

gespreitet. Es ergab sich dabei eine sehr hohe Belastbarkeit der Virusfilme und eine Abhängigkeit der Größe der gespreiteten Fläche vom p_H der Wasserunterlage sowie ein Maximum der vom Virus eingenommenen Fläche in der Nähe des isoelektrischen Punktes. Bei p_H 1—7 sinkt kein Protein in die Unterlage ab. Die Proteinschichtdicke muß daher p_H -abhängig sein. Die gemessenen Dicken schwanken zwischen 6 und 125 Å.

* * *

Herrn Wilhelm Spohr danken wir bestens für die Hilfe bei den Messungen.

Schrifttum.

1. G. Bergold und G. Schramm, Biol. Z. **62**, 115 (1942).
2. G. Bergold und J. Hengstenberg, Kolloid-Z. **98**, 304 (1942).
3. Seastone, J. gen. Physiol. **21**, 621 (1938), zit. aus M. A. Lauffer und W. M. Stanley, Chem. Rev. **24**, 303 (1939).
4. I. Langmuir und V. J. Schaefer, Chem. Rev. **24**, 181 (1939).
5. R. Brill, Z. Elektrochem. **44**, 459 (1938).
6. G. Bergold, Biol. Z. **61**, 158 (1941).
7. I. Langmuir und D. F. Waugh, J. Amer. chem. Soc. **62**, 2771 (1940).
8. I. Langmuir und V. J. Schaefer, J. Amer. chem. Soc. **59**, 2400 (1937).
9. I. Langmuir, Proc. Royal Soc. London **170**, 1 (1939).
10. I. Langmuir, V. J. Schaefer und D. Wrinch, Science **85**, 76 (1937).
11. E. Gorter und F. Grendel, Trans. Faraday Soc. **22**, 477 (1926).
12. E. Gorter, H. v. Ormondt und Th. M. Meijer, Biochem. J. **29**, 38 (1935).
13. E. Gorter, Trans. Faraday Soc. **33**, 1125 (1937).
14. E. A. Heuser und Swearingen, J. phys. Chem. **45**, 644 (1941).
15. H. Sobotka und E. Bloch, J. phys. Chem. **45**, 9 (1941).
16. J. B. Bateman und L. A. Chambers, J. phys. Chem. **45** (1941).

Aus dem Laboratorium für Elektronenoptik*) der Siemens & Halske A. G., Berlin.

Die Ausmessung der Tiefe übermikroskopischer Objekte.**)

Von H. O. Müller.

(Eingegangen am 6. Februar 1942)

I. Das stereoskopische Bild und seine Vermessung.

Die Tiefenwahrnehmung, das räumliche Sehen, beruht auf der Verschiedenheit der in beiden Augen entworfenen Netzhautbilder (1), die darauf zurückzuführen ist, daß die Augen den betrachteten Gegenstand von verschiedenen Punkten aus sehen. Setzt man an die Stelle der Augen Objektive einer photographischen Kammer, so werden von diesen auf einer Platte zwei Bilder erzeugt, die praktisch dieselben Unterschiede zeigen wie die Netzhautbilder. In Fig. 1 seien die drei Punkte P_1 , P_2 und P_3 durch photographische Objektive A und B , deren Abstand b als Basis bezeichnet wird, auf den Platten (\mathfrak{B}') und (\mathfrak{B}'') abgebildet. Ordnet man diese photographischen Bilder in der Ebene $\mathfrak{B}'\mathfrak{B}''$ so an, daß die von den Punkten P_1 , P_2 , P_3 nach A und B gehenden Strahlen die Bilder in den Punkten $P_1'P_2'P_3'$ und $P_1''P_2''P_3''$ schneiden, und setzt man wiederum die Augen an die Stelle von

A und B , so kann man jetzt die Objekte entfernen und erhält in dem aus den beiden Bildern entstehenden virtuellen Bild annähernd den gleichen körperlichen Eindruck wie vorher im unmittelbaren Anblick der Natur. Zur bequemeren Betrachtung wird dabei meist ein Linsenstereoskop (1) (2) verwendet, das im wesentlichen die Schwierigkeiten beseitigt, die infolge der engen Beziehung zwischen Akkomodation und Konvergenz der Augen bei der stereoskopischen Vereinigung zweier Stereohalb Bilder in direkter Betrachtung auftreten.

Die zusammengehörigen Punkte in stereoskopischen Aufnahmen liegen also so zueinander, daß sie als Raumpunkte erscheinen. Entsprechend können nun auch nachträglich auf den Teilbildern Marken so angebracht werden, daß sie bei stereoskopischer Betrachtung beide zu einer räumlich gesehenen Meßmarke M zusammenschmelzen. Durch bewegliche Anordnung der Marken R und L (Fig. 2b) ist es möglich, der Meßmarke M beliebige Lagen im Raum zu geben und mit ihr das Objekt auch der Tiefe nach abzutasten und auszumessen. Das Meßprinzip soll an dem sogenannten Stereomikrometer in Fig. 2a kurz erörtert werden. Als Hilfsmittel dient ein Meßstab, an dem ein fester Zeiger Z_1 und ein mittels

*) Für das der Arbeit entgegengebrachte Interesse möchte ich den Herren Dr. B. v. Borries und Dr. E. Ruska herzlichst danken.

**) D 83. Arbeit zur Erlangung des Grades eines Doktor-Ingenieurs der Technischen Hochschule Berlin (gekürzt).

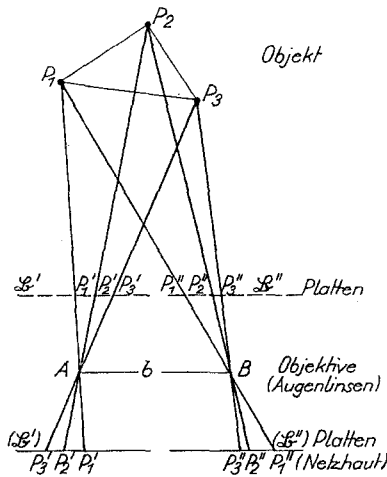


Fig. 1. Schema der stereoskopischen Abbildung von Raumpunkten.

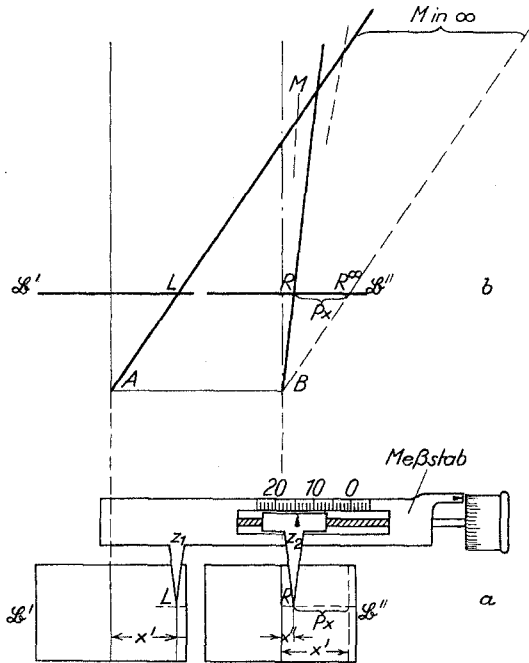


Fig. 2. Ausmessung der Tiefe in stereoskopischen Bildern. a) Stereo-Mikrometer zur Messung von Parallaxen. b) Strahlengang bei der Ausmessung der Parallaxen nach a) mit Hilfe der „wandernden Marke“ M.

Meßschraube seitlich verschiebbarer Zeiger Z_2 angebracht sind. Der Stab wird so auf ein im Stereoskop betrachtetes Bildpaar gelegt, daß die Spitzen L und R der Zeiger als Marken auf beliebige zusammengehörige Bildpunkte eingestellt werden können. Für den Beobachter verschmelzen die Bildmarken L und R zu einer räumlich ge-

sehenen Marke M , die bei der Verschiebung des Zeigers Z_2 und damit von R nach links (Fig. 2b) auf den Beobachter zu und bei einer Verschiebung von R nach rechts in entgegengesetzter Richtung wandert. Die seitliche Bewegung der rechten Bildmarke hat also eine Bewegung der Raummarke M nach der Tiefe zur Folge und die an der Meßschraube ablesbare Größe $p_x = x' - x''$ (vgl. Fig. 2a) der seitlichen Bewegung, die Seitenparallaxe, ist ein Maß für die Tiefenlage der Marke. Läßt man die wandernde Marke nacheinander auf zwei räumlich hintereinander liegenden Punkten des Stereobildes aufsitzen, so ergibt sich aus der Differenz der Ablesungen der Tiefenabstand der Punkte.

Der Stereokomparator nach Pulfrich, der ein binokulares Mikroskop zur Betrachtung besitzt, unterscheidet sich von der oben besprochenen Anordnung darin, daß für die seitliche x -Richtung nicht die Marken auf den Bildern, sondern die Bilder relativ zu den feststehenden Marken bewegt werden. Die Objektive entwerfen reelle Bilder von Ausschnitten der Stereogramme in der Ebene der Meßmarken L und R , die zwischen Objektiv und Okular angebracht sind.

Für den Fall, daß es nicht auf eine Bestimmung der absoluten Tiefenlage des Objektes ankommt, sondern nur die Tiefendifferenzen von Interesse sind, läßt sich die Berechnung aus der Messung der Seitenparallaxen etwas vereinfachen.

Es sei ausgegangen von dem Normalfall der Stereophotogrammetrie, bei dem zwei Aufnahmen senkrecht zu einer Basis b mit gleicher Bildweite aufgenommen werden (3). Die Raumkoordinaten x, y, z eines Geländepunktes P werden dabei aus den dazugehörigen Bildkoordinaten x', x'', z' , ferner der Standlinie b (Basis: Abstand der beiden Aufnahmeobjektive) und der Bildweite a' be-

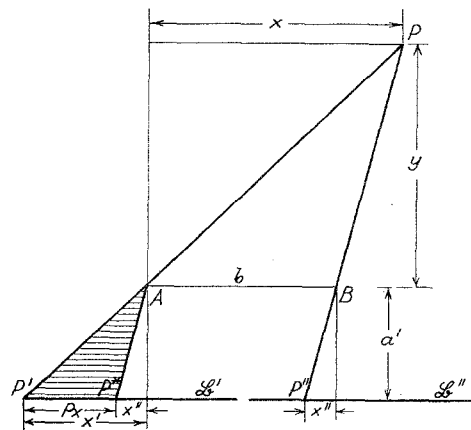


Fig. 3. Normalfall der Stereo-Photogrammetrie.

stimmt, und die Aufnahmeplatten werden in ein und derselben Ebene liegend angenommen. Für die Ermittlung der Entfernung y ist in Fig. 3 der Normalfall dargestellt. Wenn durch A zu dem rechten Aufnahmestrahle BP eine Parallele gezogen wird, so entstehen zwei ähnliche Dreiecke: 1. $\triangle ABP$ und 2. das schraffierte Hilfsdreieck AP^*P' mit der Grundlinie P^*P' , die gleich der Seitenparallaxe $p_x = x' - x''$ ist. Aus der Ähnlichkeit ergibt sich:

$$y = \frac{b \cdot a'}{p_x} \quad [1]$$

Zur Ermittlung der Tiefe eines Objektes (in Abhängigkeit von der Seitenparallaxe p_x), dessen Ausdehnung in Richtung der y -Achse gering ist gegenüber dem Abstand y von der Standlinie, muß der Ausdruck [1] nach p_x differenziert werden.

$$dy = - \frac{b \cdot a'}{p_x^2} dp_x \quad [2]$$

Mit Gleichung [1] ist dann der absolute Betrag von dy

$$dy = \frac{y^2}{b a'} dp_x \quad [3]$$

Außerdem kann unter diesen Verhältnissen mit einer für alle Objektpunkte gleichen Vergrößerung V (bzw. Verkleinerung) gerechnet werden, so daß die Gleichung [3] mit $a' = y \cdot V$ die Form

$$dy = \frac{y}{b \cdot V} dp_x \quad [4]$$

annimmt.

Anschließend sollen nun die Verhältnisse im Übermikroskop betrachtet werden. Im Gegensatz zu den üblichen lichtoptischen Stereoaufnahmen, bei denen das Objekt im allgemeinen feststeht, wird im Übermikroskop nicht mit zwei Objektiven oder mit ortsbeweglichen Abbildungssystemen, sondern mit einem feststehenden Linsensystem und einem beweglichen Objekt gearbeitet¹⁾. Das Objekt kann so angeordnet werden, daß es aus der Normalebene zur optischen Mikroskopachse heraus nach beiden Seiten um je den halben Konvergenzwinkel γ schwenkbar ist (4). Von jeder Lage des Objektes wird nacheinander eine Aufnahme gemacht (5), so daß auf diese Weise ein Stereobildpaar entsteht, das ebenso wie ein mit parallelen Achsen aufgenommenes mit Hilfe des stereophotogrammetrischen Verfahrens räumlich ausgemessen werden kann²⁾. Da es nur auf die relative Lage des Objektes zum Objektiv an-

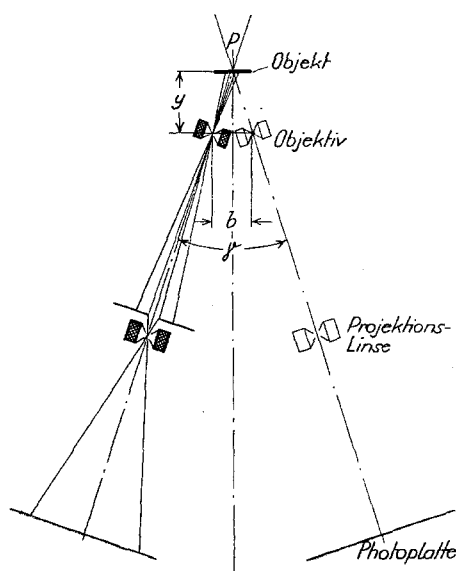


Fig. 4. Schema einer Stereo-Aufnahme im Übermikroskop. (Objekt feststehend, Übermikroskop geschwenkt gezeichnet.)

kommt, ist es gleich, ob das Objekt oder das Objektiv geschwenkt wird. In Fig. 4 ist daher die Darstellung der Klarheit halber so gewählt, daß das Übermikroskop um das Objekt geschwenkt ist und beide Stellungen, die für je eine Aufnahme gelten, den Winkel γ einschließen. Daß die Platten nicht beide in einer Ebene liegen, sondern um den Konvergenzwinkel gegeneinander geneigt sind (Fig. 4), muß dabei bedacht werden. Zunächst sollen parallele Platten vorausgesetzt werden, um den direkten Anschluß an den Normalfall zu erleichtern.

Zwischen der Entfernung y des Objektpunktes (Konvergenzpunkt der Achsen) von der Basis und der Basislänge b (Abstand der Objektive) besteht nach Fig. 4 die Beziehung

$$b = 2 y \operatorname{tg} \frac{\gamma}{2} \quad [5]$$

Damit lautet die Gleichung [4] für die Tiefendifferenz des Objektes nach Übergang von den Differentialen zu den Differenzen

$$\Delta y = \frac{\Delta p_x^*}{2 \operatorname{tg} \frac{\gamma}{2} \cdot V} \quad [6]$$

Darin ist für die gemessene Größe Δp_x der auf den Normalfall korrigierte Wert Δp_x^* geschrieben. Mit dem Wert

$$\Delta p_x^* = \frac{\Delta p_x}{\cos \gamma/2} \quad [7]$$

lautet dann die Gleichung [6] für die Tiefen-

¹⁾ Siehe Abschnitt II.

