

aufbauendes Farbenverfahren und gab uns damit für dergleichen Untersuchungen ein weit geeigneteres Material, durchsichtige Bildschichten auf Glasunterlage, in die Hand. Gleichwohl wurde in der Folgezeit kein Versuch unternommen, die

Wiener'schen Arbeiten in dem ungedeuteten Sinne fortzuführen und damit dem Streite über die Richtigkeit der Zenker'schen Theorie ein Ende zu bereiten. Vereinzelt herrschte wohl die Meinung, dass sich mit unseren gegenwärtigen optischen Hilfsmitteln der direkte Beweis von dem Vorhandensein der dünnen Blättchen überhaupt nicht erbringen lasse, weil diese hypothetischen Gebilde unterhalb der Grenze des Erkennungsvermögens liegen müssten. Das irrige letzterer Ansicht legte Verfasser¹⁾ im Jahre 1894 dar: Die halbe Wellenlänge des Spectralroth beträgt 0,00038 mm; die-
 nen Abstand würden also die dünnen Blättchen haben, welche unter dem Einflusse rothen Lichtes entstehen. Der Abstand der Querstreifen bei Amphipleura beträgt nur 0,00022—0,00025 mm. Das Streifensystem in einem Querschnitte eines Lippmann'schen Farbenbildes muss sich demnach leichter lösen lassen, als Amphipleura pellucida.

Gelegentlich sehr umfangreicher Untersuchungen über das Lippmann'sche Farbenverfahren im Sommer 1897²⁾ bemühte sich Verfasser, auch den Nachweis von dem Vorhandensein der dünnen Zenker'schen Blättchen zu erbringen. Eine Glasplatte wurde mit Collodium und nach dem Trocknen des letzteren mit Silberreißweiss überzogen. Die Belichtung in der

1) R. Neuhauß, Photogr. Rundschau 1894, Heft 12, p. 360; Fader's Abb. f. Photographie u. Reproduktionstechnik für das Jahr 1895, p. 188.

2) Photogr. Rundschau 1897, Heft 11 und 12; 1898, Heft 1—5.

13. Nachweis der dünnen Zenker'schen Blättchen in den nach Lippmann's Verfahren aufgenommenen Farbenbildern; von R. Neuhauß.

In seinem „Lehrbuch der Photochromie“ führt Zenker¹⁾ das Zustandekommen der Farben bei photographischen Aufnahmen nach dem Verfahren von Seebeck, Boscquet, Poitevin u. a. zurück auf Bildung von sehr feinen Silberschichten innerhalb der lichtempfindlichen Substanz. Die Schichten (dünne Zenker'sche Blättchen) werden nach Zent durch stehende Lichtwellen hervorgeufen und haben ein gegenseitigen Abstand gleich der halben Wellenlänge desjenigen Lichtes, welches ihre Entstehung verursacht.

Dass stehende Lichtwellen thatsächlich erzeugt werden sobald bei Reflexion an einer glänzenden Fläche der einfallende Strahl mit dem reflectirten interferirt, bewies O. Wiener in seiner vortrefflichen Arbeit über stehende Lichtwellen.²⁾ Mit Hilfe überaus sinnerreicher Methoden photographirte er stehende Lichtwellen und erhob damit ihre Existenz über jeden Zweifel. Dass aber, wie Zenker behauptet in der Farbenphotographie die Farben thatsächlich durch stehende Lichtwellen erzeugt werden, hat Wiener nicht mehr bewiesen. Um einen solchen Nachweis zu führen, hätte die durch stehende Lichtwellen erzeugten dünnen Blättchen direct in den Farbenbildern zur Anschauung bringen müssen. Das konnte nur an Querschnitten durch farbige Aufnahmen geschehen.

Ob Wiener damals (1889) der directe Nachweis dünnen Blättchen überhaupt möglich gewesen wäre, erschließt sich sehr fraglich. Die Untersuchungen hätten sich auf Farbenbilder beschränken müssen, denn erst zwei Jahre später veröffentlichte Lippmann sein auf der Zenker'schen Theorie

1) Berlin 1869, p. 77. Selbstverlag des Verfassers.

2) O. Wiener, Wied. Ann. 10, p. 203, 1890.

1) R. Neuhauß, Photogr. Rundschau 1894, Heft 12, p. 360; Fader's Abb. f. Photographie u. Reproduktionstechnik für das Jahr 1895, p. 188.

