählpunkte vorhanden, so muß dieses zur Verhinderung von Zählfeldern in Felder unterteilt werden. Man verwendet dazu ein sogenanntes „**Netz-Okularmikrometer**“, das entweder wie ein gewöhnliches Mikrometer in ein normales Okular eingelegt wird (vgl. Seite 3) oder sich aber in einem besonderen Zähl-Okular mit verstellbarer Augenlinse befindet (vgl. Seite 4). Die Netzmikrometer zeigen ein quadratisches Feld von  $10 \times 10$  mm Kantenlänge, welches entweder in 100 Zählfelder von  $\frac{1}{1}$  mm oder in 400 Zählfelder von  $\frac{1}{2}$  mm Kantenlänge geteilt ist.



Vor Gebrauch eines Netzmikrometers muß dessen wirklicher Wert für die verwendete Objektiv-Okular-Kombination bestimmt werden. Man bringt dazu einen Objektmikrometer unter das Mikroskop, stellt unter Verwendung

des mit dem Netzmikrometer ausgestatteten Okulares auf dessen Teilung scharf ein. Dann dreht man das Okular im Tubus derartig, daß eine Kante seines Teilungsnetzes parallel zur Meßstrecke des Objektmikrometers verläuft und mißt die Kantenlänge des Teilungsnetzes nach dem Objektmikrometer in Millimetern aus. Daraus erhält man durch Quadrieren den Wert des ganzen Netzes und durch darauffolgende Division durch die Zahl der Zählfelder schließlich den Wert der einzelnen Felder.

### Berechnung:

Wirkliche Länge jener im Objektmikrometer liegenden Strecke, welche gleich lang erscheint wie die Kante des Zählnetzes, in Millimeter . . . . .  $l_{ob}$   
 Zahl der Zählfelder im Zählnetz . . . . .  $F$

(11 a) Wert des Zählnetzes, in Quadratmillimeter . . . . .  $W_N = l_{ob}^2$

(11 b) Wert eines Zählfeldes, in Quadratmillimeter . . . . .  $W_F = \frac{l_{ob}^2}{F}$

### Beispiel:

Die Teilstriche 1,57 und 0,37 des Objektmikrometers fallen mit den Endpunkten der Kante des Zählnetzes zusammen, die im Objektmikrometer liegende Strecke mißt daher  $1,57 - 0,37 = 1,20$  mm. ( $l_{ob} = 1,20$  mm). Daraus berechnet sich der Wert des Zählnetzes nach (11 a) zu  $W_N = 1,20^2 = 1,44$  mm<sup>2</sup>. Ist gleichzeitig das Zählnetz in 100 Felder geteilt, so berechnet sich deren Wert nach (11 b) zu

$$W_F = \frac{1,44}{100} = 0,0144 \text{ mm}^2.$$

Wenn der Wert der einzelnen Zählfelder in Quadratmillimetern bestimmt ist, kann die Zählung ausgeführt werden. Grundsätzlich sollen alle Zählungen in einer möglichst großen Zahl von Feldern und an mehreren Stellen des Präparates ausgeführt werden. Beim Zählen ist ein besonderes Augenmerk auf solche Zählpunkte zu richten, welche auf einer Trennungslinie des Netzes liegen, so daß sie eigentlich bei zwei verschiedenen Feldern mitgezählt werden könnten. Um daraus resultierende Fehler zu vermeiden, gewöhne

man sich, auf den Trennungslinien liegende Zählpunkte in ganz bestimmter Weise aufzunehmen, indem man zum Beispiel für sich festlegt, daß jeder Zählpunkt, der eine Trennungslinie auch nur berührt, immer dem rechts, bzw. unten gelegenen Felde zugeordnet wird.

### Berechnung:

Anzahl der Zählfelder, in welchen ausgezählt wurde . . . . . F  
 Gesamtzahl der insgesamt ausgezählten Zählpunkte . . . . . P  
 Wert eines Zählfeldes, in Quadratmillimeter . . . . .  $W_F$

(12) Wirkliche Anzahl der Zählpunkte in einem Quadratmillimeter  $Z = \frac{P}{W_F \cdot F}$

