

## XVII.

## Kleinere Mittheilungen.

## 1.

## Beiträge zur histologischen Technik.

Von Dr. S. Krysiński in Dorpat.

## No. 4. Ein neues Ocularmikrometer und dessen Anwendung.

Im Jahre 1882 construirte Dr. E. Hartnack in Potsdam das „neue bewegliche Ocularmikrometer“, welches lineare Grössen bis zu 0,0001 mm  $\equiv 0,1 \mu$  direct zu messen gestattet. Im selben Jahre habe ich an diesem Instrument eine Veränderung angebracht, wodurch die Scala nicht nur in einer, sondern in zwei, zu einander senkrechten Richtungen über das ganze Sehfeld verschiebbar gemacht wurde. Vor kurzem endlich habe ich an demselben Instrument noch eine Veränderung vorgeschlagen, die es auch für krystallographische Zwecke geeignet machen sollte.

In der jetzigen Construction besteht das Instrument aus einem gewöhnlichen schwachen Ocular (Hartnack No. 2) von etwa 22 mm Durchmesser, auf welchem in einer Höhe von 12 mm, vom unteren Ende (der Sammellinse) an gerechnet, eine Metalltrommel von 55 mm Durchmesser und 12 mm Höhe befestigt ist.

Die erwähnte Trommel besteht aus zwei hohlen, oben und unten abgeschlossenen Cylindern, von denen der obere bei sanfter Reibung (à frottement doux) in dem unteren drehbar und mit dem entsprechenden Theile des Oculars fest verbunden ist.

Im oberen Theile des unteren Cylinders befindet sich ein, auf einem Glasplättchen photographirtes Fadenkreuz. Im unteren Theile des oberen Cylinders befindet sich dicht über dem Fadenkreuz eine ebenfalls auf einem Glasplättchen photographirte Scala. Die Entfernung zwischen beiden Photographen ist klein genug, damit man bei entsprechender Einstellung der Augenlinse gleichzeitig und gleich scharf das Bild des Fadenkreuzes und der Scala sehen kann.

Die auf einem Glasplättchen photographirte, deutlich bezifferte Scala besteht aus einem rechtwinkligen Dreieck, dessen eine Kathete genau 10mal länger ist, als die andere. Die lange Kathete ist in 100 Theile getheilt und die zu ihr selbstverständlich senkrechten Theilungsstriche ragen alle über die Hypotenuse hinüber. In Folge dessen sind die, zwischen der

Hypotenuse und der langen Kathete eingeschlossenen Theilungsstrichabschnitte genau dem zehnten Theil der entsprechenden Abschnitte der langen Kathete gleich, also ist z. B. der oben beschriebene Abschnitt des 27. Theilungsstriches genau  $\frac{27}{10} = 2,7$  Theilstriche lang.

Die beschriebene Construction gestattet also die zehnten Theile des Theilstriches direct abzulesen.

Der die Scala umfassende Rahmen lässt sich mittelst einer über der Trommel hervorragenden Schraube in einer Coulisse sicher und leicht hin und her bewegen. Der Richtung dieser Bewegung ist die der langen Kathete genau parallel. Die den Rahmen tragende Coulisse ist selbst in einer anderen Coulisse befestigt, in der sie, sammt ihrem ganzen Inhalt, in einer zur langen Kathete genau senkrechten Richtung mittelst einer über der Trommel hervorragenden Schraube sicher hin und her bewegt werden kann.

Die Länge beider Coulissen ist genügend, damit die Scala in beiden Richtungen über das ganze Sehfeld geführt werden kann.

Die äussere Peripherie (der Mantel) des unteren Trommelcylinders ist in 360 Grade deutlich eingetheilt. Die entsprechende Peripherie des oberen Cylinders trägt einen Nonius, in welchem ein Bogen von  $19^{\circ}$  in 20 Theile getheilt ist. Diese Vorrichtung gestattet eine Umdrehung des oberen Oculartheils von 3 Bogenminuten direct abzulesen.

Dicht unter der Trommel ist am Ocular ein Stift befestigt, der in einen entsprechenden Schlitz am oberen Tubusende des Mikroskops genau passt und dadurch jede seitliche Verschiebung und Rotation des unteren Oculartheils gänzlich verhindern soll.