²⁾ Das stereophotogrammetrische Verfahren wurde zum erstenmal bei übermikroskopischen Bildern angewendet von W. Eitel und E. Gotthardt, Naturwiss. 28, 367 (1940).

differenz
$$\Delta y = \frac{\Delta p_x}{2 \sin \gamma/2 \cdot V} \quad [8]$$

Nach Gleichung [8] ist die Ausmessung von Objektiefen ohne Schwierigkeiten möglich, wenn die Parallaxendifferenzen nach Messungen mit dem Stereokomparator⁴⁾ vorliegen.

Die Tiefen der übermikroskopischen Stereoaufnahmen wurden unter Zugrundelegung der in Gleichung [8] gegebenen Beziehung ermittelt.

Bei der Betrachtung der Stereobilder unter dem Stereoskop ist der Tiefeneindruck um so stärker, je größer der Konvergenzwinkel und damit die Basis bei der Aufnahme gewählt war. Ein Vergleich der Fig. 21a ($\gamma = 10^\circ$) und der Fig. 8 ($\gamma = 1,5^\circ$) zeigt diesen Effekt eindeutig.

Aber genau so, wie es für das stereoskopische Sehen in der Lichtoptik viele Gebrauchsinstrumente — z. B. Feldstecher und Scherenfernrohr — gibt, bei denen sich die Betrachtungsbasis von der Aufnahmebasis unterscheidet und damit eine Veränderung der Tiefenwahrnehmung um ein Vielfaches, bei Luftbildaufnahmen sogar um mehrere tausendmal herbeigeführt wird, ohne daß das Auge es infolge seiner großen Anpassungsfähigkeit als störend empfindet, kann man auch bei der stereoskopischen Betrachtung von übermikroskopischen Bildern Abweichungen vom Konvergenzwinkel in ziemlich weiten Grenzen zulassen. Das ist darum wichtig, weil infolge des gegebenen Augenabstandes bzw. begrenzten Linsenabstandes des vorhandenen Stereoskopes der Abstand der Stereobilder unabhängig davon, unter welchen Vorbedingungen die Aufnahmen gemacht worden sind, beim Betrachten nur in geringen Grenzen verändert werden kann; in jedem Fall wird aber eine zutreffende Raumvorstellung vermittelt. Auch die Tiefenausmessung wird davon nicht betroffen, da im Stereokomparator die Parallaxen exakt ausgemessen werden und die weitere Berechnung der Tiefen unabhängig von dem visuellen Tiefeneindruck ist.

II. Die Herstellung stereoskopischer Bilder im Übermikroskop.

Als wichtigste Vorbedingung für die Herstellung stereoskopischer Bilder sowohl bei verklei-

³⁾ Die gleiche Beziehung ist auf Grund einer anderen Ableitung von E. Gotthardt angegeben und nachgeprüft worden.

⁴⁾ Für die Parallaxenausmessung wird der Einfachheit halber nur der Stereokomparator genannt. Für die Bildausmessung ist aber außerdem in den Fällen, in denen das Negativ dünn und beim Abzug infolge Verwendung eines härteren Papiers bessere Kontraste an den auszumessenden Kanten erzeugt werden konnten, ein Stereomikrometer zusammen mit einem Spiegelstereoskop verwendet worden.

nerter als auch bei vergrößerter Abbildung ist zu fordern, daß alle Punkte des Objektes in gleicher Schärfe wiedergegeben werden. In der Lichtoptik bestehen daher in der verkleinerten Abbildung, z. B. in der Landschafts- oder auch z. T. in der Nahphotographie, bei der oberhalb eines von dem jeweiligen Objektiv abhängigen Mindestabstandes alle Objektpunkte genügend scharf abgebildet werden können, keinerlei Schwierigkeiten. In der Mikrophotographie mit Lichtstrahlen dagegen macht sich die fehlende Tiefenschärfe so stark bemerkbar, daß eine stereoskopische Darstellung mikroskopisch kleiner Dinge nur wenig Bedeutung erlangt hat. Hier führt das Übermikroskop, das sich durch seine etwa 500 mal höhere Tiefenschärfe (16) gegenüber dem Lichtmikroskop auszeichnet, besser zum Ziel, zumal es in letzter Zeit gelungen ist, durch Erhöhung der Elektronenstrahlspannung die Durchdringungsfähigkeit dickerer Objektschichten zu steigern (8), so daß dadurch auch der Wunsch nach dem Erkennen des räumlichen Aufbaues verstärkt auftritt.

a) Neigung des Objektes gegen die Strahlachse des Mikroskopes.

Für die praktische Herstellung stereoskopischer Aufnahmen im Übermikroskop können verschiedene Wege beschritten werden. Wie bereits oben kurz erwähnt, kann man nach einem älteren Vorschlag von E. Ruska (4), wie M. v. Ardenne erstmalig zeigte (5), die beiden stereoskopischen Bilder dadurch gewinnen, daß man das Objekt nach der ersten Aufnahme um den Konvergenzwinkel gegenüber der Strahlachse kippt und dann die zweite Aufnahme mit demselben Objektiv folgen läßt. Von weiteren Vorschlägen (9), die dahin gehen, zur Abbildung wie meist in der Lichtoptik zwei feststehende, aber unter verschiedenen Winkeln gegenüber dem Objekt angeordnete Objektive zu verwenden, sind praktische Ergebnisse noch nicht bekannt geworden.

1. Stereokopf zur Aufnahme der Teilbilder mit Ausschleusen des Objekts. Zum Kippen des Objektes gegenüber der optischen Achse zwischen den beiden Teilaufnahmen wurde anfangs der speziell für die Kippbewegung eingerichtete Objektträgerkopf aus dem Vakuumraum des Übermikroskopes herausgenommen. Bei den vorliegenden Untersuchungen kam zunächst ein „Stereokopf“ zur Verwendung, der mit demselben Prinzip zur Durchführung der Objektkipfung arbeitet, wie die unter (5) mitgeteilte Ausführungsform, der aber insofern davon abweicht, als hier nach der ersten

Teilaufnahme nicht das Objektiv mit dem fest darin eingebauten Objektträgerkopf herauszunehmen ist, sondern das auch für normale Aufnahmen am Übermikroskop bewährte einfache Schleusprinzip zur Anwendung kommt, bei dem das Objektiv an seinem Platze verbleibt (7). In Fig. 5 ist der benutzte Stereokopf wiedergegeben.

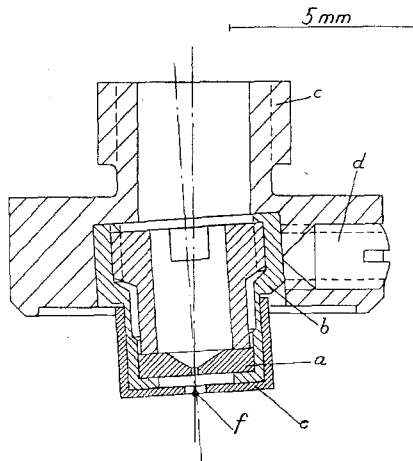


Fig. 5. Stereokopf für Übermikroskop.

- a) Objektträgerblende,
- b) Drehbare Blendenfassung,
- c) Halter mit geneigter Auflage für b,
- d) Befestigungsschraube,
- e) Kappe,
- f) Silberdraht.

Er ist einer älteren Ausführungsform von B. v. Borries ähnlich und wurde vom Verfasser bezüglich der Einstellgenauigkeit und der mechanischen Sicherheit (s. unten) zur vorliegenden Form weiterentwickelt sowie mit einer unter IIc beschriebenen Vorrichtung zur Fixierung der Kipprichtung im Endbild versehen.

Der Kopf kann in die normale Einschlusspatrone des Mikroskopes eingeschraubt werden und ist für verschiedene Konvergenzwinkel hergestellt worden. Die Objektträgerblende *a* ist in eine Blendenfassung *b* eingelegt und mit einer Ringschraube festgehalten. Die Blendenfassung sitzt um den halben Konvergenzwinkel gegen die Achse geneigt in einem besonderen Kopf *c* der Objektpatrone, in dem sie um ihre geneigte Achse so gedreht werden kann, daß die Blendenbohrung mit dem darüberliegenden Objekt immer auf der Patronenachse liegt. Die Schraube *d* dient zur Befestigung. Nachdem eine Aufnahme von dem Objekt hergestellt ist, wird die Patrone mit dem Stereokopf aus dem Übermikroskop ausgeschleust und die drehbare Blendenfassung *b* um 180° um seine geneigte Achse gedreht. Diese Drehbewegung führt, wie an Fig. 5 leicht zu erkennen ist,

zugleich die gewünschte Änderung der Objektlage gegenüber der optischen Achse herbei. Danach wird der Stereokopf zur zweiten Teilaufnahme von demselben Bildausschnitt wieder in das Übermikroskop eingeschleust.

Die untere Fläche, mit der der Kopf *c* auf dem Objektivpolschuh aufsitzt, wurde mit einer Eindrehung versehen, so daß nur noch außen ein schmaler Rand als Auflagefläche übrig bleibt. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit, daß infolge eines auf dem Objektivpolschuh einseitig liegenden Fremdkörpers eine Schiefstellung des Stereokopfes und damit eine Fälschung des Konvergenzwinkels eintritt, stark vermindert. Die Eindrehung ist auf ihrem Grunde verspiegelt und trägt zwei um 180° gegenüberliegende Strichmarken. Die drehbare Blendenfassung sowie die Kappe *e* tragen ebenfalls je eine auf einer Mantellinie der zylindrischen Fläche verlaufende Marke. Bei der Einstellung der Blendenfassung in die eine oder davon um 180° verschiedene Lage kann ihre Strichmarke im Spiegel gesehen und mit der darauf eingeritzten Marke mit großer Genauigkeit in Übereinstimmung gebracht werden.

In den meisten Fällen werden übermikroskopische Stereoaufnahmen lediglich mit dem Ziel angefertigt, einen allgemeinen Eindruck vom räumlichen Aufbau eines Objektes zu erhalten, ohne daß die für eine photogrammetrische Ausmessung notwendige Genauigkeit in der Bestimmung des Konvergenzwinkels verlangt wird. Als Vorbedingung für das Gelingen einer solchen Aufnahme ist außer einer genügenden und gleichmäßigen Bildschärfe in erster Linie zu fordern, daß das Objekt seine Lage gegenüber dem Stereokopf sowie seine Gestalt zwischen beiden Teilaufnahmen nicht verändert. Statt der für übermikroskopische Zwecke fast ausschließlich als Objektträger (10) verwendeten Kollodiumfilme verwendet man zweckmäßig Aluminiumoxydfilme. Diese besitzen eine größere Widerstandsfähigkeit gegen mechanische Beanspruchungen, z. B. die Luftbewegung beim Ein- und Ausschleusen, sowie gegen den Einfluß höherer Temperaturen, welche infolge erhöhter Absorption von Strahlelektronen bei dicken Objekten sowie durch übermäßige Steigerung der Stromstärke des bestrahlenden Bündels im Objekt auftreten können.

Eine Reihe durch das Ausschleusen bedingter Erschwerungen bei der Herstellung hochwertiger stereoskopischer Aufnahmen veranlaßten den Verfasser, einen Stereokopf zu entwickeln, bei dem die beiden Teilbilder nunmehr ohne Ausschleusen des Objektes und auch ohne Ausschalten des Elektronenstrahls aufgenommen werden können.

2. Stereokopf zur Aufnahme der Teilbilder ohne Ausschleusen des Objektes. Eine Schwenkvorrichtung, bei der das unter Vakuum befindliche Objekt von außen um den Konvergenzwinkel gekippt werden kann, ist 1. für das magnetische von M. v. Ardenne (9) und 2. für das elektrostatische Elektronenmikroskop von H. Mahl (12) angegeben worden.

Für die vorliegenden Zwecke war ein Neuentwurf erforderlich, der sich von diesen älteren Lösungen in folgender Weise unterscheidet. Im Gegensatz zu der beim magnetischen Mikroskop bisher benutzten Anordnung bleibt das Objektiv beim Schleusvorgang an seinem Platz, und die Objektpatrone wird mittels eines konischen Schliffes ausgewechselt. Die ohnehin vorhandene Vorrichtung zur Verschiebung der Patrone in achsialer Richtung wird dabei zur Kippung des Objektes benutzt (12), so daß besondere Betätigungsvorrichtungen entfallen konnten. Im Gegensatz zu der beim elektrostatischen Mikroskop benutzten Anordnung (12) wurde von dem zur Erhöhung der Erschütterungsfestigkeit bereits bewährten Verfahren einer federnden Anpressung des Stereokopfes an das Objektiv Gebrauch gemacht und die Anordnung so getroffen, daß das Objekt dem Objektiv zur Ausnutzung der möglichen kleinen Brennweiten (hohe Vergrößerung!) weit genähert werden konnte.

Der nach einigen Vorversuchen zur praktischen Anwendung gelangte Stereokopf ist in Fig. 6a im Schnitt gezeichnet. Er wird in die federnde Buchse 10 der Objektpatrone 11 wie ein normaler Objektträgerkopf eingeschraubt und in den Vakuumraum des Übermikroskopes eingeschleust. Die Objektträgerblende 1 ist in die Kippfassung 2 eingeschraubt, die mittels zweier an beiden Seiten angebrachter Achsen 5 innerhalb des Stereokopfes 3 gegen die Strahlachse kippbar gelagert ist. Der Kippwinkel ist gleich dem halben Achsenkonvergenzwinkel nach beiden Seiten der Mittellinie, die hier zugleich die Apparat- und Elektronenstrahlachse darstellt. Als Anschläge für die beiden Endstellungen dienen dabei die Schrauben 4, die vorn konisch zulaufen, so daß der Kippwinkel in kleinen Grenzen verändert werden kann. Zur Messung des Konvergenzwinkels wird eine spiegelnde Objektträgerblende in die Fassung geschraubt und die Reflexion eines Lichtstrahles zur Anzeige ausgenutzt. Damit das Objekt während des Kippvorganges an derselben Stelle bleibt und nicht nach dem Kippen mit Hilfe der Objektverschiebung völlig neu eingestellt zu werden braucht, ist die Objektträgerblende 1 so angeordnet, daß die Blendenbohrung

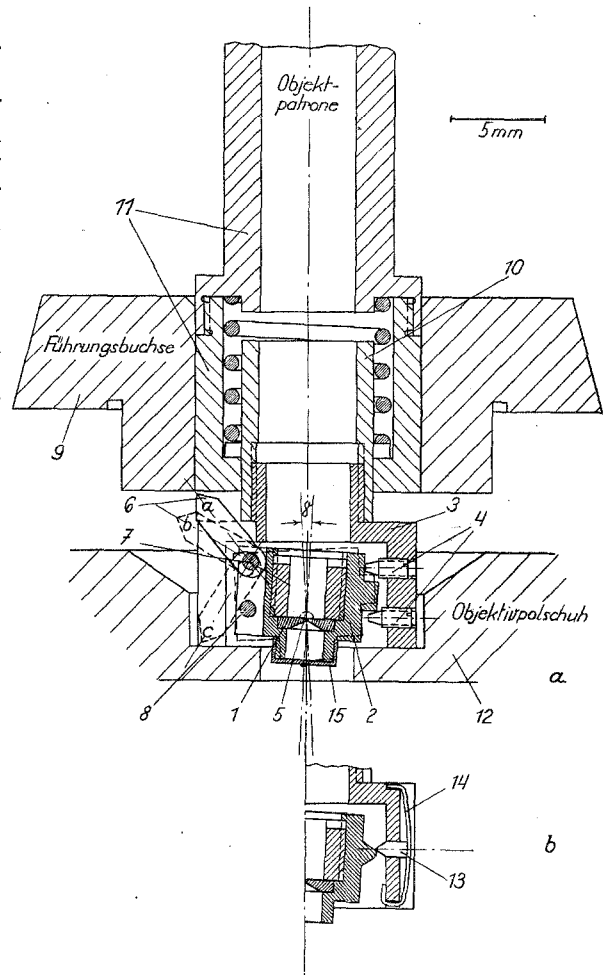


Fig. 6. Stereokopf zum Betrieb ohne Ausschleusen des Objektes zwischen den Teilaufnahmen.