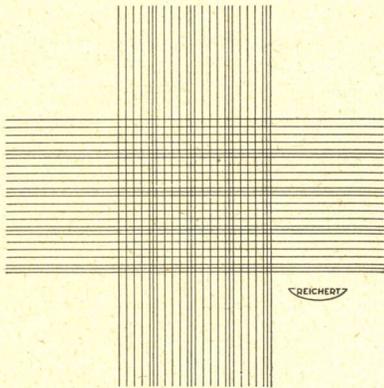
### Zählungen in Flüssigkeiten

Wenn in einer Flüssigkeit suspendierte Teilchen gezählt werden sollen, so muß die Zählung in einem kleinen, aber genau bestimmten Flüssigkeitsvolumen erfolgen. Diese Arbeiten werden durchwegs in sogenannten „Zählkammern“ ausgeführt. Auf der Mitte der Oberfläche eines Objektträgers ist ein aus sich rechtwinklig kreuzenden Linien gebildetes Gitter, das „Zählnetz“, graviert; die Kantenlängen der von den Linien des Netzes gebildeten Felder sowie der Flächeninhalt dieser Felder sind ihrer Größe nach genau bestimmt und deren Betrag auf den Objektträger graviert. An die das Netz tragende Fläche schließt sich eine sie ringförmig umgebende oder zwei sie seitlich begrenzende Rillen, die „Überfließrinne“. An diese Rille schließt sich dann noch eine ringförmige oder zwei stegförmige erhöhte Flächen, die „Auflageflächen“, deren Ebene um eine genau bekannte Größe, die „Kammertiefe“, höher liegt als die Ebene der das Zählnetz tragenden Fläche.

Zur Vorbereitung der Zählung wird ein Tröpfchen der Flüssigkeit, in welcher gezählt werden soll, auf die Stelle des Objektträgers, wo sich das Zählnetz befindet, gebracht. Legt man dann ein Deckglas auf, so ruht dieses nicht unmittelbar auf der das Zählnetz tragenden Fläche, sondern auf den höherliegenden Auflageflächen. Dadurch bildet sich über dem Zählnetz eine Flüssigkeitsschicht, deren Dicke durch die Überhöhung der Auflagen gegenüber der Netzfläche, die Kammertiefe, bestimmt ist, denn das Deckglas wird durch Adhäsion fest auf die Auflageflächen gedrückt und die überschüssige Flüssigkeit fließt in die Überfließrinne ab.

Zur Zählung bringt man die mit dem Untersuchungsmaterial beschickte Zählkammer unter das Mikroskop und stellt auf das gravierte Zählnetz ein. Man sieht nun sowohl dieses Netz als auch die über der Teilung suspendiert schwebenden und ebenso die auf ihr abgesetzten Teilchen. Ihre Zahl wird in einer Anzahl der von den Linien des Zählnetzes gebildeten Feldern ausgezählt. Und da sich über jedem der Felder ein genau bekanntes Flüssigkeitsvolumen befindet (dessen Größe durch das Produkt aus dem Flächeninhalt des einzelnen Feldes mal der Kammertiefe gegeben ist), kann leicht die Anzahl der zu zählenden Körperchen für die Volumseinheit, das Kubikmillimeter, berechnet werden.

Während für die Zählung der roten und weißen Blutkörperchen eine Anzahl verschiedener Zählnetze in Gebrauch sind, verwendet man für andere Zählungen



— Bakterien, Staubkörner, Hefe usw. — fast ausschließlich das „Zählnetz nach Thoma“. Dieses deckt eine Fläche von  $1 \text{ mm}^2$ , welche durch Linien in 400 Felder mit einer Kantenlänge von  $\frac{1}{20} \text{ mm}$  ( $= 0,05 \text{ mm}$ ), bzw. einem Flächeninhalt von  $\frac{1}{400} \text{ mm}^2$  ( $= 0,0025 \text{ mm}^2$ ) geteilt ist. Je 16 solcher Zählfelder sind durch in die fünfte Felderreihe gezogene Zusatzlinien in einer Gruppe zusammengefaßt, welche eine Fläche von  $\frac{1}{25} \text{ mm}^2$  ( $= 0,04 \text{ mm}^2$ ) umfaßt.

Bezüglich der Konstruktion unterscheidet man „Gekittete“ und „Ungekittete Zählkammern“.

Bei den gekitteten Kammern ist das Netz auf ein kleines Glasscheibchen graviert, welches auf die Mitte eines Objektträgers gekittet ist; ebenso werden die Auflageflächen von Glasplättchen gebildet, welche aufgekittet sind. Bei den gekitteten Kammern unterscheidet man wieder „Geschlossene“ und „Offene Zählkammern“. Bei ersteren besteht die Auflagefläche aus einem Glasring, welcher das das Zählnetz tragende Plättchen umschließt, bei den offenen gekitteten Kammern dagegen sind zwei Glasstreifen als Auflageflächen links und rechts von der Zählfläche aufgekittet. Die gekitteten Kammern werden nur als tiefe Kammern (vgl. im folgenden) mit einer Tiefe von  $0,1 \text{ mm}$  ausgeführt. Die gekitteten Kammern sind billiger als die ungekitteten, dagegen dürfen keine die Kittung angreifende ätzende (sauere oder alkalische) Flüssigkeiten gebraucht werden und sie sind schwerer zu reinigen als die ungekitteten Kammern.