Die Augenlinse dieses Ocularmikrometers ist wie üblich zum Heben und Senken eingerichtet, damit man das Bild des Fadënkreuzes und der Scala auf die Entfernung der deutlichen Sehweite des Beobachters bringen kann.

Wie bei jedem anderen Ocularmikrometer, muss man auch bei diesem zuerst den Werth einer Theilung der Mikrometerscala für jedes Objectivsystem mit der grössten Sorgfalt selbst bestimmen. Sich auf die von den Optikern beigegebenen Tabellen zu verlassen, ist schon deswegen unthunlich, weil die darin angegebenen Werthe selten um weniger als 50 bis 100 pCt. von der Wahrheit differiren.

Die Bestimmung geschieht bekanntlich folgendermaassen:

Als Präparat legt man auf den Objecttisch ein Objectmikrometer, d. h. einen Glasstreifen, auf dem ein Millimeter in hundert Theile getheilt ist, stellt das Mikroskop auf die Theilung ein, bringt durch entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der an der Trommel angebrachten Schrauben die kurze Kathete der Scala zur Coincidenz mit einem Theilungsstrich des Objectmikrometers und bestimmt, zwischen welchen Zahlen der Theilungsstriche des Object- und Ocularmikrometers die grösste Uebereinstimmung stattfindet. Hat man dabei gefunden, dass eine gewisse Zahl von Theilstrichen des Ocularmikrometers einer gewissen Zahl von Theilstrichen des Objectmikrometers gänzlich entspricht, so muss man noch

prüfen, ob dieselbe Uebereinstimmung auch bei dem aliquoten Theil und dem Vielfachen dieser Zahlen stattfindet.

Würden z. B. 88 Theilstriche des Ocularmikrometers 20 Theilstrichen des Objectmikrometers gänzlich entsprechen, und gleichzeitig 44, 22 u. s. w. Theilstriche des Ocularmikrometers 10, 5 u. s. w. Theilstrichen des Objectmikrometers gleich sein, so wäre man berechtigt, diese Zahlen als genau zu betrachten und aus ihnen durch einfache Division den wahren Werth eines Theilstriches des Ocularmikrometers für dieses Linsensystem zu bestimmen.

In unserem Beispiel wäre z. B.

$$1 \text{ Th. d. Oc. m.} = \frac{5 \text{ Th. d. Ob. m.}}{22} = \frac{0,05}{22} = 0,002254 \text{ mm}$$

oder  $2,254 \mu$  (Mikromillimeter).

Wenn aber eine gänzliche Uebereinstimmung nicht vorhanden wäre, so muss man zum Grund der Berechnung die möglich grössten Zahlen nehmen, wenn auch zwischen den kleineren eine grössere Uebereinstimmung herrschen sollte.

Gesetzt z. B. dass

$$6 \text{ Th. d. Oc. m. fast} = 5 \text{ Th. d. Ob. m.,}$$

gleichzeitig aber  $16 \times 6 = 96$  Th. d. Oc. m. nicht 80 Th. d. Ob. m. entsprechen, sondern zwischen 81 und 82 enthalten sind, so sind wir sicher, dass

$$96 \text{ Th. d. Oc. m.} > 81 \text{ Th. d. Ob. m. und}$$

$$96 \text{ Th. d. Oc. m.} < 82 \text{ Th. d. Ob. m., also dass}$$

$$1 \text{ Th. d. Oc. m.} > 8,438 \mu \text{ und}$$

$$1 \text{ Th. d. Oc. m.} < 8,541 \mu,$$

und endlich, dass wenn wir eine zwischen diesen liegende Zahl für den wahren Werth eines Theilstriches des Ocularmikrometers nehmen, der begangene Fehler sicher kleiner, als der ganze Unterschied zwischen ihnen, d. h. kleiner als  $0,103 \mu$  sein wird.

Wenn wir aber von der ersten Zahl

$$6 \text{ Th. d. Oc. m. fast ganz} = 5 \text{ Th. d. Ob. m.}$$

ausgehen wollten, bei der uns die Uebereinstimmung die grösste schien, so würden wir erhalten

$$1 \text{ Th. d. Oc. m.} = 8,333 \mu,$$

d. h. eine entschieden zu kleine Zahl, da sicher

$$1 \text{ Th. d. Oc. m.} > 8,438 \mu.$$

Das oben beschriebene Instrument kann folgende Anwendung finden.