1 Objektträgerblende, 2 Kippfassung, 3 Stereokopf, 4 Anschlagschraube, 5 Kippachsen, 6 Kipphebel, 7 Achse für Kipphebel, 8 Anschlagstift, 9 Führungsbuchse, 10 federnde Buchse, 11 Objektpatrone, 12 Objektivpolschuh, 13 Stift, 14 Feder, 15 Kappe.

mit dem darüber befestigten Objekt auf der Kippachse liegt. Für die Anfertigung von Stereoaufnahmen geht man in folgender Weise vor: Die Kippfassung 2 wird nach Fig. 6a rechts herum so gekippt, daß sie an die untere Anschlagschraube 4 stößt. Der Hebel 6 wird nach oben gelegt, wobei sein Ende in dem Spalt zwischen dem Stereokopf 3 und der Objektpatrone 11 verschwindet (Stellung a). Dann wird die Patrone mit eingeschraubtem Stereokopf in das Übermikroskop eingeschleust (7a) und mit Hilfe eines Objekttriebes durch eine zur Objektverschiebung dienende Führungsbuchse 9 hindurch nach unten bewegt und dabei der Stereokopf auf die Gleitfläche des Objektivpolschuhs gedrückt. Dabei gibt die federnde Buchse 10 nach, bewegt sich in die Patrone hinein, und der Spalt zwischen 3 und 11

wird so klein, daß sich der Hebel 6 aus der Stellung *a* in die Stellung *b* bewegt. Das erste Stereobild kann aufgenommen werden. Danach wird die Objektpatrone 11 durch Betätigung des Objekttriebes ein Stück nach oben gezogen, wobei der Hebel 6 an der unteren Fläche der Führungsbuchse anschlägt und im Verlaufe der weiteren Aufwärtsbewegung in Stellung *c* umgelegt wird, gegen den Anschlagstift 8 drückt und dabei die Kippfassung 2 in die andere Kipplage schwenkt, die durch den oberen Anschlag 4 begrenzt ist. Zur Sicherung der Endlagen der Kippfassung in beiden Kippstellungen dient als Raste der mit der Feder 14 angedrückte Stift 13, dessen Wirkungsweise aus Fig. 6b hervorgeht, wo ein gegen 6a um 30° versetzter Schnitt gezeichnet ist. Nunmehr kann die zweite Stereoaufnahme hergestellt werden, nachdem der Stereokopf wiederum federnd gegen den Objektivpolschuh gedrückt ist. Zum Aufsetzen der unten näher beschriebenen, mit einem Richtungsdraht versehenen Kappe 15

(Fig. 5e) für die Feststellung der Basisrichtung trägt die Kippfassung 2 nach unten einen kleinen Ansatz.

Mit dem Stereokopf konnten stereoskopische Aufnahmen in wesentlich kürzerer Zeit hergestellt werden als mit dem in Fig. 5 wiedergegebenen, da mit der Zwischenschleusung zugleich die oben erwähnten Erschwerungen und Kontrollmessungen fortfielen und Objektveränderungen zwischen beiden Aufnahmen merklich seltener auftraten.

b) Neigung des Bestrahlungsteils gegen den Abbildungsteil des Mikroskopes (Stereokondensator).

Zur Herstellung hochvergrößerter stereoskopischer Bilder im Übermikroskop wurde ferner vom Verfasser ein neuer Weg angegeben, der ohne Verwendung besonderer Stereopatrons mit einfacheren Mitteln zu brauchbaren Ergebnissen führt. Im Gegensatz zu anderen Vorschlägen (9) wird hier ohne Verwendung eines Doppelobjektivs durch die Ausnutzung der Tatsache, daß die lichte Öffnung des Objektivs erheblich größer ist als der beaufschlagte Objektivbereich, im normalen Durchstrahlungs-Übermikroskop eine Stereowirkung erzielt. Die Änderung der Abbildungsrichtung zwischen den beiden Aufnahmen um den Konvergenzwinkel wird durch ein Kippen des Bestrahlungsapparates um das Objekt herbeigeführt, wie es in Fig. 7a für die Vergrößerung in zwei Stufen dargestellt ist. Dabei konnte die betriebsmäßig zum Zentrieren des Elektronenstrahles bei dem Siemens-Übermikroskop vorhandene Bewegungsmöglichkeit mit Erfolg verwendet werden. Wie die Stereowirkung zustande kommt, zeigt Fig. 7b, in der der Strahlengang in Objekt und Objektiv bis zur 1. Bildebene vergrößert herausgezeichnet ist. Die in verschiedenen Entfernungen vom Objektiv liegenden Objektpunkte P_1 und P_2 werden infolge der für das Übermikroskop charakteristischen, hier angedeuteten kleinen Bestrahlungsaperturen (16) in praktisch gleicher Schärfe abgebildet, als ob sie beide in einer Ebene lägen. Man kann sich also für die Abbildung den Punkt P_1 von dem bestrahlenden Bündel in die Ebene von P_2 herunterprojiziert denken. Je nachdem, in welcher Richtung das Strahlenbündel auf das Objekt trifft, wird die Projektion des Punktes P_1 an einer anderen Stelle der Ebene von P_2 liegen und in einem entsprechend anderen Abstand von dem Punkt P_2 im Endbild abgebildet werden. In Fig. 7b sind zwei Bestrahlungsrichtungen gezeichnet, die den Konvergenzwinkel γ einschließen. Die dazugehörigen Projektionen des Punktes P_1 in der Ebene von P_2

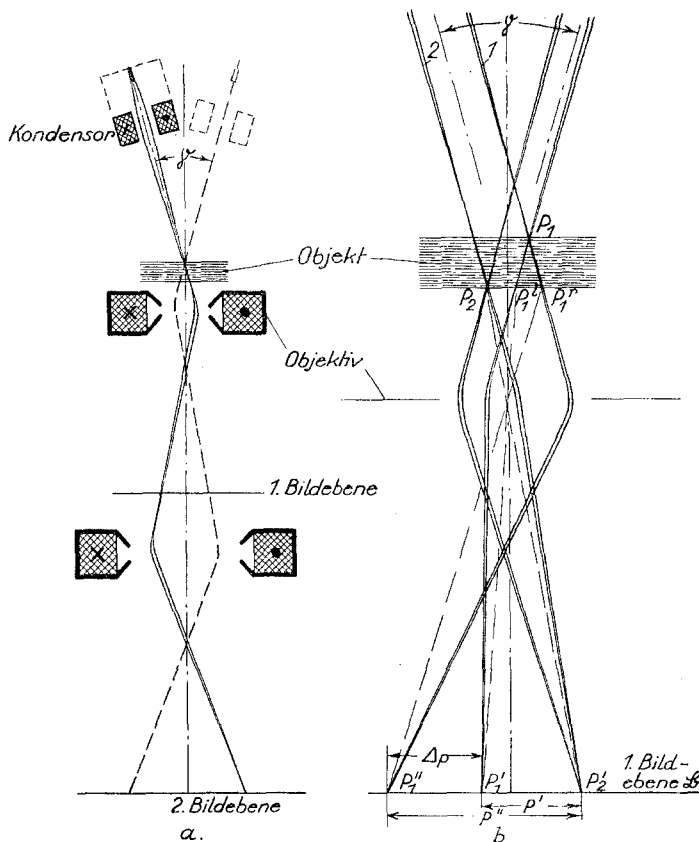


Fig. 7. Wirkungsweise des Stereo-Kondensators:

- Ausschwenken um den Konvergenzwinkel und Strahlengang im Übermikroskop.
- Stereoskopische Abbildung räumlich angeordneter Punkte.

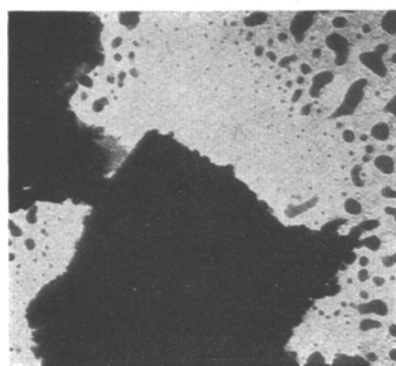
tragen die Bezeichnung P_1^l und P_1^r . Werden in einer solchen Anordnung nun zwei Aufnahmen mit verschiedenen Bestrahlungsrichtungen hergestellt (in der Bildebene \mathfrak{B}), so ist auf dem einen Bild der Abstand p' des Punktes P_1^l von P_2^l ein anderer als der Abstand p'' des Punktes P_1^r von P_2^r auf dem anderen Bilde. Die Bilder vermitteln unter dem Stereoskop einen räumlichen Eindruck von dem Objekt und können als Grundlage für eine Tiefenausmessung im Stereokomparator dienen, da die im Objekt auftretende Parallaxendifferenz $\overline{P_1^l P_1^r}$ bei der Vermessung der vergrößerten Bilder als

$$\Delta p = V \cdot \overline{P_1^l P_1^r}$$

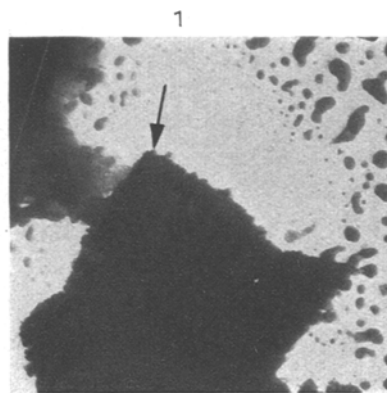
auftritt.

Die Bestimmung des Winkels zwischen beiden Bestrahlungsrichtungen erfolgt dadurch, daß man den Strahl bei ausgeschalteter Objektivspule auf den Zwischenbild-Leuchtschirm fallen läßt. Aus dem gegenseitigen Abstand der zu beiden Strahlrichtungen gehörigen, dort sichtbaren Leuchtflecke und der Entfernung des Zwischenbildschirms von der Objektblende ergibt sich dann der Konvergenzwinkel.

Als Beispiel für ein auf diese Weise hergestelltes Stereobildpaar diene die Fig. 8, in der dasselbe Objekt wie in Fig. 21 a — allerdings nach längerer Bestrahlung und stark abgedampfter Silber-schicht sowie in etwas anderer Lage im Bild⁵⁾ — wiedergegeben ist. Der Konvergenzwinkel betrug



6677/41



6676/41

Fig. 8. Schmirgelkörner mit Silber bestäubt (vgl. Fig. 20). Aufnahme mit Stereo-Kondensor. Vergr. el.-opt. 32000:1, $\gamma = 1,5^\circ$.

hier nur $1,5^\circ$, so daß der Tiefeneindruck nicht so ausgeprägt ist wie in den unter 10° aufgenommenen Bildern. Die Höhe des in Fig. 8 mit einem Pfeil bezeichneten Punktes 1 über dem Trägerfilm wurde nachgemessen und ergab nach 3 verschiedenen Verfahren folgende Werte:

1. Stereokondensor (Fig. 8) $0,65 \mu$
2. Stereopatrone (Fig. 21 a) $0,61 \mu$
3. Schrägbestäubung (Fig. 21 a) $0,65 \mu$

Hierbei wurde zur stereoskopischen Ausmessung von 1 und 2 der Stereokomparator verwendet.

Zur Abschätzung der Genauigkeit des Stereokondensorverfahrens wurden mehrere Objekte einerseits auf diese Weise mit einem Konvergenzwinkel von 1 bzw. $1,5^\circ$ und andererseits mittels Stereopatrone mit $\gamma = 10^\circ$ stereoskopisch aufgenommen und die Höhenlage einiger Punkte über dem Trägerfilm auf den Vergleichsaufnahmen

im Stereokomparator ausgemessen. Die Höhenwerte von 6 verschiedenen Punkten zeigten zwischen beiden Verfahren Abweichungen von 1 bis 15 Proz., im Mittel 7 Proz. Die um etwa 25 Proz. voneinander abweichenden Meßwerte an 2 Punkten mußten ausgeschieden werden, da es sich um dünne Randstellen handelte und die Aufnahmen eine Beschädigung des Objektes im Elektronenstrahl vermuten ließen. Aus den gegebenen Beispielen läßt sich somit schließen, daß mit dem Stereokondensorverfahren brauchbare Ergebnisse erzielt werden können.

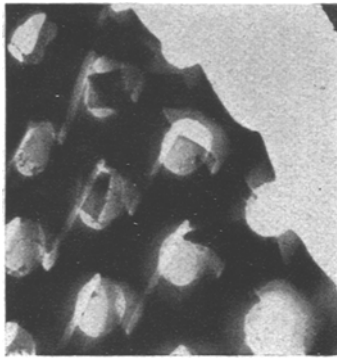
In der Wahl des Konvergenzwinkels sind allerdings im Gegensatz zu den mit kippbarem Objekt arbeitenden Verfahren aus konstruktiven Gründen Grenzen gesetzt, die in der Hauptsache von der mechanischen Auslenkbarkeit des Bestrahlungsapparates gezogen sind, in zweiter Linie durch den Öffnungsfehler, über dessen Einwirkung unten berichtet wird. Die allgemein üblichen Winkelwerte bis 6° sind aber bei entsprechender konstruktiver Durchbildung der

⁵⁾ Die Objektträgerblende lag bei der Aufnahme Fig. 21 a gegenüber der Fig. 8 ein wenig verdreht in der Blendenfassung.

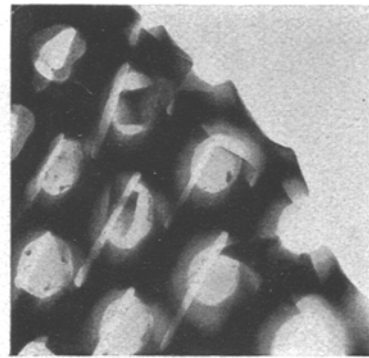
Apparatur zu verwirklichen. So ist die Diatomee in Fig. 9 schon unter einem etwas größeren Winkel aufgenommen worden, der in diesem Fall aus bekannten Abmessungen des Diatomeengehäuses (Fig. 14) rückwärts nach Ausmessung am Stereokomparator ermittelt wurde, da die Messung des Konvergenzwinkels bei der Aufnahme am Gerät nicht ausgeführt wurde. Der Konvergenzwinkel beträgt hiernach $3,5^\circ$.

Dieses Stereokondensorverfahren hat den besonderen Vorzug, daß während des normalen Arbeitens am Übermikroskop bei der Betrachtung einer Objektserie zur Beurteilung der räumlichen Anordnung einer Objektstelle Stereoaufnahmen gemacht werden können, ohne daß das Objekt

zum Umsetzen in einen speziellen Stereokopf aus der Apparatur ausgeschleust werden muß und dabei der Gefahr einer Beschädigung oder Veränderung ausgesetzt ist. Die Stereobilder lassen sich entweder nacheinander auf zwei verschiedenen oder aber, wie es für weitere Arbeiten vorgesehen ist, auf einer einzigen Photoplatte aufnehmen, deren beide Hälften mit je einem besonderen Klappschirm ohne Unterbrechung des Betriebes nacheinander exponiert werden. Im letzteren Fall muß das Objekt mechanisch jeweils so verschoben werden, daß der aufzunehmende Bildausschnitt erst auf der einen und nach Änderung der Bestrahlungsrichtung auf dem anderen Klappschirm zu beobachten ist.