Bei den ungekitteten Kammern werden die Zähl- und Auflageflächen durch Fräsen von vier Nuten aus dem vollen Glas eines besonders dicken Objektträgers hergestellt. Die zwei inneren dieser Nuten — die alle quer zum Objektträger verlaufen — schließen miteinander die das Zählnetz tragende Fläche ein, während sie mit den beiden äußeren Nuten die als Auflageflächen dienende Stege bilden. Die ungekitteten Kammern werden als tiefe und seichte Kammern ausgeführt (vgl. im folgenden). Die ungekitteten Kammern sind teurer als die gekitteten, sie sind aber vollkommen unempfindlich gegen die eingebrachte Flüssigkeit und sehr leicht zu reinigen. Die Kammertiefe, d. h. der Höhenunterschied zwischen der das Zählnetz tragenden Fläche und den Auflageflächen wird je nach dem auszählenden Material verschieden groß gewählt und man unterscheidet „Tiefe Kammern“ mit einer Kammertiefe von  $0,1 \text{ mm}$  und „Seichte Kammern“ mit einer Tiefe von  $0,01 \text{ mm}$ .

Zur richtigen Zählung in einer Kammer ist es unbedingt erforderlich, daß man mit der verwendeten Mikroskop-Optik die ganze Tiefe der Kammer gleichzeitig

und wenigstens einigermaßen scharf erfassen kann. Wäre das nicht der Fall, so könnte es geschehen, daß man zwar auf das Netz scharf eingestellt hat und die auf ihm liegenden Teilchen sehen und zählen kann, während gleichzeitig weitere Teilchen in höheren Schichten schweben könnten und sich, dort nicht sichtbar, der Zählung entziehen würden, wodurch man falsche, zu niedrige Resultate erhielte. Tiefe Kammern können daher nur für die Zählung von Teilchen verwendet werden, welche noch ohne Schwierigkeiten mit dem Objektiv „45 X“ gesehen werden können. Dieses Objektiv ist nämlich das stärkste, mit welchem die ganze Schichtdicke von 0,1 mm der tiefen Kammer erfaßt werden kann. Für noch kleinere Teilchen muß die seichte Kammer verwendet werden, da deren Schichtdicke von 0,01 mm auch vom Öl-Immersionsobjektiv „Ol-Im NA = 1,25 100 X“ noch erfaßt werden kann. Von der Vergrößerung des zur Zählung verwendeten Objektivs ist auch die Art des verwendeten Deckglases abhängig. Dieses muß ja selbstverständlich so beschaffen sein, daß es — wo es über dem Zählnetz frei liegt — nicht durchgebogen werden kann, wodurch die Kammertiefe verfälscht würde. Für die tiefen Kammern, welche nur mit schwachen und mittleren Objektiven verwendet werden, die einen verhältnismäßig großen freien Arbeitsabstand haben und die gegen Abweichungen in der Dicke des Deckglases ziemlich unempfindlich sind, werden daher besondere, dicke Deckgläser (0,4 mm Toleranz  $\pm 0,05$  mm) verwendet. Die Arbeit mit der seichten Kammer und einem stark vergrößernden Objektiv erfordert dagegen unbedingt die Verwendung eines normal dünnen Deckglases (0,18 mm, Toleranz  $\pm 0,01$  mm), da ein dickeres infolge des kurzen freien Arbeitsabstandes der starken Objektive jede Beobachtung unmöglich machen würde. Um ein solches dünnes Deckglas am Durchbiegen zu hindern (was besonders leicht bei der Arbeit mit einem Immersionsobjektiv infolge des von diesem auf das Deckglas ausgeübten Druckes der Fall sein könnte), besitzen die für die seichten Kammern bestimmten Deckgläser einen kräftigen ringförmigen Verstärkungsrand aus Glas, der nur in der Mitte eine kleine Fläche des dünnen Glases für die Frontlinse des Objektivs freiläßt.

Für die tiefe und die seichte Zählkammer ergeben sich folgende Volumina über den Zählfeldern:

**Tiefe Kammer:**

Raum über dem ganzen Zählnetz . . . . .	$1/10$	$\text{mm}^3 = 0,1$	$\text{mm}^3$
Raum über einer Gruppe von 16 Zählfeldern . . . .	$1/250$	$\text{mm}^3 = 0,004$	$\text{mm}^3$
Raum über einem Zählfeld . . . . .	$1/4000$	$\text{mm}^3 = 0,00025$	$\text{mm}^3$

**Seichte Kammer:**

Raum über dem ganzen Zählnetz . . . . .	$1/100$	$\text{mm}^3 = 0,01$	$\text{mm}^3$
Raum über einer Gruppe von 16 Zählfeldern . . . .	$1/2500$	$\text{mm}^3 = 0,0004$	$\text{mm}^3$
Raum über einem Zählfeld . . . . .	$1/40000$	$\text{mm}^3 = 0,000025$	$\text{mm}^3$

