

Phasen-Kontrast Ausstattung

Kf · KFA · KFP · KFS · KFZ

PZO · Polskie Zakłady Optyczne · Warszawa - Polen
Siehe auch Geräte-CF-4



EINFÜHRUNG

Ein normales biologisches Mikroskop ermöglicht nur die Beobachtung solcher Mikroobjekte, die einen natürlichen Kontrast zu ihrer Umgebung zeigen, also mehr oder weniger stark Licht absorbieren. Diese werden als **AMPLITUDENOBJEKTE** bezeichnet, da sie, aufgrund der Absorption, die Amplitude der Lichtwelle ändern. Es gibt jedoch Mikroobjekte in der Natur, die keinen Unterschied in der Lichtabsorption zeigen, sondern sich ihrer Umgebung gegenüber nur in Brechungsindex oder Dicke unterscheiden. Solche Strukturen werden als **PHASENOBJEKTE** bezeichnet, weil sie nur eine Änderung in der Phase der Lichtwelle herbeiführen. In einem normalen Mikroskop, im Durchlicht, sind sie entweder ganz oder fast unsichtbar, weil das menschliche Auge nicht empfindlich auf Veränderungen in der Phase der Lichtwelle ist.

Phasen Objekte müssen eingefärbt werden, wenn sie durch ein normales biologisches Mikroskop betrachtet werden sollen.

Dies ist umständlich und kann unerwünschte Folgen haben. Besonders lebende Zellen und Gewebe können nicht gefärbt werden, weil dies in der Regel Ursache ihres Absterbens ist. Damit sind die Möglichkeiten der Beobachtung lebender Mikroorganismen, die vollständig transparent sind und das Licht nicht absorbieren, durch ein Standard-Mikroskop-System sehr begrenzt. Ein Mikroskop, welches mit einem **Phasen-Kontrast-Gerät** ausgestattet ermöglicht die Beobachtung der Phasenobjekte sowie der Amplituden-Objekte.

Hauptsächlich zwei Arten von Phasen-Kontrast-Geräte werden verwendet: *positiver Phasenkontrast* (Zernike-Typ) und *negativer Phasenkontrast*.

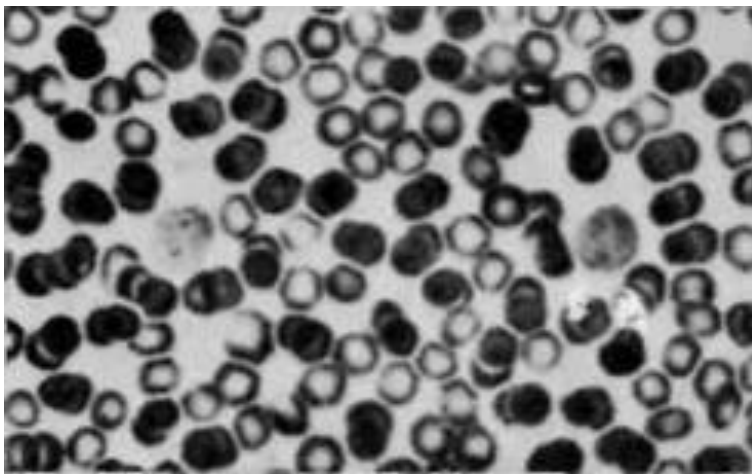


Abb. 1. Blutkörperchen im positiven Kontrast

Die **positive Phasenkontrast** (Zernike) eignet sich besser für die Beobachtung von Objekten, die das Licht stark brechen, z.B. **Amplituden-Phasen-Objekte**, d.h. Objekte eines intermediären Charakters zwischen **Amplituden-** und **Phasen-Objekten**. Er ist auch besser geeignet für die Beobachtung von Strukturen mit einem Brechungsindex kleiner als die der Umgebung. Darüber hinaus kann ein Mikroskop mit positiven Phasenkontrast (Zernike-Typ) Bilder erhalten, die in einem hohen Grad die in einem normalen Mikroskop im Hellfeld beobachteten ähneln, was - nach dem Färben des Präparates - die Identifizierung und Differenzierung von Details erleichtert.

Ein **negativer Phasenkontrast** zeigt im Allgemeinen eine höhere Empfindlichkeit, das heißt in dem Präparat kleinere Unterschiede in dem optischen Pfad zu erkennen. Er bietet einen größeren **Kontrast** und ein plastisches Bild. In einem negativen Phasenkontrast ist der Hintergrund des Bildes dunkel.