6301/41



6300/41

Fig. 9. Diatomee *Pleurosigma angulatum*. Aufnahme mit Stereo-Kondensor. Vergr. el.-opt. 25000:1.

Bei einer stärkeren Neigung des Bestrahlungs- teiles gegen die Apparatachse zur Erzielung großer Konvergenzwinkel tritt das Elektronenstrahlbündel entsprechend schief in das Objektivlinsenfeld ein. Je weiter es sich innerhalb des Feldes von der Achse entfernt, um so stärker macht sich der Öffnungsfehler bemerkbar. Es ist also zu untersuchen, in welcher Art sich dies auf die stereoskopische Abbildung mittels Stereokondensor auswirkt. Zur Vereinfachung der Rechnung wurde im folgenden die Abbildung zweier hintereinanderliegender Achsenpunkte betrachtet (Fig. 10a).

Von einer fehlerfreien Linse würden die auf der Achse liegenden Punkte P_1 und P_2 ebenfalls auf der Achse in P_1^* und P_2^* abgebildet werden. Der Öffnungsfehler hat aber zur Folge, daß von einem schräg in die Linse einfallenden Elektronenstrahlbündel die äußeren Strahlen stärker zur Achse gebogen werden als die näher zur Achse verlaufenden, so daß das Bild P_1' des Objektpunktes P_1 in Fig. 10a rechts der Achse und in einer anderen

Ebene liegt, als P_1^* (13). Dasselbe gilt für P_2 und P_2' . Die Einstellebene liegt zwischen den beiden Bildpunkten P_1' und P_2' , die auf der photographischen Platte infolge der hohen Tiefenschärfe als scharf abgebildete Punkte mit dem Abstand $V \cdot d$ erscheinen. Bei einer Veränderung der Bestrahlungsrichtung um $\gamma/2$ nach der anderen Seite der Achse wandert das Bild des Punktes P_1 von P_1^* nach links oben an die Stelle P_1'' in dieselbe Ebene wie P_1' , da derselbe Öffnungsfehler wirksam ist. Zwei räumlich hintereinander liegende Punkte werden bei kleinem Abstand durch Strahlenbündel abgebildet, die sehr eng nebeneinander liegen, die also annähernd dieselben Linsengebiete durchlaufen und infolgedessen praktisch denselben Öffnungsfehler unterliegen. Die Abweichung von dem Verlauf in fehlerfreier Linse wird also für beide Bündel annähernd gleich groß sein, so daß auch nur eine entsprechend geringe Verfälschung der Parallaxen eintritt. Wie groß dieser Fehler ist, soll im folgenden abgeschätzt werden.

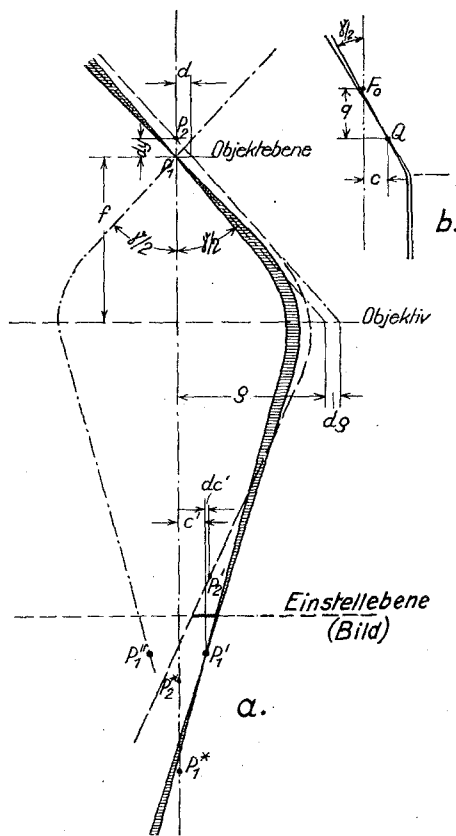


Fig. 10. Einfluß des Öffnungsfehlers auf die Abbildung schrägbestrahlter Achsenpunkte.

Wenn die zu P_1 und P_2 gehörenden Bündel denselben Öffnungsfehler unterlägen, müßte der Abstand beider Bildpunkte P_1' und P_2' von der optischen Achse gleich sein ($= c'$ in Fig. 10a). Da aber das durch P_2 gehende Bündel weiter von der Achse entfernt das Linsenfeld durchläuft, ist dafür in Wirklichkeit der Öffnungsfehler etwas größer, so daß der Bildpunkt in einem Abstand $c' + dc'$ von der Achse entfernt liegt.

Da die Bildweite im Übermikroskop groß gegen den Objektstand ist, verlaufen die Strahlen auf der Bildseite der Linse angenähert parallel, so daß die Berechnung der Größen c' und dc' unbequem ist. Man denkt sich daher das Strahlenbündel, wie in Fig. 10b gezeichnet, in umgekehrter Richtung von einem untengelegenen weit entfernten Punkt kommend, der auf Grund des Öffnungsfehlers nicht in F_0 , sondern in Q abgebildet wird. Zwischen der in Fig. 10b mit c bezeichneten Strecke und c' in Fig. 10a besteht die Beziehung $c' = c \cdot V$.

Nach Gleichung (A 4) und Fig. 15b in der Arbeit (13)⁶⁾ von J. Dosse findet man für die

Größe q in Fig. 10b die Beziehung

$$q = 3 C_\delta \left(\frac{\gamma}{2}\right)^2.$$

Darin ist C_δ die Öffnungsfehlerkonstante, die praktisch Werte von 1 bis 2 mm annimmt und im folgenden mit 1,5 mm eingesetzt wird.

Die seitliche Auslenkung c kann unter den gegebenen Verhältnissen nach Fig. 10b mit guter Annäherung

$$c = q \cdot \frac{\gamma}{2}$$

gesetzt werden. Damit ist

$$c = 3 C_\delta \left(\frac{\gamma}{2}\right)^3. \quad [9]$$

Ferner kann nach Fig. 10a für kleine Konvergenzwinkel

$$\gamma/2 = \frac{q}{f} \quad [10]$$

gesetzt werden. Gesucht ist die Größe dc' bzw. der auf die Objektebene bezogene Betrag $dc = \frac{dc'}{V}$.

Mit Gleichung [9] und [10] ist

$$\frac{dc}{dQ} = 9 C_\delta \frac{q^2}{f^3} \quad [11]$$

$$\frac{dc}{c} = 3 \frac{dQ}{q}. \quad [12]$$

Diese Werte sind bezogen auf die Verhältnisse in der Objektebene. Nach Fig. 10a ist $dQ = d$. An den übermikroskopischen Bildern wurde im allgemeinen, wie bereits erwähnt, die Tiefendifferenz an ungefähr hintereinander liegenden Punkten gemessen, deren Abstand in der Projektion etwa $d = dQ = 5 \cdot 10^{-5}$ mm betrug. Für das mittels Stereokondensator gewonnene Stereobilderpaar Fig. 8 ist $\gamma/2 = 3/4^\circ$, die Brennweite $f = 2,5$ mm und somit nach Gleichung [10] die Größe $q = 3,25 \cdot 10^{-2}$ mm. Mit diesen Zahlenwerten ergibt sich für $\frac{dc}{c} = 4,6 \cdot 10^{-3}$; damit ist also dc etwa

$1/2$ Proz. der Auslenkung c . In Fig. 11 ist $\frac{dc}{c}$ in Abhängigkeit von $\gamma/2$ nach der Gleichung [12] und [10] und c nach der Gleichung [9] für die Werte $dQ = 5 \cdot 10^{-5}$ mm und $f = 2,5$ mm aufgetragen. Aus den Kurven geht hervor, daß bei großen Konvergenzwinkeln, bei denen der Punktstand c von der Achse groß ist, $\frac{dc}{c}$ Werte bis herunter zu 10^{-3} mm annimmt. Bei kleinem $\gamma/2$, z. B. bei $0,5^\circ$, ist $\frac{dc}{c}$ größer, liegt aber erst bei $7 \cdot 10^{-3}$.

⁶⁾ Die hier verwendeten Bezeichnungen weichen zum Teil von den in der Arbeit [13] gegebenen ab.

Nach Einsetzen des aus Fig. 11 zu entnehmenden Wertes $c = 4 \cdot 10^{-6}$ mm ergibt sich als Parallaxenfehler $dc = 2,8 \cdot 10^{-8}$ mm, ein Wert, der noch längst nicht ins Gewicht fällt.

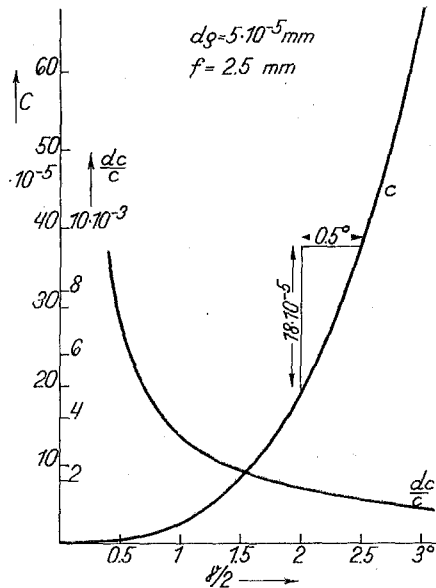


Fig. 11. Die seitliche Verschiebung von Achsenpunkten bei Abbildung durch eine mit Öffnungsfehler behaftete Linse.

Die Kurve $\frac{dc}{c}$ in Fig. 11 ist für feste Werte von f und d_0 aufgezeichnet worden, die sich praktisch bei der Aufnahme und der Ausmessung ergeben hatten. Legt man nicht einen festen Wert von d_0 zugrunde, sondern betrachtet die Verhältnisse für verschiedene Objektiefen d_y und auf der Achse genau hintereinander liegende Punkte, so zeigt sich folgendes: Der Parallaxenfehler dc hat für Werte des Bestrahlungswinkels $\gamma/2$ zwischen $0,5$ und 3° und für Objektiefen zwischen $0,3$ und 1μ die Größe $0,2 \cdot 10^{-9} \dots 78 \cdot 10^{-9}$ mm. Daraus geht hervor, daß bei einer Änderung der Bestrahlungsrichtung mit Hilfe des Stereokondensors eine durch den Öffnungsfehler bedingte, praktisch für alle Bildpunkte gleichmäßige Seitwärtsbewegung des Bildes eintritt, die auch im Übermikroskop beobachtet werden konnte und weitere Rückschlüsse zuließ.

Bei einer Änderung der Bestrahlungsrichtung um $1/2^\circ$ wurde nämlich eine Bildbewegung von $c' = 2,1$ mm oder bezogen auf die Objektebene ($V=11000$) von $c = 19 \cdot 10^{-5}$ mm gemessen. Nach Kurve c in Fig. 11 ergibt sich dagegen für $1/2^\circ a = 0,5 \cdot 10^{-5}$. Dieser große Unterschied ist, wie auch aus anderen Beobachtungen hervorgeht, darauf zurückzuführen, daß die elektronenoptische Achse der

Objektivlinse nicht mit der Achse des Übermikroskopes übereinstimmt. Nimmt man nämlich an, daß die optische Achse des Objektivs um 2° von der Mikroskopachse abweicht, so ergibt eine Änderung des Winkels $\gamma/2$ zwischen 2 und $2,5^\circ$ nach Kurve a in Fig. 11 tatsächlich eine Bildverschiebung $c = 18 \cdot 10^{-5}$. Auf diese Weise ist es möglich, durch Messung der Bildverschiebung bei einer bestimmten Richtungsänderung des bestrahlenden Bündels mit Hilfe der Kurve c Rückschlüsse auf die Neigung zwischen Objektivachse und Mikroskopachse zu ziehen.

Abschließend kann zu den obigen Überlegungen gesagt werden, daß ein Einfluß des Öffnungsfehlers bei der Ausmessung von stereoskopischen Bildern mittels Stereokondensator nicht berücksichtigt zu werden braucht. Dies geht ja auch daraus hervor, daß sich die Tiefe derselben Objektstelle, mit 3 verschiedenen Methoden 1. mittels Stereokondensator (Fig. 9), 2. mittels Stereopatrone (Fig. 21a) und 3. mittels Schrägbestäubungsverfahren (ebenfalls in Fig. 21a) ermittelt, mit großer Annäherung zu demselben Wert ergab.

c) Die gegenseitige Zuordnung der bei magnetischer Abbildung gegenüber dem Objekt gedrehten Teilbilder.

Betrachtet man ein Stereobild (z. B. mit einem Stereoskop), so erhält man in fast jeder Lage des einen bei entsprechender Zuordnung des anderen Teilbildes einen mehr oder weniger ausgeprägten räumlichen Eindruck. Es gibt aber nur eine Bildlage, in der die Ausmessung unter dem Stereokomparator richtige Ergebnisse liefert und in der der räumliche Eindruck ein Optimum erreicht. Dazu müssen die Bilder so angeordnet sein, daß die Betrachtungsbasis (Verbindungsline zwischen den Augen bzw. Linsen des Stereoskops) zum Objektbild dieselbe Richtung hat wie die Aufnahmebasis zum Objekt. Diese Zuordnung ergibt sich in der mit Doppelobjektiv ausgerüsteten Stereokammer von selbst und ist auch beim elektrostatischen Elektronenmikroskop nicht schwierig, da diese Linsenart unabhängig von der gewählten Brennweite und der Strahlspannung ein gegen das Objekt um 180° verdrehtes Bild liefert, wie auch die Glaslinsen, und daher die Richtung der Aufnahmebasis im Endbild für den verwendeten Stereokopf durch einmalige Bestimmung festgelegt werden kann. Bei der Verwendung magnetischer Linsen, wie man sie zur Erzielung höchster Auflösungen bei schnellsten Elektronenstrahlen braucht, liegen die Abbildungsverhältnisse jedoch nicht so einfach, da das vergrößerte Bild gegenüber dem Objekt um einen

von der Beschleunigungsspannung, der Durchflutung und der Objektlage im Magnetfeld abhängigen Winkel verdreht ist. Für die richtige Zuordnung der beiden Bilder wäre es demnach nötig, bei eindeutig gegen die Photoplatte festgelegter Richtung der Kippachse des Objektes die Verdrehung des Elektronenbildes gegenüber dem Objekt, z. B. durch Umpolen der Magnetspulen, festzustellen. Praktisch wurde aber auf diese Ausmessung bisher verzichtet und anfangs der immer noch einfachere Weg gewählt, die Bilder unter dem Stereoskop so lange zu drehen und evtl. zu wechseln, bis der räumliche Eindruck ein Optimum oder Minimum erreichte. Dies ist die Lage der Bilder, in der die Objektkipprichtung (= Basisrichtung, die senkrecht zur Kippachse verläuft) in den Bildern parallel zur Verbindungslinie zwischen beiden Augen des Betrachters oder zwischen den Linsenmittelpunkten des Stereoskops bzw. senkrecht dazu verläuft. Als schwierig stellte sich dieser Weg jedoch besonders dann heraus, wenn ungewollte und unbemerkte Bewegungen des Objektes während der Bestrahlung stattgefunden hatten, so daß unter Umständen eine eindeutige Zuordnung unmöglich war. Hier konnte man im allgemeinen erst nach zeitraubenden Kombinationsversuchen an den Bildern auf eine solche Fehlermöglichkeit schließen.

