

Klarhalten der Beobachtungsscheiben feuchter Kammern für die Zeitrafferkinematographie

E. HEYSE, Institut f. d. Wissenschaftlichen Film, Göttingen

Avoiding Moisture Condensation on the Observation Windows of Moisture Chambers. The author examines different methods to avoid moisture condensation on observation windows caused by irregular temperature distribution. The respective measures consist of covering the window with a water-absorbent layer and heating with electrical current or through absorption of radiation. Furthermore, the culture-medium can be fixed in suitable cases on the observation window, through which photographs can be taken.

Comment maintenir Propres Verres d'Observation de Chambres Humides pour les Prises de Vue en Accélééré. L'auteur indique différentes méthodes pour éviter les condensations d'humidité sur les verres d'observation provoquées par une répartition inégale des températures. On peut par exemple recouvrir le verre d'une couche susceptible de gonfler, le chauffer par un courant électrique ou par l'absorption d'un rayonnement. On peut en outre, dans les cas qui s'y prêtent, placer la couche nourricière sur la verre d'observation et faire la prise de vue à travers.

Die Kultur von Organismen auf einem feuchten Substrat wie Agar oder einem ähnlichen Medium, die nur in einer sauerstoffhaltigen Atmosphäre mit hohem Feuchtigkeitsgehalt gedeihen, wird gewöhnlich in abgedeckten Petrischalen vorgenommen oder in anderen abgeschlossenen Kammern, die das Austrocknen verhindern. Erstreckt sich die Kultivierung über eine lange Zeit, so müssen die Kammern genügend feucht gehalten werden oder vollständig geschlossen sein. Im Innern bildet sich dann eine mit Wasserdampf gesättigte Atmosphäre, und Temperaturdifferenzen bewirken sehr schnell, daß sich die Wände mit Flüssigkeitströpfchen überziehen; sie beschlagen, wie man sagt. Sollen nun solche abgeschlossenen Küvetten für Filmaufnahmen benutzt werden, so ist ein Beschlagen der Glasscheiben, durch die hindurch fotografiert werden soll, unbedingt zu verhindern.

Wenn es sich nicht um sterile Kulturen handelt und die Anforderungen an die Feuchtigkeit nicht zu hoch sind, kann man die entsprechende Scheibe einfach im Moment der Aufnahme des Einzelbildes entfernen, z.B. wegklappen. Hierzu sind aber besondere Mechanismen notwendig, die sich, zumal bei mikroskopischen Objekten, nicht immer anwenden lassen.

Eine einfache Methode, die Deckscheiben, durch die hindurch aufgenommen werden soll, eine gewisse Zeit klarzuhalten, besteht darin, sie mit einer quellfähigen Schicht zu überziehen. Man begießt die Platte vor dem Auflegen oder Aufkitten mit einer dünnen Schicht von etwa 5 bis 10%iger Gelatine und läßt diese trocknen. Durch Wasserdampf, der sich niederschlägt, quillt

zwar die Gelatine, sie bleibt aber klar durchsichtig. Erst nach längerer Einwirkungszeit wird die Quellung ungleichmäßig und optisch inhomogen. Handelt es sich z. B. um Kulturen in Petrischalen oder ähnlichen Küvetten, die mit einer Glasscheibe bedeckt sind und von oben mit Zeitraffung fotografiert werden sollen und die nicht oder nicht über sehr lange Zeit steril zu sein brauchen, so kann man, bevor ein zu hoher Quellungszustand der Gelatine erreicht wird, wenn die Aufnahmeserie noch nicht abgeschlossen ist, die Scheibe gegen eine andere mit ungequollener Gelatine austauschen.

