



Wirtschaftspatent

Teilweise bestaetigt gemaeß § 6 Absatz 1 des  
Aenderungsgesetzes zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

1431 83

Int.Cl.<sup>3</sup>

3(51) G 02 B 21/14

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

---

(21) WP G 02 B/ 2131 64

(22) 28.05.79

(45) 30.03.83

(44) 06.08.80

---

(71) siehe (72)

(72) BEYER, HERMANN, DR. DIPL.-PHYS.; DANZ, RAINER, DIPL.-PHYS.; DD;

(73) siehe (72)

(74) HANS KUEGLER, VEB CARL ZEISS JENA, BFS, 6900 JENA, CARL-ZEISS-STRASSE 1

---

(54) ZWISCHENABBILDUNGSSYSTEM ZUR DURCHFUEHRUNG VON KONTRASTVERFAHREN BEI MIKROSKOPIEN

---

#### Anwendungsgebiete der Erfindung:

Das Zwischenabbildungssystem wird zur Kontrastierung im Phasenkontrast oder mit polarisiertem Licht arbeitenden Interferenzkontrast von im durchfallenden Licht nicht absorbierender und im auffallenden Licht gleiches Reflexionsvermögen wie die Umgebung aufweisender organischer oder anorganischer Objekte verwendet.

Es dient vorwiegend als Ergänzungseinheit in Verbindung mit dazu angepaßten Phasenkontrast- oder Interferenzkontrasteinrichtungen für Durch- und Auflichtmikroskope, kann aber auch integrierender Bestandteil des Mikroskops sein. Dabei sind z.B. für Phasenkontrast keine speziellen Phasenkontrastobjektive erforderlich, sondern die erforderlichen Phasenringe können in einem von einem Teil des Zwischenabbildungssystems erzeugten Bild der Objektivpupille angeordnet werden. An gleicher Stelle lassen sich die zur Durchführung des polarisationsoptischen Interferenzkontrasts erforderlichen Wollastonprismen einschieben. Auf diese Weise ist ein schneller Wechsel zwischen beiden Kontrastarten möglich. Der Erfindungsgegenstand wird vor allem in der Biologie und Medizin, aber auch in technischen Arbeitsgebieten, wie Chemie und Metallographie, zur Kontrastierung von Phasenobjekten eingesetzt. Das sind solche mikroskopischen Objekte, die bei normaler Hellfeldbeobachtung nicht oder nur schwach kontrastiert sind.

#### Charakteristik der bekannten technischen Lösungen:

Die bisher bekanntgewordenen Zwischenabbildungssysteme zur Durchführung von Kontrastverfahren, wie sie z.B. von Gabler in der Zeitschrift Archiv für Eisenhüttenwesen 23 (1952) S. 145 – 150 und in der DD 53 890 angegeben worden sind, bilden bekannterweise zwar die Objektivpupille in eine zugängliche Ebene ab und sind damit für die Durchführung des Phasenkontrastverfahrens und anderer mit natürlichem Licht arbeitender Interferenzkontrastverfahren geeignet, berücksichtigen aber nicht die für den polarisationsoptischen Interferenzkontrast zu erfüllende Bedingung, daß bei der Pupillenabbildung aus linear polarisiertem Licht wieder angenähert linear polarisiertes Licht entsteht. Da keine Maßnahmen vorgesehen sind, um die lineare Polarisation des Lichtes von der Objektivpupille bis zu ihrem Zwischenbild zu erhalten, ist eine polarisationsoptische Kontrastierung nicht möglich. In der Veröffentlichung von Gabler wird bei einem Auflichtmikroskop für Phasenkontrast mit Hilfe einer Beleuchtungslinse und nach Reflexion am Illuminatorspiegel zunächst in der Objektivpupille ein erstes Bild der Ringblende und nach Reflexion am Objekt an der gleichen Stelle ein zweites Bild der Ringblende und schließlich durch den ersten Teil des Zwischenabbildungssystems ein drittes Bild der Ringblende erzeugt, wo das Phasenplättchen angeordnet wird. Schließlich bilden Objektiv und Zwischenabbildungssystem das Objekt in der Feldblende des Okulars ab. Mit der in der DD 53 890 beschriebenen