Es ergab sich daher die Aufgabe, solche Fälle auszuschalten und eine höhere Genauigkeit der Bildzuordnung zu erreichen, unabhängig von subjektiven Eindrücken, die anfangs dazu führten, daß in der Beurteilung des optimalen Raumeindrucks für die Richtung der Aufnahmebasis von zwei Betrachtern Unterschiede bis 90° auftraten.

Die einfachste Lösung bestand neben anderen Möglichkeiten darin, die Basisrichtung bei denselben elektronenoptischen Daten wie das Objekt im übermikroskopischen Endbild abzubilden. Zu diesem Zweck wird über die Blendenfassung b , wie es oben in Fig. 6 gezeichnet ist, eine Kappe e geschoben, die eine vielfach größere zentrale Bohrung trägt als die Objektträgerblende. Über diese Bohrung wird wenig außer Mitte ein dünner Silberdraht f ($0,05 \text{ mm } \varnothing$) gespannt und die Kappe so angesetzt, daß der Draht genau in Richtung der größten Neigung des Drehteiles (senkrecht zur Kippachse) verläuft, was mit Hilfe eingeritzter Marken leicht durchzuführen ist. Im allgemeinen wird die Kappe e einmal in einer Aufnahmereihe nach Herstellung der beiden Stereoaufnahmen auf den Stereokopf aufgesetzt und zur Herstellung der „Richtungsaufnahme“ (s. dazu Fig. 13b und 21b) mit eingeschleust. Da der Draht nicht in der Mitte liegt, erscheint er im

Zwischenbild des Übermikroskops an einer Seite des scharf eingestellten ausgeleuchteten Objektbereiches zunächst noch unscharf (Fig. 13b, 1), da er dem Objektiv näher liegt als das Objekt und die Objektebene noch scharf eingestellt ist. Nun wird der bereits auf zwei Photoplatten stereoskopisch abgebildete Objektausschnitt ein drittes Mal aufgenommen und die Objektpatrone unter Konstanthaltung aller elektrischen Daten mit Hilfe des Transportschliffes soweit vom Objektiv fortbewegt, bis der Draht bzw. ein Teil seiner geraden Kante auf dem Endbildschirm scharf erscheint (Fig. 13b, 2). Diese dunkle Kante wird auf derselben dritten Platte aufgenommen, so daß sie quer über das Bild läuft. Die scharf abgebildete Kante verläuft im Bild in etwas anderer Richtung als die zuvor unscharfe Abbildung, da der Draht jetzt in größerem Abstand vom Objektiv liegt als zuvor und die Elektronen hinter dem Objekt einen größeren Feldbereich durchfliegen. Aus der Lage des Bildes der in der Kipprichtung verlaufenden Drahtkante zum Bild des Objektes ist die Richtung der Basis in den Stereobildern zu entnehmen. Damit liegt die Zuordnung der stereoskopischen Bilder für die Betrachtung unter dem Stereoskop fest. Für eine mit derselben Vergrößerung und derselben Beschleunigungsspannung aufgenommene Reihe von Stereoaufnahmen verschiedener Objekte genügt die Durchführung einer Basisrichtungsbestimmung, so daß dadurch keine wesentliche Erschwerung des Verfahrens eintritt.

III. Abweichungen zwischen Elektronen- und Lichtstrahlengang.

Da für die Ausmessung der elektronenoptischen Stereobilder Geräte verwendet werden, die nach lichtoptischen Gesichtspunkten entwickelt worden sind, ist zu prüfen, inwieweit evtl. vorhandene Abweichungen in der Bildentstehung eine Fälschung der Ergebnisse herbeiführen können.

Es war schon erwähnt worden, daß die mit magnetischen Linsen erzeugten Elektronenbilder gegenüber dem Objekt um einen von der Strahlspannung und dem Magnetfeld abhängigen Winkel verdreht sind. Werden aber die Bilder zur Betrachtung und Ausmessung in dem Stereokomparator einander richtig zugeordnet — z. B. unter Zuhilfenahme der oben angegebenen Methode —, so spielt es hernach für das Ergebnis keine Rolle mehr, ob die Bilder bereits bei der Aufnahme oder erst später in die richtige Lage gebracht worden sind, da die Parallaxen in beiden Fällen dieselben sind.

Alle auftretenden Bildfehler, besonders die durch den Öffnungsfehler bedingte Bildverzeichnung, Unterschiede in der Vergrößerung zwischen den Stereohalbbildern, ferner die durch mangelhafte Scharfeinstellung bei der Aufnahme verursachte Bildunschärfe wirken sich in demselben Maße auf die Ausmeßgenauigkeit aus, wie bei der Verwendung lichtoptischer Abbildungsgeräte.

Abgesehen davon ist aber zu beachten, daß die Elektronenlinsen nicht wie die Glaslinsen durch brechende gekrümmte Flächen fest begrenzt sind, sondern daß hier die abbildenden Elektronenstrahlen über den ganzen Feldbereich der Linsen eine kontinuierliche Richtungsänderung erfahren. Dazu kommt, daß eine Lage des abzubildenden Objektes innerhalb des Feldbereiches der Linse möglich und meist nötig ist. In Fig. 12 ist der Strah-

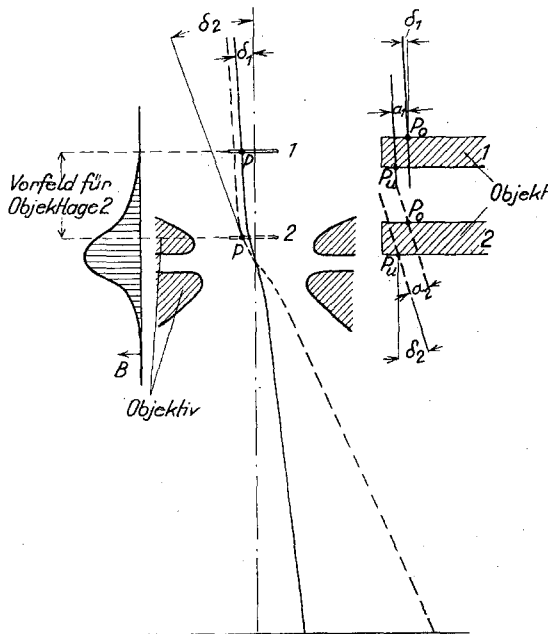


Fig. 12. Richtungsänderung des bestrahlenden Elektronenbündels im Übermikroskop für eine Lage des Objektes innerhalb des Objektivfeldes unter dem Einfluß des Vorfeldes.

lenverlauf erläutert. Das abbildende Objektiv ist mit den Polshuhen angedeutet, zwischen denen sich das für die Elektronen als Linse wirkende Magnetfeld ausbildet. Links davon ist die Induktion B des Feldes längs der optischen Achse als Kurve angegeben. Wenn das Objekt an der mit 1 bezeichneten Stelle liegt, an der nach Fig. 12 noch kein Feld vorhanden ist, wird das Objekt unter dem Winkel δ_1 , den das bestrahlende Elektronenbündel gegen die Achse bildet, beleuchtet, und die

Abbildungsverhältnisse können so betrachtet werden, wie wenn eine feste Glaslinse an der Stelle des Objektivs angebracht wäre. Anders wird es für die Lage des Objektes an der Stelle 2, die zur Erzielung hoher Vergrößerungen und kurzer Brennweiten eingenommen wird. Bevor die Elektronenstrahlen vom Kondensator kommend auf das Objekt treffen, müssen sie bereits einen Teil des Magnetfeldes, das „Vorfeld“, durchlaufen, innerhalb dessen sie von ihrer ursprünglichen Richtung δ_1 abgelenkt werden und das Objekt nunmehr unter einem größeren, von der Objektlage und dem Feld abhängigen Winkel δ_2 erreichen, wie ebenfalls in Fig. 12 unter 2 angegeben ist. Der Abstand zweier im Objekt hintereinander liegender, aber infolge der großen Tiefenschärfe stark angenähert in Parallelprojektion (in Richtung der Bestrahlung) nebeneinander gleichzeitig scharf abgebildeter Punkte P_0 und P_1 ist je nach der Bestrahlungsrichtung verschieden (a_1, a_2).

Werden von einem Objekt in der Weise Stereoaufnahmen gemacht, daß man dieses gegen die Apparatchse kippt, wie es unter IIa beschrieben wurde, so spielt es keine Rolle, welche Richtung das bestrahlende Elektronenbündel an der Stelle des Objektes gegen die Achse einnimmt, wenn es diese Stellung nur während beider Teilaufnahmen beibehält, da es nur auf die Differenz der Winkel zwischen Strahl und Objekt ankommt. Diese ist aber in jedem Falle gleich dem Kippwinkel, dem Konvergenzwinkel, da auch der durch das Vorfeld bedingte Winkel δ_2 für beide Aufnahmen gleich bleibt. Bei Verwendung der mit Objektkippung arbeitenden Spezial-Stereopatronen ist demnach ein Einfluß des vor dem Objekt liegenden Magnetfeldes, des Vorfeldes, nicht gegeben.

Anders liegen die Verhältnisse bei dem ebenfalls im vorigen Abschnitt mitgeteilten Weg zur Erzielung stereoskopischer Aufnahmen mittels Stereokondensator, der auf der Änderung der Bestrahlungsrichtung gegenüber dem feststehenden Objekt beruht. Der von beiden Richtungen eingeschlossene Winkel geht in die Berechnung der Objekttiefe aus den Parallaxendifferenzen als Konvergenzwinkel ein, muß also mit genügender Genauigkeit gemessen werden. Wie oben beschrieben, wird dieser Winkel dadurch bestimmt, daß man die Objektivlinse ausschaltet, den Abstand des nunmehr auf dem Zwischenbildleuchtschirm sichtbaren Leuchtfleckes von der Schirmmitte aus mißt und den Abstand des Schirmes vom Objekt damit in Beziehung setzt. Das Resultat ist aber der Winkel δ_1 , während der

Bestrahlungswinkel in Wirklichkeit bei eingeschalteter Objektivlinse durch Einwirkung des Vorfeldes δ_2 beträgt. Es muß daher in die Gleichung [8] für die Objektiefe Δy statt δ_1 der Winkel δ_2 eingesetzt werden.

Obwohl die Stereokondensormethode weniger für exakte Tiefenmessung gedacht ist, sondern vielmehr als ein besonders einfacher Weg angegeben wurde, ohne besondere technische Mittel und Vorbereitungen einen Eindruck über den räumlichen Aufbau eines Objektes zu erhalten, soll die Größe des Fehlers doch für einige praktische Fälle abgeschätzt werden.

Hierzu muß man die Richtungsänderung berechnen, die eine unter einem bestimmten Winkel δ_1 in das Linsenfeld eintretende Bahn auf dem Wege bis zum Objektpunkte durch die Einwirkung des Vorfeldes erleidet⁷⁾. Der an der Stelle des Objektes von der Elektronenbahn zur Achse gebildete Winkel δ_2 ist für bestimmte Werte der ursprünglichen Bahnrichtung δ_1 vor dem Eintritt in das Magnetfeld abhängig von der Form⁷⁾ und Stärke des Magnetfeldes sowie von der Strahlspannung. Die Stärke des Feldes ergibt sich aus der Brennweite bzw. der Durchflutung der Linse. In Tabelle I ist das Ergebnis für einige Fälle zusammengestellt.

Tabelle I. Richtungsänderung der bestrahlenden Elektronen im Vorfeld bei Objektlage innerhalb des Linsenfeldes.

Figuren	Strahlspannung kV	Brennweite mm	Winkel- änderung Proz.
—	50	1,9	11
—	50	2,1	5,5
8	72	2,5	3
9	75	2,6	2,5
13a	68	2,7	2
—	75	3	1,5
—	75	3,5	1

Die Ablesegenauigkeit bei der Einstellung des Konvergenzwinkels kann bei der Verwendung des Stereokondensors z. Zt. nicht höher als ± 5 Proz. angesetzt werden. Eine Berücksichtigung der durch das Vorfeld bewirkten Strahlungsänderung, die nach Tabelle I bei den vorliegenden Aufnah-

⁷⁾ Die Berechnungsgrundlagen für eine solche Bahn in einem speziellen Feld, das den praktisch auftretenden Objektivfeldern genügend genau entspricht, findet man bei W. Glaser, Z. Physik **117**, 285 (1941), [15], insbesondere Seite 288. Die zahlenmäßige Rechnung selbst hat mir Herr Dr.-Ing. habil. Dosse aus unveröffentlichten Arbeiten freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

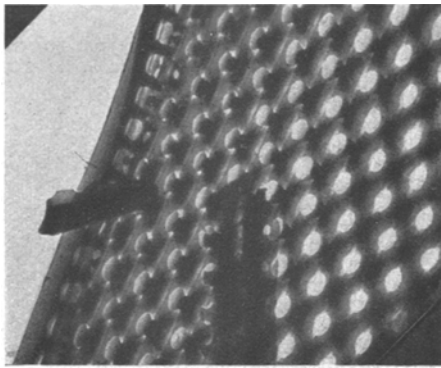
men zwischen 2 und 3 Proz. liegt, ist also erst dann von Nutzen, wenn für eine genau geeichte Einstellmöglichkeit gesorgt wird. Das kann möglicherweise dadurch erreicht werden, daß man die Verstellung des Kondensors mit Hilfe geeichter Meßschrauben vornimmt.

Für den Fall besonders kleiner Spannungen und kleiner Brennweiten müßte bei dem für die vorliegenden Aufnahmen verwendeten Objektiv eine Korrektur des Konvergenzwinkels für die Auswertung der Stereobilder bereits vorgenommen werden. Die Richtungsänderung des bestrahlenden Bündels unter dem Einfluß des Vorfeldes beträgt für den Fall der Minimalbrennweite von 1,9 mm bei 50 kV Strahlspannung 11 Proz., ein Betrag, der nicht mehr unberücksichtigt bleiben darf.

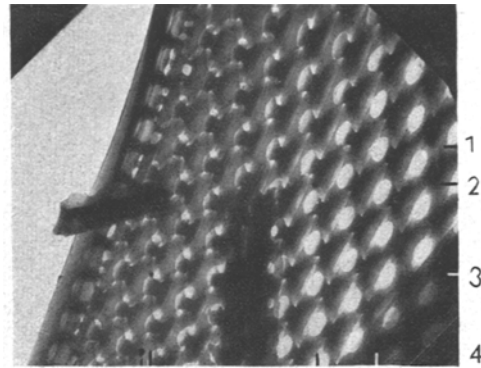
IV. Beispiele zur Ausmessung übermikroskopischer Stereobilder.