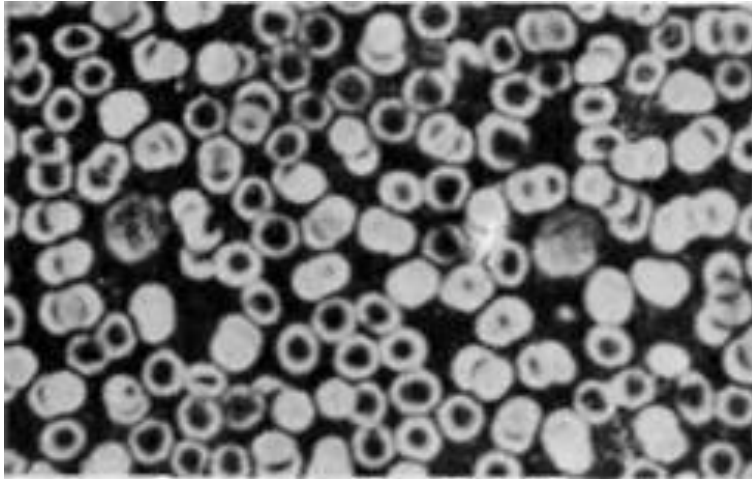


Abb. 2. Blutkörperchen im negativen Kontrast (Phasen Ringe aus Ruß, Objektiv 20X)

Die meisten Firmen stellen sowohl positive Phasen-Kontrast-Geräte des Zernike Typs und negative Phasen-Kontrast-Geräte her, aber das bedeutet noch nicht voll Befriedigung aller Bedürfnisse bei der Beobachtung von Objekten, die keinen natürlichen Kontrast haben. Die polnische Optical Works Herstellung fertigt neben dem positiven Phasen-Kontrast-Gerät **KF** des Zernike Typs und das negative Phasen-Kontrast-Gerät **KFA** mit Phasen-Ringen aus Ruß, Sowie zwei neue: das positive Phasen-Kontrast-Gerät **KFS** mit dielektrischen - Ruß Ringen, und das Phasen Gerät mit variablem Kontrast **KFZ**. Die KF Geräte verfügen über die Funktionen der genannten positiven Phasen-Kontrast-Geräte des Zernike-Typs, während die KFA- Geräte die Merkmale der negativen Phasen-Kontrast zeigen. Das KFS Gerät verfügt über die gleichen Vorteile und Einsatzbereiche, wie der KFA-Typ, außerdem produziert es einen stärkeren Bildkontrast, der bei Fotos von Mikroobjekten wünschenswert sein kann. Im Hinblick auf die positive Art von Kontrast, sind mit dem KFS-Gerät gesehene Bilder auf einem hellen Hintergrund mit dunklen Details.

Besondere Aufmerksamkeit verdient das Phasen Gerät KFZ mit variablem Kontrast. Es ermöglicht die Beobachtung sowohl in positivem Kontrast vom Zernike Typ und in negativem Kontrast wie KFA, und bietet auch die Möglichkeit des schnellen und reibungslosen Übergangs von einem zum anderen. Neben diesem operativen Vorteile des KFZ- Gerätes produziert es einen stärkeren Bildkontrast mit besserer Unterscheidung von Details und größerer Empfindlichkeit als die normale Ausrüstung.

Ausführung der Phasenkontrast-Ausrüstung

Der vollständige Satz der Phasen-Kontrast-Geräte der polnischen Optical Works umfasst folgende Leistungen:

- positives Phasen-Gerät, Zernike Typ, KF,
- negatives Phasen Gerät, KFA,
- positives Phasen-Gerät, KFS,
- Phasen Gerät mit variablem Kontrast, KFZ.

ML4, ML5, ML6, MB30: Alle diese Geräte können in den folgenden Arten von unseren Mikroskopen mit *160mm Rohrlänge* verwendet werden.

Die polnischen Optischen Werke fertigen auch Phasenkontrast-Ausrüstung für Mikroskope mit *170 mm Rohrlänge*, nämlich.

- Negatives Phasenkontrast Gerät KFA10 - für die MB10-Mikroskop,

- Negatives Phasenkontrast Gerät KFA15 - für das Mikroskop MB15, MB1 und MB2.