Die Zählung erfolgt in folgender Weise: Nach einer allfällig notwendigen Verdünnung wird ein Tropfen des Materiales auf die Fläche des Zählnetzes gebracht. Dann legt man das Deckglas auf und drückt es über den Auflageflächen mit einem sauberen Holzstäbchen auf diese Flächen auf, so daß alle überschüssige Flüssigkeit austritt und das Deckglas mit seiner Unterseite fest auf die Auflageflächen aufliegt. Nun bringt man die Kammer unter das Mikroskop und sucht zuerst mit einem schwachen Objektiv die Stelle des Zählnetzes; ist dieses gefunden, so schließt man die Aperturirisblende des Beleuchtungsapparates des Mikroskopes so weit, bis die Linien des Zählnetzes deutlich sichtbar sind. Ist das Netz gefunden und richtig abgeblendet, so geht man auf das eigentliche Zählobjektiv über. Mit diesem stellt man zuerst auf die Teilung scharf ein und hebt dann den Mikroskoptubus mit Hilfe des Feintriebes des Mikroskopes noch so weit, bis die Teilung wohl noch deutlich sichtbar, aber doch schon etwas verschwommen erscheint, da man dann die Gewißheit hat, daß über die Ebene des Zählnetzes eingestellt ist und keine über diesem schwebende Teilchen sich der Zählung entziehen können. Nun wird die Zählung in einer größeren Anzahl von Zählfeldern vorgenommen, wobei besonders auf Teilchen zu achten ist, welche auf den Teilstrichen liegen (vgl. Seite 16—17).

**Berechnung:**

Anzahl der Zählfelder, in welchen ausgezählt wurde . . . . . F  
 Gesamtzahl der insgesamt ausgezählten Zählpunkte . . . . . P  
 Volumen über einem Zählfeld, in Kubikmillimeter . . . . . V mm<sup>3</sup>  
 Verdünnung der ausgezählten Flüssigkeit . . . . . 1 : v

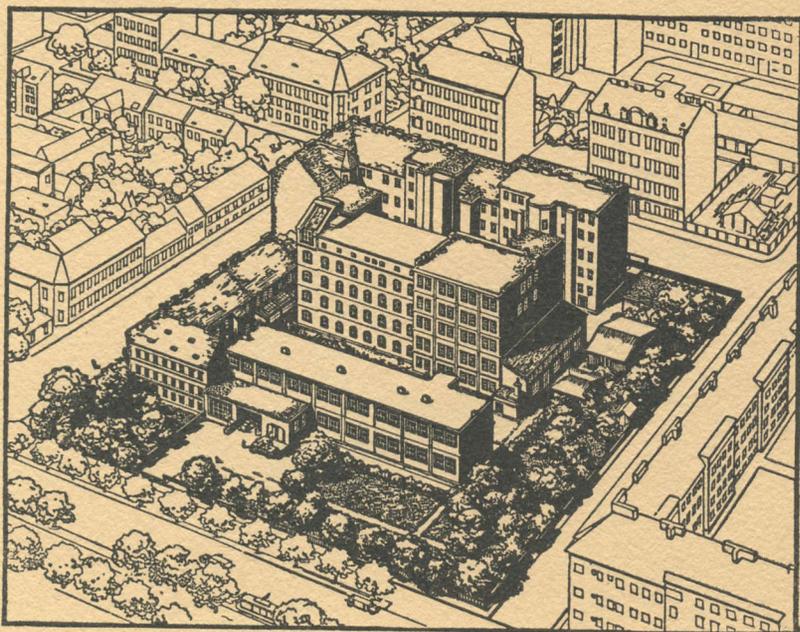
(13) Wirkliche Anzahl der Zählpunkte in einem Kubikmillimeter der unverdünnten

$$\text{Flüssigkeit } Z = \frac{v \cdot P}{V \cdot F}$$

**Beispiel:**

Es werden in einer Flüssigkeit suspendierte Materialteilchen in einer Tiefen-Zählkammer gezählt ( $V = 0,00025 \text{ mm}^3$ ), nachdem die Flüssigkeit vorher im Verhältnis 1 : 10 verdünnt worden war ( $1 : v = 1 : 10$ ). Die Zählung wird in allen 16 Feldern einer Gruppe ausgeführt ( $F = 16$ ) und die Zahl der Zählpunkte ergab sich dafür zu insgesamt 56 ( $P = 56$ ). Die Zahl der in einem Kubikmillimeter enthaltenen Materialteilchen berechnet sich dann nach (13) zu

$$Z = \frac{10 \cdot 56}{0,00025 \cdot 16} = 140.000.$$



OPTISCHE WERKE

**C. REICHERT**

WIEN, XVII.