Bei kleinen Kammern für mikroskopische Zwecke und wenn mikroskopische Beleuchtungsmethoden angewendet werden, bei denen das Licht das Objekt und das Kulturmedium durchstrahlt und dabei erwärmt, wird mehr Flüssigkeit verdampfen und sich am kälteren Deckglas niederschlagen. Bei größeren Objekten, bei denen von vorn aus der Aufnahme- richtung bestrahlt wird, ist die Gefahr des Beschlagens geringer, weil hierbei die vorn liegende Scheibe der Küvette zuerst durchstrahlt und erwärmt wird. Wenn aber das Licht, z. B. bei Lupenaufnahmen oder bei größeren Objekten, nicht direkt von vorn einfällt, sondern mehr oder weniger von der Seite, so wird die Mitte der Scheibe nicht durchstrahlt und somit auch nicht wärmer. Da außerdem das beleuchtende Licht, um das Objekt nicht zu beeinflussen, möglichst frei von Wärmestrahlen sein soll, ist es besser, die Scheibe in anderer Weise zu erwärmen. Wenn es sich um größere Kammern handelt, kann man davor oder darüber, je nach der Aufnahmerichtung, eine Heizung in Form eines Heizdrahtes anbringen, der das Feld, durch das beobachtet wird, gerade umgibt. Wenn bei kleinen Kammern, bei denen die Deckscheibe dem Objekt relativ nahe ist, die Gefahr besteht, daß beim Heizen auch das Objekt und das Kulturmedium erwärmt werden, sollte man die Kammer zusätzlich von unten, also das Kulturmedium, kühlen. Geeignet hierfür ist z. B. ein Durchströmungsobjekttisch, der an die Wasserleitung angeschlossen werden kann [1]. Wenn das Medium gleichmäßig gekühlt wird, ist nicht nur die Gefahr einer Schädigung des Objektes geringer, sondern das Wasser verdampft auch entsprechend langsamer, der Wasserdampf kondensiert eher am Agar oder an der Kulturflüssigkeit als am wärmeren Deckglas. Die Erwärmung einer gewöhnlichen Klarglasscheibe durch Heizen von außen oder Bestrahlen ist aber nur gering und die Wirkung meist nicht ausreichend, um das Beschlagen zu verhindern.

Neuerdings sind Glasscheiben auf dem Markt, die mit einer durchsichtigen, elektrisch leitenden Schicht versehen sind¹⁾. Sie lassen sich, wenn eine geeignete Spannung angelegt wird, sehr leicht auf mäßige Temperatur aufheizen und sind vorzuziehen, wenn es Schwierigkeiten macht, die Deckscheiben mit einer Heizeinrichtung von außen genügend zu erwärmen. Der leitende Belag ist nicht abwaschbar und die Scheiben sind sterilisierbar.

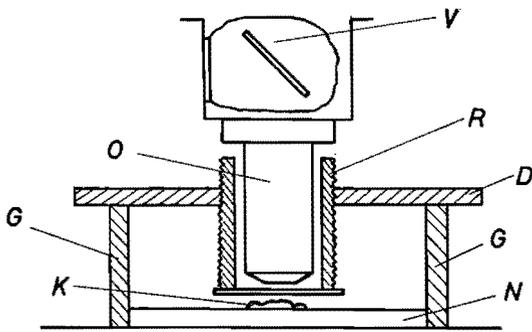
1) Glasplatten mit sog. ELMO-Belag von Heraeus

Für Petrischalen oder andere flache Küvetten kann man sie einfach als Deckel benutzen. Die Stromzuführung geschieht zweckmäßig über einen regelbaren Transformator. Die Spannung wird so eingestellt, daß gerade kein Beschlagen mehr auftritt. Allerdings ist der Widerstand der Scheiben sehr hoch. Er beträgt bei den im Handel befindlichen 10 kOhm. Wenn man quadratische Platten zugrunde legt und die Kontakte an der ganzen Länge zweier gegenüberliegender Kanten anlegt, ist der Widerstand unabhängig von der Größe der Platten. Wegen des relativ hohen Widerstandes muß die Spannung allerdings ziemlich hoch (etwa 80 bis 120 V) sein, um eine wirksame Erwärmung zu bekommen. Nicht unwesentlich ist aber auch die Art der Kontakte und die Größe des Übergangswiderstandes an ihnen. Zweckmäßig sind z.B. Messingstreifen mit U-förmigem Querschnitt von der Länge einer Plattenkante, in die die Glasplatten 1 bis 2 mm hineinragen, wobei sie von kleinen abgeflachten Schraubchen mit der leitenden Schicht gegen die gegenüberliegende Kante gedrückt werden¹⁾.