Für jedes Gerät wird geliefert:

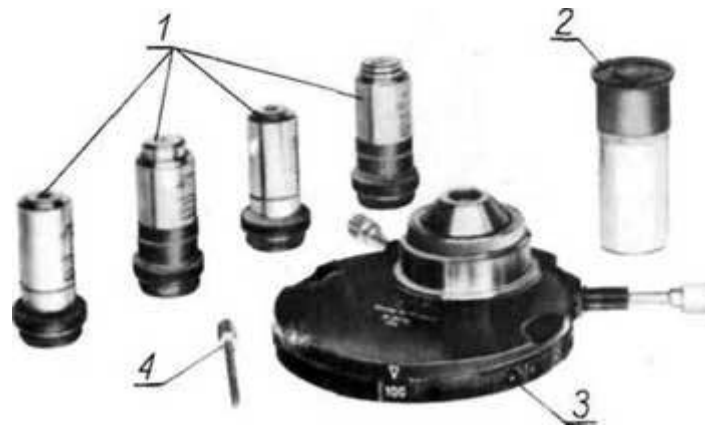
1. Ein Satz Objektive (4 Stck.)
2. Kondensator
3. Hilfs-Mikroskop
4. Schlüssel für die Montage des Kondensators.

Die Objektive der Phasenkontrast-Geräte unterscheiden sich äußerlich in einem Streifen mit der jeweiligen Farbe im oberen Teil der Fassung und einem Symbol nach den Zahlen, welche die Vergrößerung und die Blende bezeichnen, wie in der nachfolgenden Tabelle gezeigt.

ZB. ein Objektiv mit 10x Vergrößerung und Apertur 0,24 des Phasen Gerätes KF hat einen grünen Streifen am oberen Teil des Rahmens und ist markiert: 10/024 Ph 160 / -. Die Zahl "160" bezeichnet die mechanische Länge des Mikroskop- Tubus. Das Zeichen "-", nach der Zahl "160" zeigt an, dass das Objektiv mit oder ohne Deckglas verwendet werden kann. Die Objektive 20x, 40x, 100x, der Zeichen tragen anstelle "-" die Zahl "0,17", für Deckgläser aus Glas mit 0,17 mm Stärke.

Das grundlegende Merkmal aller Phasen-Geräte, mit Ausnahme des KFZ ist, dass sie in der Bild Brennebene einen Phase Ring besitzen, der sogar mit dem bloßen Auge gesehen werden kann, nachdem das Okular aus dem Mikroskoptubus entfernt worden ist.

Die Objektive des KFZ- Gerätes besitzen jeweils zwei Phasen Ringe.



Alle Phasenkontrast-Geräte, mit Ausnahme des KFZ sind mit einem Abbe-Kondensator K3Ph mit einer Apertur von 1,2 ausgestattet. Der Kondensator hat eine Schaltscheibe mit vier Ring-Membranen und ein freies "Fenster". Auf der Peripherie der Scheibe sind jeweils Markierungen "0", "10", "20", "40" und "100", und auf dem festen Rahmen ein Zeiger für die Einstellung der Phasenringe vorgesehen. Wenn die "0"-Markierung mit dem Zeiger übereinstimmt, ist das leere "Fenster" in den Strahlengang gebracht, wenn z. B. die "10" an den Zeiger gesetzt ist, dann ist die Phasenring-Scheibe für das Objektiv 10X im Strahlengang, und so weiter. Die Raste muss merklich einschnappen um eine korrekte Positionierung der einzelnen Scheiben zu gewährleisten. Der Kondensator wird beiden Zentrierschrauben konzentrisch ausgerichtet, damit der Blendenring mit dem Phasen-Ring im Objektiv übereinstimmt.

<i>Phasen Gerät</i>	<i>Kennzeichnungsring am Objektiv</i>	<i>Symbol auf der Linse</i>
Positiv KF Zernike Typ	grün	Ph
Negativ KFA	gelb	PHA
Positiv KFS	grau	PhS
Variabler Kontrast KFZ	weiß	PHZ



Der K3PhZ Kondensator des KFZ Gerätes verfügt über vier Doppel-Ringblendensysteme entsprechend den Zwei-Phasen-Ringen in jedem Objektiv und ein freies "Fenster". Unterhalb der Aperturblende ist der Polarisator angeordnet, er kann über jeden gewünschten Winkel gedreht werden. Der Polarisator ist auf schrägen Führungen montiert und kann entfernt werden. Beim Austausch des Polarisators ist es notwendig, sicherzustellen, dass die Sperre eingerastet ist.

Alle Phasenkontrast-Geräte haben das gleiche Hilfs-Mikroskop MPh. Dies wird für die Beobachtung der Phasen Ringe des Objektivs verwendet, während die Beleuchtung an den Phasenkontrast angepasst wird.