### 1. Zur Längenmessung.

Das Verfahren der Längenmessung mit dem beschriebenen Instrument ist verschieden, je nach dem der zu messende Durchmesser des gegebenen Objectes kleiner oder grösser ist, als 10 Theilstriche der Scala.

Ist der gewählte Durchmesser kleiner, als 10 Theilstriche der Scala, so braucht man nur, wo immer das Object im Sehfelde liegen mag, durch entsprechende Drehung des oberen Oculartheiles und der an der Trommel

angebrachten Schrauben die kurze Scalenkathete zur gänzlichen Deckung mit demselben zu bringen, und zwar so, dass die lange Kathete gleichzeitig einen Endpunkt des Durchmessers berührt. Durch weitere Drehung der mit der langen Kathete parallelen Trommelschraube verschiebt man die Scala so lange, bis die Hypotenuse den zweiten Endpunkt des Durchmessers berührt, und da bei dieser Verschiebung die lange Kathete stets in ihrer ersten Richtung verbleibt, und in Folge dessen das gegebene Object stets im selben Punkt tangirt, so coincidirt auch der, diese Punkte verbindende Theilungsstrich mit dem gewählten Durchmesser völlig und giebt seine Länge bis zu  $\frac{1}{10}$  eines Theilstriches direct an.

Diese Messungsmethode nenne ich kurzweg „Eintheilung“.

Ist aber der gewählte Durchmesser länger, als 10 Scalatheilstriche, so kann er nicht eingekeilt werden; um ihn zu messen, braucht man nur durch entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der Trommelschrauben die lange Kathete zur gänzlichen Deckung mit demselben zu bringen, und zwar so, dass ein Theilungsstrich genau mit einem seiner Endpunkte sich deckt, um an der langen Kathete seine Länge direct abzulesen.

Die so eben beschriebene Messungsmethode mit dem neuen Instrument besitzt vor allen anderen den grossen Vortheil, dass man mit demselben durch eine entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der Trommelschrauben die Scala leicht, schnell und sicher zur gänzlichen Coincidenz mit dem wo und wie immer liegenden Objectdurchmesser bringen kann, während bei den alten Instrumenten mit unbeweglicher Scala die immer schwierige und häufig ganz unausführbare, genaue Unterschiebung des Objects unter die Scala sehr zeitraubend ist und keine grössere Genauigkeit zulässt.

Für kleinere Objecte, die eingekeilt werden können, besitzt die Methode den weiteren Vortheil, dass man die Länge ihrer Durchmesser bis zu  $\frac{1}{10}$  eines Theilstriches direct genau bestimmen kann.

Endlich möchte ich noch als Vortheil dieser Methode und des Instrumentes hervorheben, dass man die Berührung des Objectes mit zwei langen, äusserst dünnen und schwarzen Linien (lange Kathete und Hypotenuse, oder zwei Theilungsstriche) viel genauer bestimmen kann, als mit zwei kurzen, dicken, mit Diamant eingeschnittenen, ganz farblosen Strichen.

## 2. Zur Messung planer Winkel.

Um einen wo immer am Sehfeld liegenden planen Winkel bis auf 3' Bogenminuten genau zu messen, braucht man nur durch entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der Trommelschrauben die lange Kathete zur gänzlichen Coincidenz mit einem seiner Schenkel zu bringen und den Stand des Nonius an der Trommel abzulesen. Durch abermalige entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der Trommelschrauben bringt man dann die lange Kathete zur gänzlichen Coincidenz auch mit dem zweiten Schenkel des Winkels und liest abermals den Stand des

Nonius ab. Die algebraische Differenz dieser zwei Ablesungen giebt unmittelbar die Winkelgrösse bis zu 3' genau an.