Eine andere Möglichkeit zur Erwärmung bei relativ geringer Energiezufuhr, wobei die Glasscheibe stärker und das Objekt weniger erwärmt und damit der Wirkungsgrad erhöht wird, besteht darin, daß man als Deck- oder Sichtscheibe ein sog. Wärmeschutzglas verwendet. Eine Klarglasscheibe läßt den größten Teil der Wärmestrahlung ungeschwächt hindurch, während das wärmeabsorbierende Glas die Wärmestrahlung vom Objekt fernhält, sich dabei erwärmt und somit weniger zum Beschlagen neigt. Zur Erwärmung kann, wie oben beschrieben, eine Heizeinrichtung oder auch die Strahlung einer Glühlampe verwendet werden. Wenn man das Licht der Glühlampe, weil es vielleicht die Objektbeleuchtung stört, nicht gleichzeitig zur Beleuchtung benutzen kann, muß die Glühlampe im Augenblick der Belichtung eines Einzelbildes durch die Apparatur ausgeschaltet werden. Wärmeschutzfilter kann man in mehreren Größen und Dicken vorrätig halten. Bei größeren Küvetten für schwache Abbildungsmaßstäbe können dickere Scheiben von etwa 1 bis 2 mm Stärke oder die Schottgläser KG 1 und KG 3 verwendet werden. Für kleinere Kammern für mikroskopische Objekte, bei denen die Deckgläser wegen der kleineren Arbeitsabstände der Objektivseile 0,5 mm oder dünner sein müssen, sind solche stärkerer Absorption zweckmäßiger, z.B. die Filter BG 13, BG 18 oder BG 28. Diese stärker gefärbten Filter sind aber ungeeignet, wenn es sich um Aufnahmen auf Farbfilm handelt; für Farbaufnahmen sind nur die Gläser KG 1, KG 3 oder ähnliche verwendbar. Die Filter KG 1 und KG 3 gehören allerdings einer schlechteren hydrolytischen Klasse an. Das gleiche gilt für die Gläser BG 17 und BG 19, die matte Flecke bekommen, wenn sie längere Zeit der Feuchtigkeit ausgesetzt sind. Aus diesem Grunde dürfen sie auch nur trocken sterilisiert werden. Empfindliche Gläser läßt man am

¹⁾ Für die Ausführung sei Herrn FRIEß von der Werkstatt des Instituts f. d. Wissenschaftlichen Film besonders gedankt.

besten mit einer Schutzschicht aus Quarz bedampfen, dann sind sie nicht nur gegen Feuchtigkeit, sondern auch gegen Verschrammung geschützt. Besser haltbar gegen Feuchtigkeitseinwirkung ist das Filter BG 22; es ist aber für Wärmestrahlen durchlässiger als das KG-Filter und deshalb weniger wirksam. Selbstverständlich sind Interferenzwärmeschutzgläser für den gedachten Zweck unbrauchbar.



Küvette mit großem Luftreservoir für stärkere Vergrößerungen zur Erwärmung eines Wärmeschutzfilters mittels Vertikalilluminator

G: Glasring; V: Vertikalilluminator; R: Plexiglasrohr; D: Plexiglasdeckel; N: Nährmedium;
O: Objektiv; K: Kultur

Bei Objekten für stärkere Vergrößerungen, bei denen, um das Wachstum nicht zu beeinträchtigen, ein relativ großes Reservoir von Luft vorhanden sein muß, haben sich Küvetten von folgender Form gut bewährt (Abb.). Ein etwa 4 cm hoher Glasring von 8 bis 10 cm Durchmesser wird (z.B. mit Uhu-Plus) auf eine Glasplatte gekittet. Diese wird mit Nährboden begossen, und nach der Beimpfung oder vor Beginn der Aufnahme wird der Glasring mit einem Plexiglasdeckel bedeckt. Der Deckel hat eine Durchbohrung mit Gewinde von etwa 3 cm Durchmesser, in das das Außengewinde eines Plexiglasrohres paßt. An sein Ende ist ein dünnes Wärmeschutzglas geklebt. Das Rohr wird so weit in den Deckel geschraubt, bis das Wärmeschutzfilter sich dicht über dem Objekt befindet und man mit dem Objektiv durch das Rohr genügend nahe herankommt. Zur Erwärmung des Wärmefilters muß jetzt ein Vertikalilluminator verwendet werden, der die Mitte des Filters durch das Objektiv hindurch bestrahlt und erwärmt. Störende Spiegelungen oder eine für die Abbildung unzuweckmäßige Objektbeleuchtung können auch hier verhindert werden, wenn die Lichtquelle des Illuminators im Moment der Filmbelichtung ausgeschaltet wird. Da Plexiglas nicht erhitzt werden darf, muß der Deckel mittels Alkohol und UV-Strahlung sterilisiert werden. Wenn seine

Unterseite genügend lange in nächster Nähe einer UV-Quelle bestrahlt wird, sind Infektionen wenig wahrscheinlich.