Vorbereitung der Phasenkontrastgeräte für den Betrieb

Mit Ausnahme des KFZ-Typs, sind alle Phasenkontrast-Geräte für den Betrieb in der gleichen Weise hergestellt worden. Insbesondere bei Mikroskopen mit eingebauter Beleuchtung sollte das Mikroskop so beschaffen sein, dass der Tisch und der Objektivrevolver direkt vor dem Betrachter positioniert werden. Die erste Operation durchzuführen ist, alle Objektive in die Fassungen des Objektivrevolvers einzuschrauben. Dann wird der Kondensator in die Kondensatorfassung montiert. Dazu muss der Kondensatorträger so weit wie möglich gesenkt werden. Der Kondensator wird von unten eingeführt und an seinen Platz geschoben, so dass die Kondensator- Zentriernoppen symmetrisch über den flachen Vertiefungen in der Kondensatorfassung liegen. Nach dem einsetzen des Kondensators ist es notwendig, ihn durch Anziehen der Madenschraube mit Hilfe des mitgelieferten Schlüssels in seiner Position zu verriegeln.

Nachdem ein geeignetes Okular (Okulare) ausgewählt und in das Rohr (Rohre) eingeführt wurde, sollte Köhler Beleuchtung arrangiert werden. Das jeweilige Verfahren ist wie folgt.

1. Setzen Sie den Kondensator Schaltscheibe in Position "0" (jetzt funktioniert der Kondensator wie ein normaler Abbe Kondensator).
2. Setzen Sie ein 10x-oder 20x-Objektiv in die Fassung.
3. Schließen Sie das Hilfslicht über einen Transformator an das Stromnetz an und schalten Sie das Licht ein.
4. Durch einen Blick durch das Okular wird das Bild des Präparates zunächst mit Grob- und dann mit Feinjustierung scharf gestellt.
5. Schwenken Sie den Hebel in den hinteren Teil des Mikroskops Basis reduzieren die Öffnung der Leuchtfeldblende.
6. Durch Drehen der Kondensatorshalter Stellschraube bewegt man den Kondensator so, dass das Bild der Aperturblende in die Ebene des Objekts liegt, d.h. sie wird scharf abgebildet.
7. Korrigieren Sie alle Exzentrizität der Aperturblendenabbildung durch die Kondensator- Zentrierschrauben.
8. Vergrößern Sie die Größe der Aperturblendenabbildung bis an das Sichtfeld des Mikroskops.
9. Reduzieren Sie die Öffnung der Leuchtfeldblende unter dem Kondensator
10. Mit Blick auf die Blätter der Aperturblende von unten, vorzugsweise mit Hilfe eines Spiegels, bewegen Sie die Beleuchtung, bis Sie auf der fast geschlossenen Blende ein scharfes Bild des Glühlampenfadens erhalten.
11. Entfernen Sie das Okular aus dem Tubus. Vergrößern Sie das Bild der Aperturblende ein wenig über den Außendurchmesser des sichtbaren Phasen Rings.
12. Setzen Sie das Okular in den Tubus und stellen das Bild mit der Feinjustierung scharf.

Nach diesen Vorbereitungen ist das Mikroskop bereit für die Beobachtung. Weitere Details werden in der Betriebsanleitung von jedem unserer Mikroskope gefunden.

Für die Beleuchtung zur Beobachtung im Phasenkontrast übernehmen Sie das folgende Verfahren:

- a) Drehen Sie die Kondensator Schaltscheibe in Position für die jeweilige Zielsetzung (z. B. für ein 20x-Objektiv drehen Sie die Festplatte, auf die Position mit der Aufschrift "20").
- b) Entfernen Sie das Okular aus dem Tubus und ersetzen Sie es durch das Hilfs-Mikroskop.
- c) Bewegen Sie das Okular des Hilfsmikroskops bis der dunkle Phasenring des Objektivs und das etwas kleinere Bild des Kondensatorrings im Mittelpunkt stehen.
- d) Verwenden Sie den Aperturblenden- Zentrierungsknopf, um die beiden Ringe konzentrisch zueinander in Position zu bringen.
- e) Nehmen Sie die erforderlichen Korrekturen vor, z.B.:
 - Drehen Sie den Blendenhebel, damit das Abbild der Blende bis an die Phasenring reicht;
 - Bewegen Sie die Leuchte, um das Bild des Glühlampfadens auf das Bild der Feldblende zu projizieren;
 - Drehen Sie den Hebel nach hinten um das Abbild der Leuchtfeldblende an die Größe des Sichtfeldes anzupassen.
- f) Entfernen Sie das Hilfs-Mikroskop aus dem Tubus und setzen ein Okular ein.