Diese Messungsmethode hat vor der älteren mit dem drehbaren Objectisch und Fadenkreuzocular den unstreitigen Vortheil, dass die Messung bei jedem gewöhnlichen Mikroskopstativ ohne alle weiteren Vorrichtungen leicht ausgeführt werden kann, und die so sehr mühsame und schwierige Centrirung gänzlich überflüssig ist, wodurch nicht nur an Zeit, sondern auch an Genauigkeit sehr wesentlich gewonnen wird.

### 3. Zur Messung diedrischer Winkel.

Nach einem bekannten Lehrsatz der analytischen Geometrie kann der Neigungswinkel zweier Ebenen im Raume bestimmt werden, wenn die gradlinigen Coordinaten von 6 Punkten bekannt sind, von denen je 3 auf einer dieser Ebenen, aber nicht alle 3 in einer geraden Linie liegen

Die direct unausführbare Aufgabe, diedrische Winkel mikroskopisch zu messen, reducirt sich durch diesen Lehrsatz zu einer verhältnissmässig leichten: nemlich zur Bestimmung der gradlinigen Coordinaten eines Punktes im Raume.

Als Coordinatensystem, auf welches sich unsere Bestimmungen beziehen sollen, wählen wir folgende drei Axen: als X-Axe das Bild des Fadenkreuzarmes, der von links nach rechts zieht, als Y-Axe das Bild des Fadenkreuzarmes, der von vorn nach hinten zieht, als Coordinatenanfangspunkt das Bild des Kreuzungspunktes der Fadenkreuzarme und endlich als die Z-Axe eine durch den Coordinatenanfangspunkt zur Ebene der X- und Y-Axen gerichtete Senkrechte. Diese letzte Axe ist also der optischen Axe des Mikroskops parallel.

Um die auf diese Axen bezogenen Coordinaten eines Punktes zu bestimmen, braucht man nur, wenn die Entfernungen der Projection dieses Punktes auf die Ebene XY von der X- und Y-Axe nicht über 10 Scalatheilstriche gross sind, durch entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der Trommelschrauben (von denen wir die in der Richtung der langen Kathete gehende „die lange“, die in der Richtung der kurzen Kathete gehende kurzweg die „kurze Schraube“ nennen wollen) die lange Kathete zur absoluten Coincidenz mit der X-Axe zu bringen, dann aber die lange Schraube entsprechend zu drehen, bis die Hypotenuse durch die Projection des gewählten Punktes geht.

Da während dieser Drehung die lange Kathete stets auf der X-Axe verbleibt, die Theilungsstriche also zu der X-Axe senkrecht gerichtet sind, so giebt der durch diesen Punkt gehende Theilungsstrich die Länge der Y-Coordinate bis zum Werth von  $\frac{1}{10}$  eines Theilstriches genau, unmittelbar an.

Bringt man dann durch entsprechende Drehung die lange Kathete zur gänzlichen Coincidenz mit der Y-Axe und verschiebt die Scala durch entsprechende Drehung der langen Schraube, bis die Hypotenuse abermals durch den gewählten Punkt geht, so giebt wieder aus denselben Gründen

der durch diesen Punkt gehende Theilungsstrich die Grösse der X-Coordinate mit derselben Genauigkeit direct an.

Wenn die Entfernung der Projection des gewählten Punktes auf die X-Y-Ebene von den entsprechenden Axen grösser, als 10 Theilstriche, wäre, so hat man, um die Coordinaten zu bestimmen, zuerst die lange Kathete durch entsprechende Drehung des oberen Oculartheils und der Trommelschrauben zur absoluten Coincidenz mit der X-Axe zu bringen, dann durch entsprechende Drehung der kurzen Schraube die Scala so weit zu verschieben, bis die lange Kathete durch den entsprechenden Punkt geht (bei dieser Bewegung bleibt die lange Kathete stets zu der X-Axe parallel, also zu der Y-Axe genau senkrecht gerichtet), und endlich durch Drehung der langen Schraube einen Scalatheilungsstrich zur gänzlichen Coincidenz mit der Y-Axe zu bringen, um auf der langen Kathete die senkrechte Entfernung der Projection des gegebenen Punktes von der Y-Axe, also seine X-Coordinate direct abzulesen.