Als Anwendungsbeispiel für die Ausmessung von Tiefen mit dem Stereokomparator⁸⁾ ist die als Testobjekt in der Lichtmikroskopie vielfach verwendete Diatomee *Pleurosigma angulatum* besonders geeignet. Zugleich konnten dabei neue Erkenntnisse über den Aufbau der Diatomeenschale gewonnen werden, über die an anderer Stelle (14) ausführlicher berichtet wurde. Aus den Fig. 13 und 14 und vielen anderen Stereoaufnahmen von derselben Diatomeenart läßt sich von dem inneren Aufbau einer Schale sagen, daß sie aus einem System von Kammern besteht, die durch Säulen mit ovalem Querschnitt abgeteilt sind. Von einer Säule zur anderen führend, sind nach Art von Deckenversteifungen rundbogenartige Materialverstärkungen zu beobachten. Nach oben und unten werden die wie Waben nebeneinander liegenden Kammern einerseits begrenzt durch eine dünnere, mit einem etwa 30 μ breiten Schlitz versehene Schicht und auf der anderen Seite durch eine etwas dickere Schicht, die durch ovale Löcher unterbrochen ist. Innerhalb der Löcher liegt eine siebartige sehr dünne Membran. Die auf Grund der folgenden stereoskopischen Aufnahmen im Übermikroskop möglichen Angaben über den räumlichen Aufbau der hier behandelten Diatomeenart sind in der Skizze (Fig. 15) in einer Ansicht (übermikroskopisches

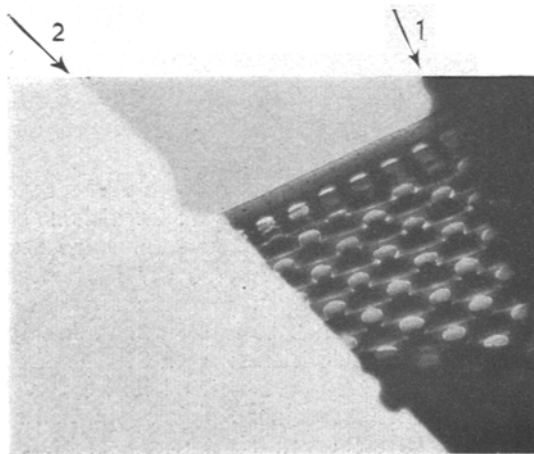
⁸⁾ Die Messungen wurden im Institut für Photogrammetrie der Technischen Hochschule Berlin durchgeführt. Herrn Prof. Dr.-Ing. Lacmann (Berichter vorliegender Dissertation) sowie Herrn Dr.-Ing. habil. Gotthardt möchte ich für das große Entgegenkommen und die Bereitstellung der Meßapparaturen auch hier meinen herzlichsten Dank abstatten.



5111/41



5110/41

Fig. 13a. Diatomee *Pleurosigma angulatum*. Vergr. el.-opt. 11000:1, $\gamma = 6^\circ$.

5114/41

Fig. 13b. „Richtungsaufnahme“ zu Fig. 13a. Abbildung des parallel zur Objektkipprichtung liegenden Silberdrahtes,

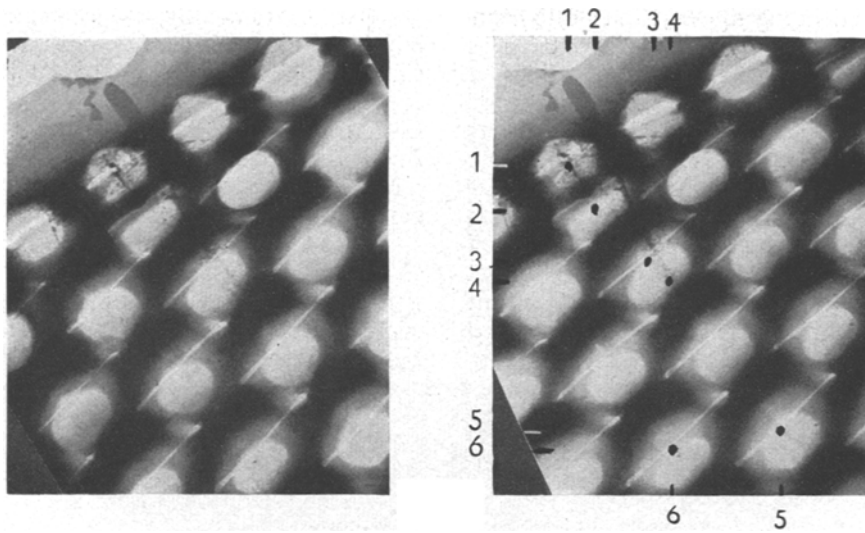
1. bei Scharfstellung auf das Objekt (Drahtkante unscharf),
 2. axiale Verschiebung des Drahtes, bis er an der Stelle des zuvor abgebildeten Objektes liegt und scharf erscheint (etwas gedreht).
- In Richtung 2 muß die Augennormale bei der Betrachtung liegen.

Durchstrahlungsbild 1) und zwei Schnittzeichnungen 2 und 3 angedeutet. Die Richtung der in einiger Entfernung vom Rande durch das Diatomeengebäude gelegten Schnitte A und B geht aus Fig. 15 hervor. In Richtung zum Rande nimmt die Höhe der Kammern stark ab, wie aus der stereoskopischen Aufnahme (Fig. 14) besonders klar zu erkennen ist. Der Rand selbst läuft nach außen wie ein Messer scharf zu. Mit Hilfe des Stereokomparators wurden nun in den Fig. 13 und 14 die Tiefenabmessungen der Schale an verschiedenen Punkten, die am Rande der

Bilder zum leichteren Auffinden in zwei Richtungen mit Zahlen bezeichnet sind, ausgemessen. In Tabelle II sind die gemessenen Parallaxendifferenzen Δp und die daraus nach der Beziehung [8] errechneten Tiefenwerte zusammengestellt. Die Meßgenauigkeit kann mit höchstens $\pm 5 \text{ m}\mu$ bei guten Aufnahmen angegeben werden, wie auch Eitel und Gotthardt (6) bereits mitgeteilt haben, nimmt aber mit der Unschärfe der Bilder sehr schnell ab. Aus diesem Grund sind die $\Delta \gamma$ -Werte der Fig. 14 nicht so genau wie die aus der schärferen Fig. 13 ermittelten. Für die Festsetzung der absoluten Diatomeenabmessungen ist außerdem die Ungenauigkeit der Vergrößerungsbestimmung im Übermikroskop zu beachten, die weitgehend davon abhängig ist, wie sorgfältig die Messung durchgeführt wird. Bei der Einzeichnung einiger Maße in die Fig. 15 ist dieser Fehler jedoch weitgehend dadurch eliminiert worden, daß hierbei der Mittelwert aus mehreren mit verschiedener Vergrößerung aufgenommenen übermikroskopischen Stereobildern angegeben worden ist.

Tabelle II. Tiefenausmessung an einigen Punkten der Fig. 13 und 14 mit dem Stereokomparator.

Figur	Vergr. el. opt.	Konvergenz Winkel γ	Punkt	Δp mm	$\Delta \gamma$ μ
13	11 000	6°	1	0,60	0,52
			2	0,85	0,74
			3	0,78	0,68
			4	0,60	0,52
14	25 000	6°	1	0,50	0,19
			2	0,85	0,33
			3	0,95	0,37
			4	1,20	0,46
			5	1,35	0,52
			6	1,15	0,44



6314/41
6312/41
Fig. 14. Diatomee *Pleurosigma angulatum*. Vergr. el.-opt. 25000:1, $\gamma = 6^\circ$.

In Fig. 13 sind einige Maße eingetragen, die sich als Mittelwert aus mehreren Bildern, u. a. den Fig. 13 und 14, ergeben und über die das einfache übermikroskopische Bild im allgemeinen keine Aussagen zu machen vermag. Dabei wurde berücksichtigt, daß die Schalen z. T. schräg zur Aufnahmerichtung lagen. Die Höhe h_1 der geschlitzten, ein wenig durchhängenden Decke über der Siebmembran beträgt durchschnittlich $0,5 \mu$, die Höhe der verstärkten Bogenverbindungen zwischen den Säulen $h_2 = 0,7 \mu$. Ferner geht aus Fig. 14 hervor, daß die Höhe des Diatomeengewölbes von dem scharfen Rand an nach innen ansteigt. In Tabelle II sind die Zahlenwerte angegeben. Danach wird die Höhe h_1 von $0,2 \mu$, in der unmittelbar an den Randstreifen anschließenden Kammer angefangen, mit jedem Punkt um etwa $0,1 \mu$ größer, bis in der 4. bis 5. Kammer die normalerweise bei der *Pleurosigma angulatum* gemessene Höhe h_1 erreicht wird und auch weiterhin im übrigen Schalenbereich bestehen bleibt. Bei den sowohl innerhalb einer Schale wie bei verschiedenen Exemplaren gewonnenen Werten wurden Abweichungen bis ± 10 Proz. beobachtet. Außerdem konnte festgestellt werden, daß die Durchmesser der ovalen Säulen nach Ausmessungen auf verschiedenen Bildern

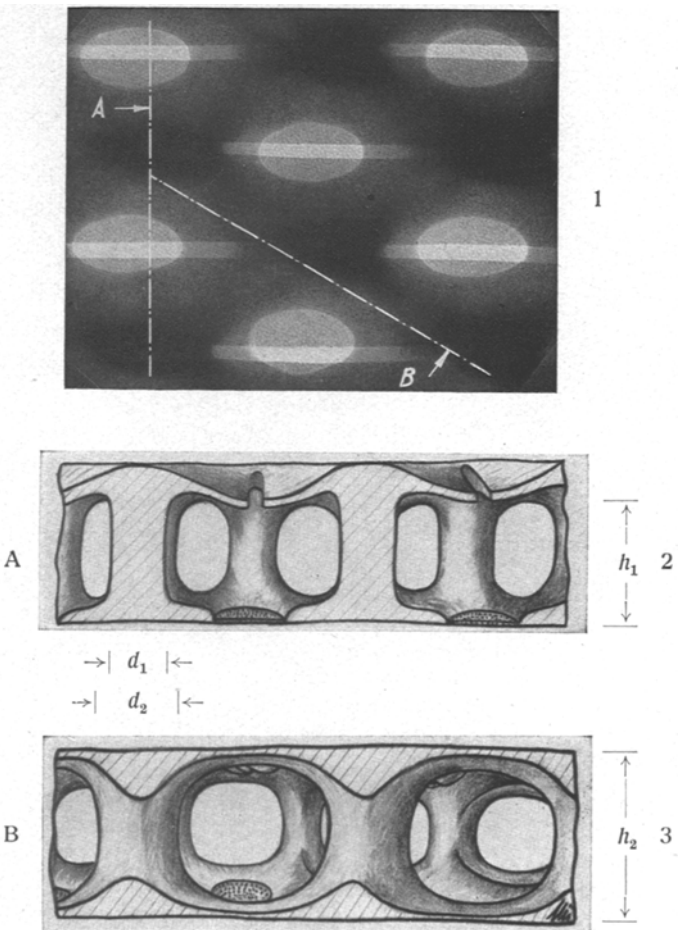


Fig. 15. Diatomee *Pleurosigma angulatum*.
Skizze des räumlichen Aufbaues.

1. Vergrößerung: el.-optisch 36 000:1, lichtoptisch nachvergrößert auf 100 000:1.
2. Schnitt A: $h_1 = 0,5 \mu$, $d_1 = 0,1 \dots 0,15 \mu$.
3. Schnitt B: $h_2 = 0,7 \mu$, $d_2 = 0,2 \dots 0,3 \mu$.

in der einen Richtung $d_1 = 0,10 \dots 0,15 \mu$ und in der anderen Richtung $d_2 = 0,2 \dots 0,3 \mu$ betragen. Für diese Angabe konnten allerdings nur solche Bilder verwendet werden, die einen schrägen Einblick in das Innere der Kammern vermittelten, wie z. B. Fig. 13.

Dieses Beispiel soll zunächst als Erläuterung der Anwendungsmöglichkeit der stereophotogrammetrischen Ausmessung übermikroskopischer Bilder genügen, die weiter unten für die Nachprüfung eines anderen zur Tiefenausmessung entwickelten Verfahrens benutzt wird und die durch die weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden wiederum auf diese Weise selbst eine gute Nachprüfung erfährt.

V. Tiefenmessung nach dem Schrägbestäubungsverfahren.

Ein weiteres Verfahren zur Messung der Tiefenausdehnung von übermikroskopischen Objekten, jedoch ohne Verwendung der stereoskopischen Methode, aus einer einzigen Aufnahme im Übermikroskop, das vom Verfasser entwickelt worden ist und im folgenden beschrieben werden soll, beruht auf der Schattenwirkung einer schräg auf die Trägerfolie treffenden Metallbestäubung und dient im wesentlichen für die Vermessung einzeln auf einem Objektträger liegender Objekte. Stereoskopische Aufnahmen wurden von den so behandelten Objekten nur angefertigt, um eine Kontrollmöglichkeit für die auf diesem Wege gemessenen Tiefenwerte zu schaffen. Wie aus der Fig. 16 hervorgeht, kann die Tiefe Δy eines Objektes aus der Schattenlänge s und dem Bestäubungswinkel α nach der Beziehung $\Delta y = s \operatorname{tg} \alpha$ sehr einfach bestimmt werden. Zweckmäßig wählt man einen Winkel $\alpha = 45^\circ$, damit man für $\operatorname{tg} \alpha = 1$ mit der Ausmessung der Schattenlänge direkt die Objekttiefe erhält. Zum Aufbringen der Metallbestäubung ist das Bedampfungsverfahren zu empfehlen.

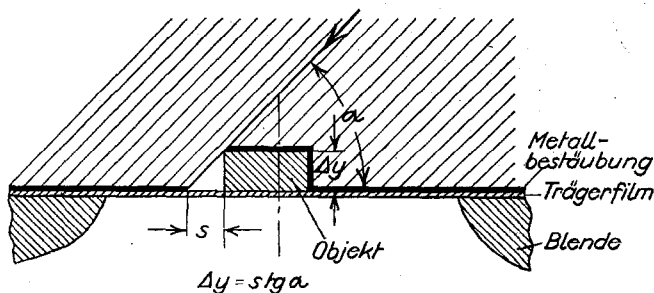


Fig. 16

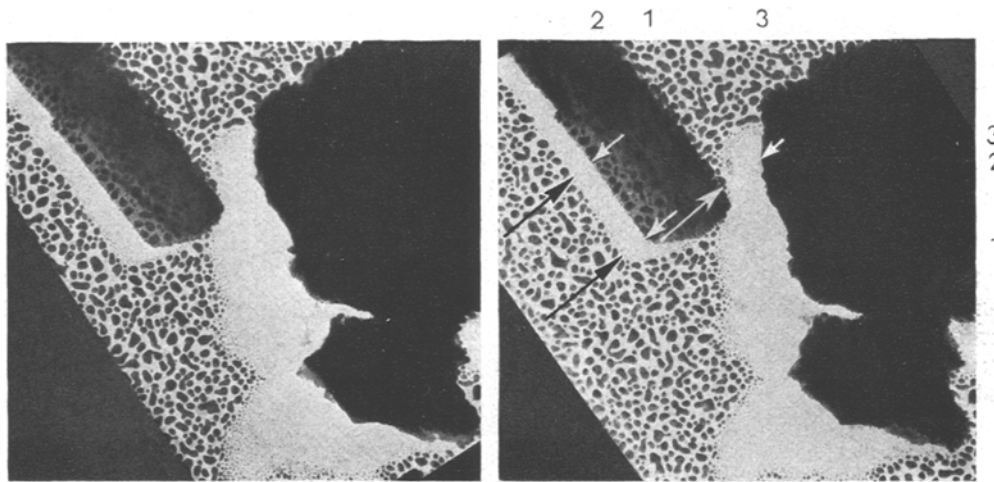
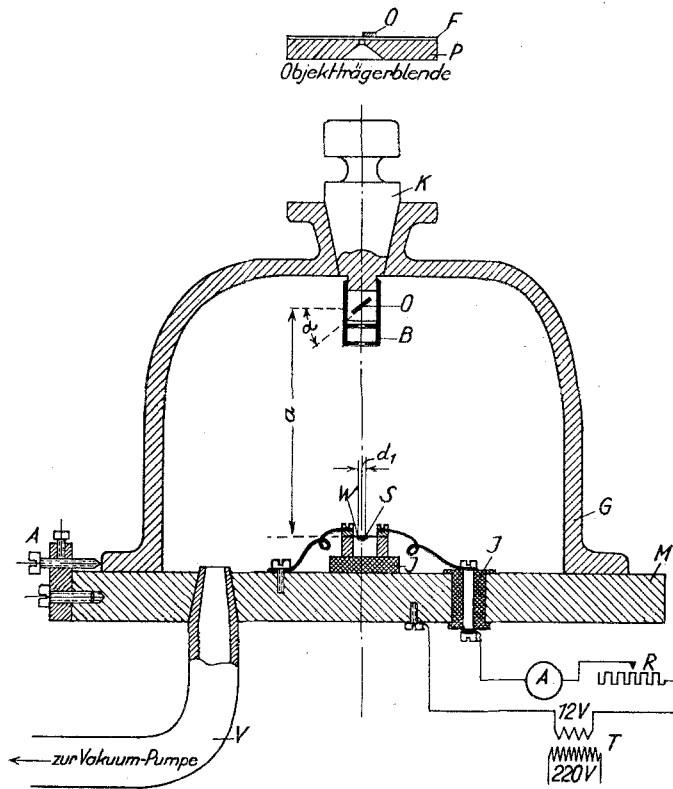
Entstehung des Schattens bei Schrägbestäubung. s Schattenlänge, y Objekttiefe, α Bestäubungswinkel.