Für die Einstellung der Beleuchtung in einem Phasenkontrast KFZ führen Sie zuerst alle oben beschriebenen Vorgänge unter a) bis f) durch, allerdings mit dem Unterschied, dass zwei Paar Ringe konzentrisch positioniert werden müssen. Das innere Ringpaar (der Blendenring in dem Kondensator und der Phasen-Ring in dem Objektiv für den positiven Kontrast, während das äußere Paar für den negativen Kontrast ist. Dann drehen Sie den Polarisator auf "Löschen" eines der Paare, so dass der ausgewählte Kontrast erscheint. Wie in Punkt "f" ersetzen Sie das Einstellmikroskop durch das Okular. Bei Verwendung des KFZ-Gerätes genügt eine einfache Drehbewegung des Polarisators, um einen positiven oder negativen Kontrast auszuwählen.

Die Umschaltung von einer Polarisierung zu der anderen ist das Sichtfeld im Mikroskop gut sichtbar. Wenn beide Gegensätze teilweise "ausgelöscht" sind, ist ein sogenannter gemischter Phasenkontrast produziert, welcher vor allem für die Beobachtung der Amplituden-Phasen-Objekte geeignet ist.

Das Phasen Gerät KFZ enthält zwei Arten von Kontrast - und vereinfacht damit erheblich die Bedienung und das ermöglicht dem Anwender neue Möglichkeiten der Untersuchung von Phasen- und Amplitudenobjekten. Bei Verwendung eines beliebigen Phasen Gerätes ist daran zu erinnern, dass jederzeit die objektive Einstellung der Beleuchtung geändert wird, und dem jeweiligen Phasenring angepasst werden muss. Die Öffnungen der Feldblende und der Aperturblende müssen geändert werden, sowie die Zentrierung der Blende und der Phasen Ringe müssen entsprechend den Anforderungen wie vorher beschrieben überprüft werden. Für bestimmte Arten von Prüfungen müssen jeweils die Bedingungen für jedes der beschriebenen Phasenkontrast Geräte gefunden werden, welche am besten geeignet sind. Die richtige Auswahl der Art der Phasenkontrast-Geräte ist unerlässlich für den Erhalt der gewünschten Wirkung. Nähere Informationen zu diesem Thema wird in dem Buch - "Phase-Contrast and Interference Microscopy" von M. Pluta, von O.W.N. (Polish Scientific Editions) herausgegeben, 1965.

WARTUNG

Die Phasenkontrast-Ausrüstung sollte in trockenen Räumen aufbewahrt werden, bei Temperaturen von + 5 bis 35 ° C, frei von sauren Dämpfen und anderen ätzenden Stoffen. Bei längeren Pausen im Betrieb des Mikroskops mit dem Phasenkontrast-Gerät sollte das Gerät abgedeckt werden.

Verwenden Sie ein weiches, entfettetes Flanell Tuch zur Reinigung der Außenflächen der Metallteile der Objektive, des Kondensators und des Hilfs-Mikroskops. Im Falle von größeren Verunreinigungen, z. B. Fettablagerungen, Fingerabdrücke, etc. reinigen Sie die äußeren Oberflächen der Metallteile mit einem Tampon von sauber, fettfreier Watte in **Alkohol** oder **Äther getränkt**, auf einem Holzstab gewickelt.

Vermeiden Sie die Reinigung von Außenflächen von optischen Teilen und kümmern Sie sich darum, die Verschmutzung solcher Teile zu verhindern. Sollte es notwendig sein, um Staub von den Außenflächen der optischen Teile zu entfernen, verwenden Sie eine sauber Biber Haarbürste für diesen Zweck. Größere Verunreinigungen von optischen Oberflächen entfernen Sie möglicherweise mit einem sauberen Tampon entfetteter Watte, in Alkohol oder Äther getränkten welche auf einem Holzstab gewickelt ist. Wenn dies nicht hilft, muss das Gerät in eine spezialisierte Werkstatt.

Wenn Immersionsöl verwendet wurde, muss es von den Objektiv- und Kondensator-Oberflächen mit Hilfe des Lösungsmittels (**Xylol**), (die in der Ausstattung jedes von uns hergestellten Mikroskops enthalten ist) gewaschen werden.

Wenn das Gerät beschädigt ist oder die Notwendigkeit entsteht, die inneren Oberflächen der optischen Teile zu reinigen oder irgendwelche Teile zu reparieren, muss das Gerät an eine spezialisierte Werkstatt geschickt werden.

Vergleiche mit Gerät CF-4

Letzte Änderungen 05.03.2014