Anordnung für Durch- und Auflichtmikroskope erfolgt durch das Zwischenabbildungssystem, die Abbildung der Objektivpupille in eine Ebene, in der, entweder gekoppelt mit einem Interferometer oder einem Phasenkontrasteinsatz, interferenzoptische oder phasenoptische Modulatoren, wie Glaskeile, Blenden oder Phasenplättchen, angeordnet werden können. Ein zugängliches Zwischenbild der Objektebene erlaubt die Einführung weiterer Meßelemente, wie Halbschattenplatten, Meßskalen usw. Durch den zweiten Teil des Zwischenabbildungssystems wird dieses Zwischenbild in die Feldblende des Okulars abgebildet. In dem DE-GM 7144 093 wird ein Zwischenabbildungssystem für Durch- und Auflichtmikroskope beschrieben, mit dem es möglich ist, in einem Zwischenbild der Pupille zur Kontrastierung optische Elemente, wie Phasenplättchen, Wollastonprismen und in einem Zwischenbild der Objektebene im wesentlichen für Meßzwecke verschiedene Strichfiguren anzuordnen oder nach dort einzuspiegeln. Da jedoch keine Maßnahmen vorgesehen sind, um die lineare Polarisierung des Lichts von der Objektivpupille bis zu ihrem Zwischenbild zu erhalten, ist aus den schon genannten Gründen eine polarisationsoptische Kontrastierung mit Hilfe von Wollastonprismen nicht möglich. In der AT 314222 ist ein Zwischenabbildungssystem enthalten, das die genannte Polarisationsbedingung durch die Forderung erfüllt, daß das Zwischenbild der Objektivpupille noch vor dem ersten reflektierenden Element entsteht. Dieser Vorschlag ist aber konstruktiv sehr ungünstig, da bei einem dafür aufzuwendenden erträglichen Korrektionsaufwand eine gewisse Mindestlänge erforderlich ist, die entweder zu einer nicht vertretbaren Einblickhöhe führt oder, wie am Beispiel dargestellt, ein aufwendiges und konstruktiv ungünstiges Umlenksystem erforderlich macht, das den Beobachtungsstrahlengang wieder einem in normaler Einblickhöhe liegenden Beobachtungstubus zuführt.

#### Ziel der Erfindung:

Es soll eine Einrichtung geschaffen werden, die es ermöglicht, mit Hellfeldobjektiven für normale und große Felder und hoher Bildqualität sowohl Phasenkontrast als auch polarisationsoptischen Interferenzkontrast durchzuführen und von einer anderen Beobachtungsart schnell umzuschalten, wie es für viele mikroskopische Untersuchungen, insbesondere von lebenden Objekten, wünschenswert ist und außerdem den Nachteil, der von Merstallinger angegebenen Lösung aufhebt.

#### Darlegung des Wesens der Erfindung:

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Zwischenabbildungssystem zur Durchführung von Kontrastverfahren bei Mikroskopen unter Verwendung von Hellfeldobjektiven für normale und große Felder zu schaffen, welches in den Strahlengang gebracht wird und mit Hilfe

reflektierender Elemente und der Abbildungsoptik zugängliche Zwischenbilder der Objektebene und der Objektvupille erzeugt. Dabei sind die reflektierenden Elemente so angeordnet und aufeinander abgestimmt, daß das in der Objektvupille linear polarisierte Licht wieder als angenähert linear polares Licht im Zwischenbild der Objektvupille erscheint. Es werden somit die für eine polarisationsoptische Interferenzkontrastabbildung einzuhaltenden Polarisationsbedingungen erfüllt. So ist z.B. bei der polarisationsoptischen Interferenzkontrastabbildung die Zerlegung des auf das aus doppelbrechendem Material bestehende beleuchtungsseitige Wollastonprisma fallende linear polarisierte Licht in seine senkrecht zueinander schwingende, jede für sich linear polarisierte ordentliche und außerordentliche Komponente wesentlich. Beide verlassen das Wollastonprisma um einen geringen Betrag lateral versetzt. Im abbildungsseitigen Wollastonprisma, das beim Erfindungsgegenstand im Bild oder in der Nähe des Bildes der Objektvupille und damit innerhalb des Zwischenabbildungssystems liegt, werden die beiden Komponenten wieder zu einem Strahl vereinigt, exakt aber nur dann, wenn sie als linear polarisiertes Licht beim abbildungsseitigen Wollastonprisma ankommen. Aus der theoretischen Optik ist bekannt, daß bei der Totalreflexion an einer Glasoberfläche zwischen parallel und senkrecht zur Einfallsebene schwingenden Strahlenkomponenten eine vom Einfallswinkel  $\vartheta$  und der Brechzahl des Glases  $n$  abhängige Phasendifferenz  $\delta$  auftritt.