Dabei ist es wichtig, daß während der Bestäubung das Vakuum in der Apparatur so gut ist, daß eine geradlinige Ausbreitung des Metaldampfes im Raum zwischen der Bestäubungsquelle und dem Objekt gewährleistet ist. Wenn ein merklicher Anteil der Metallatome auf ihrem Wege an Luftmolekülen von der ursprünglichen Richtung abgestreut wird, ist die Begrenzung des Objektschattens verwaschen, so daß die Höhenausmessung in demselben Maße ungenau wird. Eine weitere Fehlerquelle, die unten näher erläutert wird, liegt in der räumlichen Ausdehnung der Bestäubungsquelle. Beides wurde in der hierzu gebauten Versuchsapparatur auf ein erträgliches Maß herabgedrückt. Der Vakuumraum der Apparatur, die in Fig. 17 wiedergegeben ist, wird durch eine Metallgrundplatte M und eine Glasglocke G begrenzt. Die Glocke ist mittels Planschliff unter Verwendung von Hochvakuumfett gegen die Grundplatte gedichtet und kann über den Vakuumstutzen V mit einer Quecksilberdiffusionspumpe bis zu dem gewünschten Vakuum ausgepumpt werden. Da die ins Vakuum eingebauten Teile nicht nach den in der Röhrentechnik üblichen Verfahren ausgeheizt werden konnten (Zerstörung des Objektes), mußte nach gründlicher Säuberung der Oberflächen vor Beginn einer Bestäubung gründlich ausgepumpt werden. Als Bestäubungsmittel wurde Silber verwendet, das zu einer kleinen Kalotte S gepreßt in einer der Form angepaßten Wanne W aus Tantal liegt. Der Tantalstreifen, in den eine wannenförmige Vertiefung eingedrückt ist, dient als elektrischer Widerstand zum Erwärmen des Silbers. Der Heizstrom beträgt etwa 15 bis 20 A. Das zu bestäubende Objekt O ist zum bequemeren Wechsel an einem leicht herausnehmbaren, mit konischem Fettschliff versehenen Metalleinsatz im oberen Teil der Glocke befestigt und kann gegen die Strahlachse um einen beliebigen Winkel α gekippt werden. Damit ein Auftreffen gestreuter Metaldampfteilchen von der Seite vermieden wird, ist das Objekt von einem Blendenzylinder umgeben, der zur eindeutigen Festlegung der Bestrahlungsrichtung als Doppelblende ausgeführt ist. Durch Anschläge A ist die Lage der Glocke so festgelegt, daß die zu bestäubende Objektstelle in einer Richtung mit den beiden Blenden und der Silberdampfquelle liegt. Das Objekt, dessen Höhenausdehnung gemessen werden soll, wird auf einen normalerweise für übermikroskopische Untersuchungen dienenden Objektträger (Fig. 17) gebracht, damit es zur Ausmessung der Schattenlänge anschließend im Übermikroskop betrachtet werden kann. Über

die Bohrung der Platinblende *P* erstreckt sich als eigentlicher Träger des Objektes *O* ein dünner Film *F*. Da sich die Lage des Objektes weder bei der Bestäubung noch im Elektronenstrahl des Übermikroskopes verändern darf, wird als Material für den Trägerfilm mit Vorteil das mechanisch festere Aluminiumoxyd dem normal verwendeten Kollodium vorgezogen.

Fig. 17. Apparatur für die Schrägbestäubung übermikroskopischer Präparate zur Ausmessung ihrer Tiefe.

- A Anschlag
- a Abstand: Objekt-Dampfquelle
- α Bestäubungswinkel
- B Doppelblende
- d_1 Durchmesser der Dampfquelle
- F Objektträger-Film
- G Glasglocke
- I Isolation
- K Objektwechselschliff
- M Metallgrundplatte
- O Objekt
- P Platinblende
- R Widerstand
- S Silber
- T Transformator
- V Vakuumleitung
- W Tantal-Wanne



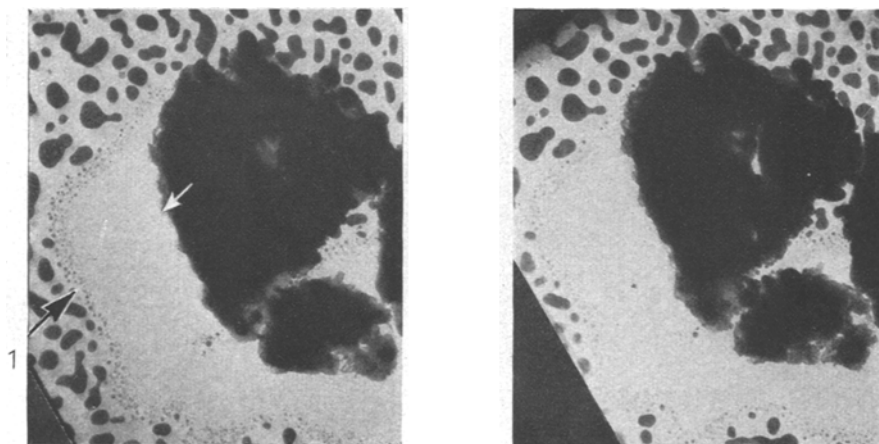
6617/41 6616/41
Fig. 18. Schmirgelkörner mit Silber unter 45° bestäubt. Vergr. el.-opt. 29000:1, $\gamma = 10^\circ$.

Für die Bestäubungsdichte, die mittels des Heizstromes und der Heizdauer der Dampfquelle geregelt und an dem Belag an der Innenseite der Glasglocke beurteilt werden kann, gibt es einen günstigsten Wert, bei dem der Silberniederschlag auf dem Objekt schon eine deutliche Schattenwirkung erkennen läßt, aber noch nicht soweit

zusammenhängend und dick liegt, daß er unter der Einwirkung des Elektronenstrahles im Übermikroskop bei der Absorption der Elektronenenergie zu großen Tropfen zusammenschmilzt. In Fig. 18 ist ein Präparat (Schmirgel), das zur Beurteilung der Korndimensionen mit dem Schrägbestäubungsverfahren (45°) behandelt worden ist,

wiedergegeben. Es wurden stereoskopische Aufnahmen davon angefertigt, um eine Nachprüfung der aus der Schattenausmessung erhaltenen Tiefenwerte mit Hilfe des oben besprochenen Stereokomparators zu ermöglichen. Die Richtung des Schattens ist leicht festzustellen, seine Länge wird am besten an einer Objektstelle gemessen, die sich in der Schattenkontur eindeutig abzeichnet. Bei scharfkantigen Kristallen sind solche Punkte besonders leicht aufzufinden. In den nicht abgeschatteten Gebieten des Filmes ist der Silberbelag während der Betrachtung im Übermikroskop zu kleinen Tröpfchen zusammengelaufen, ohne daß aber dadurch eine Aufhebung der Schattengrenze eingetreten ist. Als Folge der räumlichen Ausdeh-

nung der Silberdampfquelle ist als Übergang vom „Schatten“ zur vollen Versilberung ein „Halbschatten“-Gebiet entstanden, in dem infolge der zum „Kernschatten“ hin abnehmenden Silberdeckung nicht mehr genügend Material zur Bildung von Tröpfchen vorhanden ist, so daß sich die Grenze des Halbschattens in einer plötzlichen Änderung der Tröpfchengröße markiert. Aus diesem Grunde lassen sich auch solche Präparate noch auswerten, bei denen eine über das normale Maß hinausgehende Silberbestäubung verbunden mit starker Elektronenbestrahlung im Übermikroskop zu verhältnismäßig sehr großen Silbertröpfchen geführt hat, wie in Fig. 19. Denn in dem Gebiet abnehmender Silberbestäubung wird die



6605/41
Fig. 19. Schmirgelkörner mit Silber unter 45° bestäubt. Vergr. el.-opt. 29000:1, $\gamma = 10^\circ$.

Tröpfchengröße mit sichtbarem Übergang kleiner. Die wahre Länge des Halbschattens, die bei der genauen Ausmessung der Schattenlänge berücksichtigt werden muß, ist aus den vorliegenden Aufnahmen schwer zu bestimmen, weil auch im Kernschattengebiet Silberdampfteilchen liegen, die durch Streuung von ihrer ursprünglichen Richtung abgekommen sind.

Da aber der Halbschatten bei der Ausmessung der Schattenlänge ins Gewicht fällt, wurde rechnerisch die Länge des Halbschattens nach der in Fig. 20 aufgezeichneten geometrischen Anordnung bestimmt. In der Skizze bedeutet d_1 den Durchmesser der Metalldampfquelle in seiner Ausdehnung senkrecht zur Bestrahlungsachse, die durch den Punkt P_m des um den Winkel α gegen die Achse geneigten Objektes verläuft. Die in Fig. 17 angegebene Doppelblende vor dem Objekt wird hier nicht berücksichtigt, da die Blendenbohrungen so groß waren, daß die den Halbschatten begrenzenden Strahlen frei hindurch-

fallen konnten. Aber auch wenn diese Bohrungen kleiner gewählt werden, sind die im folgenden mitgeteilten Beziehungen weiterhin richtig, wenn man für d_1 den begrenzenden Blendendurchmesser und für a den Abstand dieser Blende vom Objektpunkt einsetzt. Da sich l mit dem Abstand x des betrachteten Punktes P von der Achse, mit der Tiefe Δy des Objektes über dem Objektträger und mit dem Neigungswinkel α ändert, wurde die Größe von l für den allgemeinen Fall bestimmt. Nach einfachen trigonometrischen Beziehungen ergibt sich:

$$l = s_1 + s_2 = \Delta y [\operatorname{ctg}(a - \beta) - c \operatorname{ctg}(a + \delta)]; \quad [13]$$

darin ist

$$\operatorname{tg} \beta = \frac{\frac{d_1}{2} + x \sin \alpha}{a + x \cos \alpha} \quad [14]$$

$$\operatorname{tg} \delta = \frac{\frac{d_1}{2} - x \sin \alpha}{a + x \cos \alpha} \quad [15]$$

Für $x = 0$ wird $\beta = \delta$.

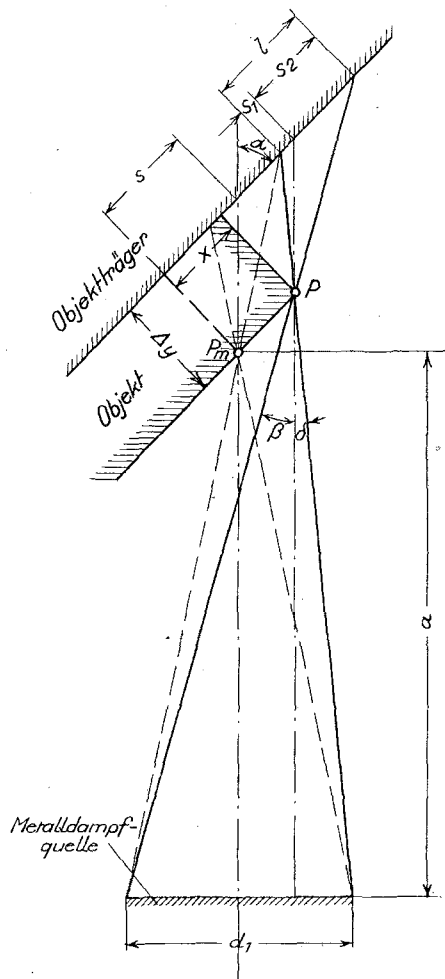


Fig. 20. Schatten- und Halbschattenlänge eines Objektes bei Schrägbestäubung.

Länge des Halbschattens für Punkt P:

$$l = s_1 + s_2 = \Delta y [\text{ctg}(a - \beta) - \text{ctg}(a + \delta)]$$

$$\text{tg } \beta = \frac{\frac{d_1}{2} + x \sin \alpha}{a + x \cos \alpha}$$

$$\text{tg } \delta = \frac{\frac{d_1}{2} - x \sin \alpha}{a + x \cos \alpha}$$

Bei den folgenden Betrachtungen sollen die in Fig. 17 angegebenen Abmessungen der hier verwendeten Versuchsapparatur zugrunde gelegt werden: $\alpha = 45^\circ$, $d_1 = 3 \text{ mm}$ und $a = 48 \text{ mm}$.

Die Genauigkeit der Methode.

1. Auswirkung der außerachsialen Punkt-lage. Der seitliche Abstand x eines auszumessenden Objektpunktes von der Achse; der zur Halbschattenberechnung gebraucht wird, ist aus dem

übermikroskopischen Bilde nicht zu entnehmen und kann unter dem Lichtmikroskop (Abstand vom Mittelpunkt des sichtbaren Silberbestäubungsflekes auf der Objektträgerblende) besonders bei sublichtmikroskopischen Präparaten nur sehr ungenau bestimmt werden. Es soll daher zunächst geprüft werden, ob eine Berücksichtigung dieser außerachsialen Lage unter den vorliegenden Verhältnissen und im Vergleich zu anderen hier auftretenden Fehlern notwendig ist.

Der Durchmesser der verwendeten Objektträgerblenden beträgt $0,05 - 0,07$, höchstens $0,10 \text{ mm } \varnothing$. Als größter, für die Abbildung im Übermikroskop in Frage kommender Abstand eines Objektpunktes von der Achse kommt somit $x = 0,05 \text{ mm}$ in Betracht. Mit den oben angegebenen Konstruktionsdaten der Apparatur ergibt sich als Länge des Halbschattens für eine Objekt-tiefe $\Delta y = 1 \mu$

1. $l_{(x=0)} = 0,1253 \mu$ für den achsialen Fall,

2. $l_{(x=0,05)} = 0,1254 \mu$ für $x = 0,05 \text{ mm}$.

Der Unterschied der Halbschattenwerte für die genau zentrische und für die von der Achse soweit wie möglich entfernte Lage erweist sich damit als so gering (kleiner als $\pm 0,01 \text{ Proz.}$ vom Halbschatten und kleiner als $\pm 0,001 \text{ Proz.}$ bezogen auf die Schattenlänge S), daß dieser Einfluß längst vernachlässigt und praktisch eine achsiale Lage der Punkte zugrunde gelegt werden kann.