Objekte, die auf einem festen Substrat kultiviert werden und eine Umkehrung vertragen, lassen sich manchmal durch den Nährboden hindurch photographieren, wenn er nicht zu dick ist. Man stellt die Küvette mit dem Nährboden, in oder auf dem die Organismen wachsen, nach oben. Ihr Boden muß dann allerdings sehr dünn sein und darf bei starken Vergrößerungen nur aus einem dünnen Deckglas bestehen. Ebenso darf die Agarschicht nur sehr dünn gegossen werden. Wenn hierbei die jetzige Unterseite beschlägt, wird weder die Schärfe noch die Brillanz des Bildes beeinträchtigt. Um zu verhindern, daß die Beleuchtung sich ändert oder Helligkeitsschwankungen auftreten, kann man hier auch die untere Deckscheibe aus einem wärmeabsorbierenden Glas wählen und in irgendeiner Weise heizen. Meist wird das beleuchtende Licht schon für ihre genügende Erwärmung ausreichen. Es genügt ja im allgemeinen, wenn die Stelle, durch die beobachtet wird, klar bleibt. Man kann aber auch, wie das H.-K. GALLE [2] mit Erfolg versucht hat, die untere Scheibe mit einer Wasserschicht überziehen. Jetzt kann nichts mehr beschlagen, man muß nur achtgeben, daß sich der Luftraum zwischen Wasser und Nährmedium an der eingestellten Stelle nicht völlig mit Wasser füllt. GALLE hat ihn sogar absichtlich zum Teil gefüllt, aber eine Luftblase bestehen lassen. Ferner hat er seine Pilzsporen zwischen Agar und Deckglas angebracht und konnte somit die stärksten Vergrößerungen anwenden.

Wenn sich die Organismen nicht ohne weiteres umdrehen lassen, weil vielleicht ihr Wachstum von der Lage abhängig ist, die Aufnahmerichtung aber ohne Bedeutung ist oder das Objekt gar von unten beobachtet werden muß, dann kann man ein umgekehrtes Mikroskop verwenden und durch den Boden der Küvette und das Nährmedium hindurch photographieren. In diesem Falle kann das Objekt unbeeinflusst in seiner Nährflüssigkeit wachsen und hat genügend Luftraum über sich. Das Objektiv kann nahe genug herangebracht werden, wenn der Küvettenboden dünn und das Nährmedium nicht zu dick ist oder die Objekte in der Nährflüssigkeit untergetaucht sind. Als Deckel ist auch hier eine Wärmeschutzscheibe vorzuziehen, die von dem beleuchtenden Lichtbündel, wenn es steil einfällt, gleichzeitig erwärmt werden kann. Das umgekehrte Mikroskop bringt allerdings einige Schwierigkeiten mit sich, sowohl in bezug auf die Beleuchtung als auch hinsichtlich der Kameraaufstellung. Bei horizontaler Kameraanordnung muß der Strahlengang mindestens einmal durch ein Prisma umgelenkt werden. Dasselbe gilt für die Beleuchtung, wenn große Mikroskopierlampen mit horizontalem Lichtbündel verwendet werden. Es kann auch vorkommen, daß mit umgekehrtem Mikroskop und umgekehrter Kammer gearbeitet werden muß. In diesem Falle befindet sich die Deckscheibe wieder zwischen Objektiv und Objekt und muß bei Durchlichtbeleuchtung

gesondert angeleuchtet werden. Diese Anordnung ist aber nicht für starke Vergrößerungen verwendbar, weil das Objekt von der Frontlinse des Objektivs durch die Wärmescheibe und den Luftraum getrennt ist. Bei allen diesen Verfahren mit tiefen Küvetten müssen häufig Objektive mit großen Arbeitsabständen und bei Nährmedien in dicker Schicht zur optimalen Beleuchtung auch Kondensoren langer Schnittweite verwendet werden [3].

Literatur

- [1] HEYSE, E., Durchströmungswärmetisch für Mikrokinematographie. Res. Film 4 (1961) No. 2, S. 140—144.
- [2] GALLE, H.-K., Untersuchungen über die Entwicklung von *Phycomyces Blakesleeanus* unter Anwendung des Mikrozeitrafferfilms. Protoplasma 59 (1964) H. 3—4, S. 423—471.
- [3] HEYSE, E., Mikroskopkondensor für tiefe Objektkammern. Res. Film 4 (1963) No. 6, S. 563—566.