Es gilt:

$$\tan \frac{\delta}{2} = \frac{\cos \vartheta \sqrt{\sin^2 \vartheta - \frac{1}{n^2}}}{\sin^2 \vartheta}$$

ist für den Achsenstrahl bei  $90^\circ$  Ablenkung  $45^\circ$ . Damit wird die  $n = \sqrt{3}$   $\delta = 60^\circ$ , so daß nach dreimaliger Reflexion die Phasendifferenz  $180^\circ$  beträgt und die Resultierende aus beiden Strahlenkomponenten wieder in der gleichen Ebene wie vorher schwingt, also linear polarisiert ist. Dieser Effekt wird schon seit Jahrzehnten in einem Prisma mit dreifacher Reflexion, dem sogenannten Berek-Prisma (Zeitschrift „Instrumentenkunde Ig. 55/1936 H1 S.1), zur Beleuchtung bei Auflicht-Polarisationsmikroskopen ausgenutzt. Es wird durch zweckmäßigen Aufbau eines Zwischenabbildungssystems zur Erfüllung der Polarisationsbedingungen verwandt, indem die dreimalige Reflexion auf drei zwischen Objektvupille und Pupillenbild gelegene einzelne totalreflektierende Prismen verteilt wird, wenn  $n$  (u.U. auch  $\vartheta$ ) so verändert wird, daß  $\delta = 45^\circ$  ist. In manchen Fällen kann es zweckmäßig sein, die Schwingungsrichtung der Strahlkomponenten durch Einschalten einer polarisationsoptischen  $\lambda/2$ -Platte um  $90^\circ$  zu drehen, wenn z.B. wegen Drehung der Einfallsebene von einem zum folgenden Prisma der an einer reflektierenden Fläche ordentliche Strahl an der folgenden Fläche zum außerordentlichen und der außerordentliche zum ordentlichen und somit die aus diesen beiden Reflexionen resultierende Phasendifferenz null wird. Durch die  $\lambda/2$ -Platte wird erreicht, daß auch in diesem Teil der ordentliche Strahl ordentlicher und der außerordentliche Strahl außerordentlicher bleiben. Da die auf die Prismenflächen einfallenden abbildenden Strahlen etwas unterschiedliche Neigung haben und deshalb die reflektierenden Flächen mit unterschiedlichen Einfallswinkeln  $\vartheta$  erreichen, ist die Phasendifferenz nicht für

alle Strahlen gleich, und es ist für die außeraxialen Strahlen mit einer geringen Elliptizität des polarisierten Lichts zu rechnen, die aber im Extremfall nicht mehr als 1% beträgt und in der Praxis kaum stört. Da die Öffnungswinkel der abbildenden Lichtbündel an den verschiedenen Flächen im allgemeinen unterschiedlich sind, ist außerdem eine Optimierung durch Prismen unterschiedlicher Brechzahl möglich.

#### Ausführungsbeispiele:

Anhand der Abbildung soll an zwei Ausführungsbeispielen für Durchlichtbeobachtung die Erfindung erläutert werden. Das von der nicht gezeichneten Lichtquelle kommende Lichtbündel 1 wird durch den unter  $45^\circ$  zum beleuchtungsseitigen Wollastonprisma orientierten Polarisator 2 linear polarisiert und im beleuchtungsseitigen Wollastonprisma 3 in die ordentliche und außerordentliche Komponente zerlegt, die senkrecht zueinander schwingen. Nach Passieren des Kondensors 4 gehen beide Teilbündel um einen geringen Betrag lateral versetzt durch die Objektebene 5, passieren das Objektiv 6, die durch ein Strichkreuz angedeutete Objektivpupille 7 und werden an der voll verspiegelten Fläche 9 des aus zwei verkitteten rechtwinkligen Prismen bestehenden Glaswürfels 8 reflektiert. Da die Komponenten mit ihrer Schwingungsrichtung senkrecht bzw. parallel zur Einfallsebene auf die Fläche 9 treffen, bleibt die lineare Polarisation für beide erhalten. An den Prismen 10, 13 und 14, die aus Glas mit der angenäherten Brechzahl  $n \approx \sqrt{3}$  bestehen, werden beide Teilbündel totalreflektiert. Zwischen den parallel und senkrecht zur Einfallsebene schwingenden Komponenten jedes Teilbündels tritt dabei eine Phasendifferenz von  $\delta \approx 60^\circ$  auf, so daß am Prisma 10 aus dem linear polarisierten Licht elliptisch polarisiertes wird. Da der gleiche Vorgang an den Prismen 13 und 14 stattfindet, summiert sich die genannte Phasendifferenz und beträgt an dem durch Strichkreuz angedeuteten, vom Linsensystem 11 erzeugten Pupillenbild  $16 \approx 180^\circ$ , so daß dort wieder linear polarisiertes Licht entsteht. Es treten also zwei um einen geringen Betrag lateral versetzte senkrecht zueinander schwingende und im allgemeinen einen geringen Gangunterschied aufweisende Teilbündel in das abbildungsseitige Wollastonprisma 15 ein und treten räumlich vereinigt wieder aus. Der senkrecht oder parallel zum Polarisator 2 orientierte Analysator 17 läßt nur die in seiner Durchlaßrichtung schwingenden Komponenten der beiden senkrecht zueinander schwingende Teilbündel passieren, die miteinander interferieren. Das vom Objektiv 6 und Linsensystem 11 erzeugte Zwischenbild 12 des in der Objektebene 5 gelegenen Objektes, in dem für Meßzwecke Strichplatten oder andere Markierungen eingeführt werden können, wird vom Linsensystem 18 über das Prisma 19 und die voll verspiegelte Fläche 9 in die in Richtung 20 gelegene, nicht gezeichnete Feldblende des Okulars kontrastiert abgebildet. Die Brechzahl des Glases von Prisma 19 ist dabei unwesentlich. Prisma 19 kann auch durch