2. Länge des Halbschattens. In der Gleichung zur Berechnung des Halbschattens sind einige Größen enthalten, die sich im Betrieb um geringe Beträge ändern können. Sowohl der Durchmesser der Dampfstrahlquelle, der Silberpille, als auch der Abstand a der Silberoberfläche von dem Objektpunkt P ändern sich bei der Erhitzung und beim Auswechseln des Tantalstreifens im Betrieb. Bei einer Genauigkeit für $d_1 = 3 \pm 0,1 \text{ mm}$ und für $a = 48 \pm 0,3 \text{ mm}$ ergeben sich als Halbschattenlängen für die beiden Grenzwerte $l_1 = 0,1342 \mu$ und $l_2 = 0,1157 \mu$. Es ist also mit einem Fehler von $\pm 0,93 \text{ Proz.}$, bezogen auf die Schattenlänge $S = 1 \mu$, zu rechnen. Auf einem 30000fachen übermikroskopischen Bilde entspricht das einer Strecke von $\pm 0,28 \text{ mm}$.

3. Schattenlänge S . Für die Berechnung der Halbschattenlänge ist aber die Genauigkeit immer noch größer als für die Ausmessung von Schattenlängen auf Bildern unter Berücksichtigung der nicht ganz scharf ausgebildeten Schattenbegrenzung. Bei sorgfältig hergestellter Bestäubung ist hierfür ein Fehler von $\pm 2,5 \text{ Proz.}$ anzusetzen.

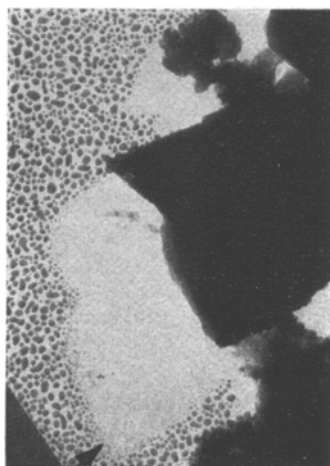
Für die praktische Ermittlung der Tiefe eines Objektes ergibt sich aus obigen Überlegungen folgender Arbeitsgang: Wie in Fig. 6 angedeutet, wird die zu einem Objekt gehörende Schattenlänge auf dem hochvergrößerten übermikroskopischen Bild bis zu der Grenze ausgemessen, an der die gleichmäßige Silberbelegung der Folie (kenntlich an einheitlicher Tröpfchengröße) beginnt. Nach Abzug des halben⁹⁾ Halbschattenwertes, der rund 6 Proz. der Schattenlänge beträgt, ergibt sich dann die wahre Schattenlänge S (vgl. Fig. 1). Daraus läßt sich die Objektiefe

$$\Delta y = \frac{S}{V}$$

berechnen. Schließlich muß noch auf die Genauigkeit der Vergrößerungsbestimmung im Übermikroskop eingegangen werden, da sie von

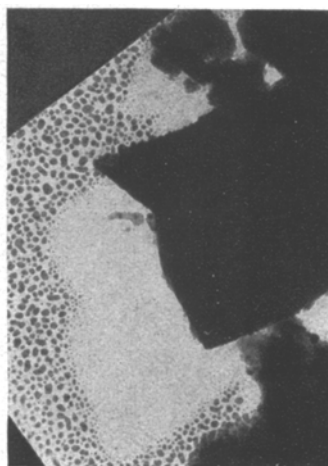
entscheidender Bedeutung nicht nur für die Objektvermessung in die Tiefe, sondern auch in Höhe und Breite ist.

4. Vergrößerungsbestimmung im Übermikroskop. Die Objektvergrößerung wird im Übermikroskop in zwei Stufen erreicht, die einzeln ausgemessen werden können. In der ersten Stufe fällt das Bild auf einen mit einer mm-Teilung versehenen Fluoreszenzschirm, der durch ein Fenster von außen betrachtet werden kann. Aus dem Verhältnis des Zwischenbilddurchmessers zum lichtmikroskopisch auszumessenden Objektblendenradius ergibt sich unter Berücksichtigung des Abstandes zwischen Schirm und Zwischenbildblende die 1. Vergrößerung.



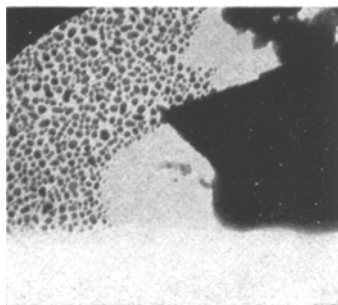
1

6609/41



6607/41

Fig. 21 a. Schmirgelkörner mit Silber unter 45° bestäubt. Vergr. el.-opt. 29000:1, $\gamma = 10^\circ$.



6611/41

Fig. 21 b. „Richtungsaufnahme“ zu Fig. 21 a. Teilweise Abdeckung des Bildes durch den Silberdraht, der die Kipprichtung auf das Endbild projiziert.

⁹⁾ Die in Fig. 20 gezeichneten beiden Teile s_1 und s_2 des Halbschattens unterscheiden sich nur unwesentlich: $s_1 = 0,061 \mu$ und $s_2 = 0,065 \mu$ für den zentralen Fall und die vorliegenden Versuchsbedingungen.

Unterhalb des Zwischenbildschirmes liegt eine Blende, die in dem Endbild als Bildbegrenzung auf der photographischen Platte in 2. Stufe vergrößert abgebildet wird. Der Durchmesser dieses Kreises geteilt durch den freien Durchmesser der Zwischenbildblende, der ebenfalls lichtoptisch ausgemessen werden kann, ergibt die 2. Vergrößerung. Die Angabe der Gesamtvergrößerung ist normalerweise mit einem Fehler von ca. ± 5 Proz. behaftet. Bei Anwendung besonderer Sorgfalt kann die Genauigkeit auf mindestens ± 2 Proz. erhöht werden, wenn man dafür Sorge trägt, daß die auszumessenden Blendenbohrungen sauber, kreisförmig und in axialer Richtung weder zylindrisch noch gar kraterförmig ausgedehnt sind, damit unter dem Lichtmikroskop derselbe Blendendurchmesser ausgemessen wird, der vorher im Übermikroskop als Begren-

zung des in erster bzw. zweiter Stufe vergrößerten elektronenoptischen Bildes gedient hatte.

Als Ergebnis erhält man den Wert einer mittleren Vergrößerung, der noch nichts über die zum Rand hin veränderliche Bildverzeichnung aussagt.

Die oben im einzelnen behandelten Fehlergrenzen, bezogen auf die Schattenlänge bzw. die Objektiefe, sind im folgenden zusammengestellt.

1. Änderung des Halbschattens für maximale Exzentrizität des Objektpunktes $\pm 0,001$ Proz.
2. Apparativ bedingte Schwankungen des Halbschattens $\pm 0,93$
3. Ausmeßgenauigkeit, bedingt durch Grobheit der Bestäubung ± 4
4. Genauigkeit der Vergrößerungsbestimmung ± 5

Bei der Beurteilung der Ergebnisse sind praktisch nur die unter 3 und 4 angegebenen Fehler zu berücksichtigen, gegen deren Herabsetzung zunächst nur apparative und experimentelle, aber keine prinzipiellen Schwierigkeiten stehen.

Als Beispiele für das Schrägbestäubungsverfahren sind einige übermikroskopische Abbildungen der Körner eines feinen Schmirgels wiedergegeben, die zugleich als Stereopaare aufgenommen worden sind, um eine Nachprüfung der aus der Schattenausmessung erhaltenen Werte mit dem Stereokomparator möglich zu machen. In den Fig. 18, 19 und 21 sind einige mit Zahlen gekennzeichnete Punkte ausgemessen. Schatten- und Meßrichtung gehen aus den eingezeichneten Pfeilen hervor.

In Tabelle III sind die Ergebnisse der Ausmessung von Objektiefen zusammengestellt, die

Tabelle III. Tiefenbestimmung verschiedener Objektpunkte mit der Schrägbestäubungsmethode und Vergleich mit der Stereokomparatormessung.

Figur	Punkt	Schatten auf dem Bild (mm)	$\frac{l}{2}$ (mm)	Vergrößerung el. opt. V.	Objektiefe	
					a. d. Schatten $S = \Delta y$ (μ)	mit Stereokomparator (μ)
18	1	3,9	0,24	29 000	0,13	0,127
	2	3,2	0,19		0,10	0,101
	3	5,9	0,35		0,19	0,194
19	1	15,0	0,90	29 000	0,49	0,47
21	1	20	1,20	29 000	0,65	0,61

an denselben Bildern einerseits mit dem Schrägbestäubungsverfahren (Fehler ± 4 Proz.) und andererseits mit dem Stereokomparator gewonnen worden sind. Der Schatten ist auf beiden Stereobildern an den mit Pfeilen gekennzeichneten Stellen ausgemessen und der Mittelwert daraus in die Tabelle eingetragen worden. Die halbe Halbschattenlänge beträgt 6 Proz. der Schattenlänge. Die in Spalte 6 angegebene Schattenlänge ist bei Bestäubung unter 45° gleich der Objektiefe. Die Ergebnisse zeigen eine im allgemeinen innerhalb der oben angegebenen Fehlergrenzen beider Verfahren liegende Übereinstimmung. Daß zuweilen größere Abweichungen vorkommen, kann seinen Grund, wie schon erwähnt, in einer zu groben Bestäubung oder aber darin haben, daß der Trägerfilm wellig liegt oder durch das Gewicht des Objektes durchgedrückt ist, so daß die Schattenausmessung fehlerhaft wird. Im Verlauf der Untersuchungen sind jedoch solche Fälle ganz vereinzelt und nur bei schadhaftem Material des Trägerfilms beobachtet worden.

In der Gegenüberstellung der einerseits mit dem Schrägbestäubungsverfahren, andererseits durch Ausmessung von Stereoaufnahmen gewon-

nenen Zahlenwerte für die Tiefenausdehnung von Objekten und in der weitgehenden Übereinstimmung der mit beiden Verfahren erzielten Resultate zeigt sich die Brauchbarkeit beider Wege, die je nach der Art des Objektes angewendet werden können. So wird man die stereoskopische Aufnahme vorwiegend bei komplizierten Objekten wählen und möglichst solchen, die in einer mehrere Minuten dauernden Elektronenbestrahlung nicht verändert werden, während sich das Schrägbestäubungsverfahren, bei dem eine Aufnahme zur Dickenbestimmung genügt, besonders für einzeln liegende, einfache Objekte (z. B. Kristalle, Bakterien u. a.) eignet, die man nur einer kurzen Elektronenbestrahlung aussetzen will.

Zusammenfassung.

Ausgehend von der normalen photographischen Stereoaufnahme werden die geometrischen Zusammenhänge bei dem Entstehen, Betrachten und Ausmessen der mit dem Lichtmikroskop und dem Elektronenmikroskop hergestellten stereoskopischen Bilder gezeigt. Für die Anfertigung von Stereobildern im Übermikroskop werden nach Erwähnung der bereits vorhandenen Methoden zwei

neue Vorschläge und damit erzielte Ergebnisse mitgeteilt: 1. Ein Stereokopf, bei dem die Objektkippung innerhalb des Vakuums ohne Ausschleusen des Objektes oder Zusatzrichtungen vorgenommen werden kann, und 2. der „Stereokondensator“, ein Verfahren, nur durch Änderung der Bestrahlungsrichtung während des normalen Mikroskopiervorganges eine Stereowirkung zu erzielen. Die Fehlermöglichkeiten werden abgeschätzt und einige für die Ausmessung der Objektiefen wichtige Unterschiede zwischen Licht- und Elektronenstrahlengang behandelt. Ferner wird ein Weg angegeben, die richtige Zuordnung der bei Abbildung mit Magnetlinsen gegen das Objekt verdrehten Bilder zur Betrachtung unter dem Stereoskop zu erleichtern. An übermikroskopischen Stereoaufnahmen werden einige Beispiele für die Ausmessung der Tiefe sublichtmikroskopischer Objekte gegeben, die zum Teil zu neuen Erkenntnissen über den räumlichen Aufbau feinsten Strukturen (Diatomeen) führen. Schließlich wird ein neues Verfahren mitgeteilt, die Tiefe übermikroskopischer Objekte durch Schrägbestäubung mit Metall an einem einzigen Bilde festzustellen. Die Fehler der Methode werden abgeschätzt, die Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit den stereophotogrammetrisch gewonnenen Werten.

Schrifttum.

1. C. Pulfrich, Stereoskopisches Sehen und Messen (Jena 1911).
2. L. E. W. von Albada, Stereophotographie, Handbuch der wissenschaftlichen und angewandten Photographie (Wien 1931).
3. R. Finsterwalder, Photogrammetrie (Berlin 1939).
4. E. Ruska, DRP. 659092 (1934).
5. M. v. Ardenne, Z. Physik **115**, 339 (1940).
6. W. Eitel und E. Gotthardt, Naturwiss. **28**, 367 (1940).
7. B. v. Borries und E. Ruska, Erg. exakt. Naturwiss. **19**, 256 (1940). a) S. 287 und 290—291.
8. H. O. Müller und E. Ruska, Kolloid-Z. **95**, 21 (1941).
9. M. v. Ardenne, Elektronenübermikroskopie (Berlin 1940).
10. H. Ruska, Naturwiss. **27**, 287 (1939).
11. G. Hass und H. Kehler, Kolloid-Z. **95**, 26 (1941).
12. H. Mahl, Jb. AEG-Forsch. **7**, 43 (1940). Prinzipskizze der Vorrichtung für Stereoaufnahmen in Henneberg ETZ **61**, 773 (1940).
13. J. Dosse, Z. Physik **117**, 722 (1941), insbes. 750.
14. H. O. Müller und C. W. A. Pasewaldt, Naturwiss. **30**, 55 (1942).
15. W. Glaser, Z. Physik **117**, 285 (1941).
16. B. v. Borries und E. Ruska, Naturwiss. **27**, 281 (1939).

Aus dem Institut für Experimentalphysik der Königl.-Ungarischen Horthy Miklós-Universität und der Kolloidabteilung des Physikalisch-chemischen Instituts der Universität Leipzig.

Neuere Untersuchungen über die Leitfähigkeit der Gelatine-Farbstoffphosphore.

Von Lajos Gombay (Szeged, Ungarn, z. Zt. Leipzig).

(Eingegangen am 16. März 1942)

I. Einleitung.

In einer meiner vorhergehenden Arbeiten¹⁾ habe ich die Resultate meiner Untersuchungen über die Leitfähigkeit der festen Gelatinephosphore im Zusammenhang mit der Temperaturänderung schon veröffentlicht. Es ergaben sich kurz zusammengefaßt folgende Resultate: Bei Zimmertemperatur wächst die Leitfähigkeit des Phosphors mit der Konzentration des Farbstoffes. Bei höherer oder niedrigerer konstanter Temperatur verliert der Phosphor seine Leitfähigkeit binnen kurzer Zeit. Wird die Temperatur gleichmäßig erhöht, so wächst die Leitfähigkeit zuerst, erreicht ein Maximum, dann nimmt sie ab, und

schließlich wird sie infolge einer neuen inneren positiven elektromotorischen Kraft wieder größer.

Im ersten Teile meiner gegenwärtigen Untersuchungen erforschte ich bei Zimmertemperatur jene Änderungen der Leitfähigkeit, die infolge von Vorströmen verschiedener Dauer unter der Wirkung der äußeren Spannung eintraten. Im zweiten Teile untersuchte ich die charakteristischen Eigenschaften des Entstehens der neuen Elektromotorischen Kraft.

Die Leitfähigkeit von Rhodulin Orange N (10^{-2} g/cm³) wurde bei gleichmäßigem (3° C/min) Temperaturanstieg untersucht. Die Dimensionen der untersuchten Gelatinephosphorplatten und die Untersuchsvorrichtung waren dieselben, die ich in meiner vorhergehenden Arbeit gebraucht habe.

¹⁾ L. Gombay, Acta Chem. Min. et Phys. **7**, 2 (1939); siehe auch P. Fröhlich und L. Gombay, Kolloid-Z. **94**, 147 (1941); H. Mischung, ebenda, 153.