Bringt man dann wieder die lange Kathete zur gänzlichen Coincidenz mit der Y-Axe, verschiebt die Scala durch Drehung der kurzen Schraube, bis die lange Kathete abermals durch die Projection des gewählten Punktes geht, wobei natürlich diese Kathete stets parallel zu der Y-Axe, also senkrecht zu der X-Axe verbleibt, verschiebt die Scala weiter durch Drehung der langen Schraube, bis ein Scalatheilungsstrich genau mit der X-Axe coincidirt, so kann man unmittelbar die senkrechte Entfernung der Projection dieses Punktes von der X-Axe, also seine Y-Coordinate auf der langen Kathete direct ablesen.

Aus dem Unterschiede der abgelesenen Stellungen des Index der Mikrometerschraube bei der Einstellung des Mikroskops auf die obere (dem Beobachter zugekehrte) Fläche des Objectträgers und den gewählten Punkt, sowie aus dem bekannten Werthe eines Theilstriches dieser Schraube kann man die Z-Coordinate unmittelbar berechnen.

Die Genauigkeit der Bestimmung dieser letzten Coordinate hängt ab:

1. von der Vollkommenheit der Mikrometerschraube,
2. von der Genauigkeit der Bestimmung der Höhe ihres Ganges.

Diese Bestimmung muss unweigerlich auf derselben Theilungsmaschine ausgeführt werden, auf welcher das Objectmikrometer ausgeführt wird. Da nemlich der Werth der Ocularscalatheilung, mit welcher wir die X- und Y-Coordinaten messen, mittelst des Objectmikrometers ausgeführt, die Z-Coordinate aber mit dem Gange der Mikrometerschraube gemessen wird, so müssen diese beiden Grössen absolut auf denselben Maassstab bezogen werden, um mit einander combinirt werden zu können.

3. von der Sicherheit der Führung des Mikroskops, d. h. von der Richtung und Ausführung des Führungsprisma, von der passenden Kraft der Druck- und Hebfeder u. s. w., damit der Tubus durch die Mikrometerschraube genau in einer zur Z-Axe parallelen Richtung gehoben und gesenkt werden kann, so dass er sich während

der Beobachtung weder senke (unter dem eigenen Gewicht), noch von der Hubfeder in die Höhe geschnellt werde.

4. von der Vollkommenheit der Correction des Objectivlinsensystems und von der Kürze seiner Brennweite.

Je kürzer die Brennweite eines Systems, um so kleiner ist auch seine Sehtiefe, d. h. die Grösse der erforderlichen Hebung oder Senkung des Tubus, um das Bild eines Punktes zum Verschwinden zu bringen.

Je vollkommener die Correction eines Systems, um so schärfer ist auch das gewonnene Bild, und um so leichter lassen sich schon geringe Unterschiede in der Deutlichkeit desselben wahrnehmen.

Da es sich bei der Z-Coordinatenbestimmung um die genaueste Feststellung des Standes der Mikrometerschraube bei möglich scharfer Einstellung handelt, so ist es verständlich, warum diese nur bei vollkommen corrigirten und starken Systemen erreicht werden kann.

5. von der optischen Homogenität der Medien, in welche das Object und das Linsensystem eintaucht.

Bei Heterogenität der Medien muss man die gefundene scheinbare Höhe mit dem Verhältnisse der Brechungsindices dieser beiden Medien multipliciren, um die wahre Höhe zu ermitteln.

Wenn z. B. die direct gefundene Höhe (die Z-Coordinate) eines Punktes eines in Balsam eingeschlossenen Objectes mit einem Trockensystem =  $45,2 \mu$ , mit einem Wasserimmersionssystem =  $60,2 \mu$  und mit einem homogenen Oelimmersionssystem =  $68 \mu$  gefunden wäre, so wäre nur diese letzte Zahl richtig, da das angewandte Oel und Balsam optisch homogen sind.

Um die anderen zwei Zahlen zu reduciren, braucht man sie nur mit dem Verhältnisse der entsprechenden Brechungsindices zu multipliciren, welche für die Luft 1, für das Wasser 1,33 und für den Balsam 1,5 betragen, und zwar erhält man dann:

$$\text{für das Trockensystem } 45,3 \times \frac{1,5}{1} = 68,05 \mu,$$

$$\text{für das Wassersystem } 60,2 \times \frac{1,5}{1,33} = 67,8699 \mu,$$

d. h. fast gänzlich übereinstimmende Zahlen.