eine andere verspiegelte Fläche ersetzt werden. Ein weiteres Ausführungsbeispiel betrifft die Möglichkeit, mit 4 Totalreflexionen mit Glasprismen niedrigerer Brechzahl auszukommen. Die Anordnung entspricht der in der Abbildung dargestellten, es werden jedoch die voll verspiegelte Fläche 9 durch eine dünne Luftschicht  $\geq 0,01$  mm und die totalreflektierenden Prismen 8, 10, 13 und 14 durch Prismen aus Glas mit einer Brechzahl  $n \approx 1,554$  ersetzt. Dann entsteht an jeder Fläche bei  $\vartheta = 45^\circ$  Einfallswinkel eine Phasendifferenz von  $\delta \approx 45^\circ$ . Da jedoch die Einfallsebenen der reflektierenden Flächen der Prismen 9 und 10 gedreht sind, wird die nach 9 ordentliche bei 10 außerordentliche Komponente und umgekehrt, so daß sich die Phasendifferenzen gegenseitig aufheben. Diese Schwierigkeit läßt sich durch Einfügen einer polarisationsoptischen  $\lambda/2$ -Platte 21 beheben, da diese die Schwingungsrichtung um  $90^\circ$  dreht, so daß sich die bei Reflexion an den vier genannten Prismen entstehenden Phasendifferenzen addieren und im Pupillenbild wieder linear polarisiertes Licht entsteht. Durch Variation der Anordnung der reflektierenden Elemente und der abbildenden Systeme sind weitere Varianten möglich. Insbesondere kann durch unterschiedliche Brechzahlen der totalreflektierenden Prismen eine Optimierung hinsichtlich der von Prisma zu Prisma sich ändernden Öffnungswinkel der abbildenden Strahlenbündel erfolgen.

Erfindungsansprüche:

1. Zwischenabbildungssystem zur Durchführung von Kontrastverfahren bei Mikroskopen, das in den Strahlengang gebracht wird und mit Hilfe reflektierender Elemente und der Abbildungsoptik zugängliche Zwischenbilder der Objektebene und der Objektivpupille erzeugt, in denen für Meßzwecke verschiedene Strichfiguren angeordnet oder eingespiegelt werden können bzw. austauschbare Kontrastierungselemente, wie Phasenplättchen und Wollastonprismen, vorgesehen sind, gekennzeichnet dadurch, daß in dem Zwischenabbildungssystem zwischen Objektivpupille und dem Zwischenbild der Objektivpupille mindestens drei Umlenkprismen mit aufeinander abgestimmten Brechzahlen angeordnet sind.
2. Zwischenabbildungssystem nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß zwischen der Objektivpupille und dem Zwischenbild der Objektivpupille drei totalreflektierende Glasprismen mit der Brechzahl  $n \approx \sqrt{3}$  angeordnet sind.
3. Zwischenabbildungssystem nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß zwischen der Objektivpupille und dem Zwischenbild der Objektivpupille vier totalreflektierende Glasprismen mit der Brechzahl von  $n \approx 1,554$  angeordnet sind.
4. Zwischenabbildungssystem nach Punkt 2 oder 3, gekennzeichnet dadurch, daß zwischen der Objektivpupille und dem Zwischenbild der Objektivpupille eine polarisationsoptische  $\frac{\lambda}{2}$ -Platte angeordnet ist.
5. Zwischenabbildungssystem nach Punkt 1, gekennzeichnet dadurch, daß die Brechzahlen der totalreflektierenden Prismen unterschiedlich sind.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