Bei der Erfüllung aller dieser Bedingungen und der Benutzung der besten jetzigen Linsensysteme kann man mit einem System von  $\frac{1}{12}''$  Brennweite den unvermeidlichen Fehler in der Bestimmung dieser Coordinate sicher unter  $0,5 \mu$  herabdrücken.

Die Genauigkeit der Bestimmung der zwei Flächencoordinaten X und Y ist bei unserer Methode mit  $\frac{1}{10}$  der Scalatheilung ausgedrückt. Bei der Anwendung entsprechend starker Systeme kann sie beliebig erhöht werden. Für das Hartnack'sche homogene System III =  $\frac{1}{24}''$  beträgt der Werth eines Scalatheilstriches  $0,541 \mu$ .

Mit diesem System wäre es also möglich, die Flächencoordinaten bis auf  $0,0541 \mu$ , d. h. fast bis auf  $\frac{1}{19} \mu$ , genau zu bestimmen.

G. Wertheim, der das Mikroskop zuerst zur Bestimmung der diedrischen Winkel anwandte, benutzte zur Bestimmung der Flächencoordinaten X und Y ein Fadenkreuzocular und einen nach zwei Richtungen mittelst Schrauben beweglichen Objecttisch. Nach der Einstellung des Mikroskops auf den gewählten Punkt und der Ablesung des Standes der Indices an den Schraubenköpfen brachte er durch entsprechende Drehung einer Schraube den gewählten Punkt zur Coincidenz mit einem Fadenkreuzarm, z. B. der X-Axe; dann brachte er durch Drehung der anderen Schraube den Punkt zur Coincidenz auch mit der zweiten Y-Axe (stellte ihn also in den Coordinatenanfangspunkt n) und las abermals den Stand der Indices der Schrauben ab. Aus dem Unterschiede dieser zwei Ablesungen und dem bekannten Werthe einer Theilung berechnete er unmittelbar den Werth beider Coordinaten.

Dass die gewöhnlichen gangbaren beweglichen Objecttische, wenn die Köpfe der sie bewegenden Schrauben eine noch so feine Eintheilung erhielten, sich zu dieser Bestimmung durchaus nicht eignen, erhellt schon daraus, dass die auf einem Stückchen Draht, mit einer gewöhnlichen Schneidklemme geschnittenen Schrauben sicher keine Ansprüche auf Genauigkeit machen können.

Eine Schraube, die eine  $0,01 \text{ mm}$  Verschiebung sicher ausführt und genau ablesen lässt, muss schon mit einer aussergewöhnlichen Sorgfalt und Präcision angefertigt werden und wird dem entsprechend ziemlich theuer sein. Solche Schrauben aber, wenn sie an den beweglichen Objecttisch angebracht wären, würden nur eine höchst ungenügende Genauigkeit in der Bestimmung der Coordinaten gestatten.

Der bekannte Jenenser Optiker Zeiss fertigt jedenfalls ein Instrument, das Schraubenobjectmikrometer, welches eine Verschiebung von  $2 \mu$  direct abzulesen gestattet. Dieses complicirte und nicht gar billige Instrument (120 Mark) lässt aber die Verschiebung nur in einer Richtung ausführen; sollte es, wie dies für die Wertheim'sche Methode unentbehrlich ist, eine Verschiebung nach zwei Richtungen zulassen, so würde es zwar noch viel complicirter und theurer, sicher aber nicht genauer werden.

Aber auch mit Hülfe eines solchen, neu zu construirenden Instrumentes würde die maximale Genauigkeit ( $2 \mu$ ) weit hinter derjenigen zurückstehen, welche man bei meiner Methode ohne Weiteres schon bei mittelstarken Linsensystemen erreichen kann.

Die Vorzüge des beschriebenen Instrumentes lassen sich also kurz dahin präcisiren, dass man mit seiner Hülfe, ohne specielle Stative und ausschliesslich complicirte Instrumente, bei jedem guten Mikroskop die Längen, die planen und diedrischen Winkel viel leichter und genauer messen kann, als mit irgend einem anderen, bis jetzt bekannten.

---