2) Photogr. Rundschau 1897, Heft 11 und 12; 1898, Heft 1—5.

müßlich belinden. Wahl des Objectives, Lichtquelle und Beleuchtungsart hat sich hiernach zu richten. Die Schnitte waren in der rothen bis rothgelben Spectralzone ausgeführt, wo die in Luft gemessenen halben Wellenlängen zwischen 0,00033 und 0,00038 mm schwanken. Die Länge der Wellen ist aber umgekehrt proportional dem Brechungs-exponenten des Mediums, in dem sich das Licht bewegt. Da der Brechungsexponent des lufttrockenen Bromsilberweiss für rothes Licht annähernd 1,5 beträgt, so würde der Lamellenabstand innerhalb der Bildschicht bei unseren Schnitten zwischen 0,00022 und 0,00025 mm liegen. Nun ist aber die Aufquellung des Präparates durch das einbettende Medium zu berücksichtigen. Um den Grad der Aufquellung zu ermitteln, ver-glich Verfasser Schnitte, die in Paraffinbettung verblieben waren mit Schnitten in Kanadabalsam und in Glycerin. Ob durch Kanadabalsam überhaupt Aufquellung herbeigeführt wird, liess sich mit Sicherheit nicht feststellen; jedenfalls bleibt dieselbe innerhalb enger Grenzen. Bei Glycerin beträgt die Aufquellung mindestens 30 Proc. Bei den Glycerinpräparaten heben sich also Verminderung des Lamellenabstandes infolge des höheren Brechungsexponenten des Eiweiss und Erhöhung des Lamellenabstandes infolge von Aufquellung gegenseitig auf.

Nunmehr galt es, die für die Auflösung günstigsten Bedingungen der Beleuchtung ausfindig zu machen. Bekanntlich ergiebt sich der kleinste, durch ein bestimmtes Objectiv zu lösende Streifenabstand (v) für centrale Beleuchtung als Quotient der Wellenlänge (λ) durch die numerische Apertur (a), für möglichst schiefe Beleuchtung dagegen als Quotient der halben Wellenlänge durch die Apertur. Bei möglichst schiefer Beleuchtung liegen also die Verhältnisse für die Auflösung am günstigsten.

Unter Annahme eines Lamellenabstandes von 0,00038 mm müsste sich also bei möglichst schiefer Beleuchtung und Benutzung des weissen Tageslichtes ($\lambda = 0,00055$ mm) das Streifen-system auflösen lassen, wenn ein Objectiv mit 0,72 num. Ap. verwendet wird; denn: $a = \lambda/2v$

$$a = \frac{0,00055}{2 \cdot 0,00038} = 0,72.$$

Quecksilberkassette geschah mit Hilfe des Spectrographen, die Hervorrufung mit Pyrogallus-Ammoniumcarbonat. Die ausgefixirte und getrocknete Bildschicht, welche prächtige Spectralfarben zeigte, liess sich leicht vom Glase abziehen. Nunmehr kam es darauf an, möglichst feine Querschnitte in der rothen Zone der Bildschicht, wo die Verhältnisse zum Erkennen der dünnen Blättchen am günstigsten liegen, herzustellen. Da die Ausführung der Schnitte nicht nur feinste Mikrotome, sondern auch eine geschulte Hand erfordert, so bat Verfasser Hr. E. Flatau am I. anatomischen Institute zu Berlin, diese Arbeit zu übernehmen. Genannter Herr erklärte sich in liebenswürdigster Weise bereit und fertigte gegen 100 vorzügliche Schnitte. Zum Zwecke der Schnittführung wurde das zu bearbeitende Stück des Colloidum-Eiweisshäutchens zum Theil in Paraffin, zum Theil in Celloidin gebettet. Die Paraffinbettung ermöglichte sehr viel feinere Schnittführung.

Bei *Amphipleura pellucida* spielt der Brechungsexponent des einbettenden Mediums eine hervorragende Rolle. Je höher der Brechungsexponent ist, um so leichter gelingt die Auflösung; am besten arbeitet es sich mit Präparaten, die in Realgar (Brechungsexponent 2,4) liegen. Daher war zu erwägen, ob man für die Einbettung der Schnitte ebenfalls ein Medium von so hohem Brechungsexponenten benutzen sollte. Die Verhältnisse liegen aber bei Schnitten dieser Art ganz anders als bei Diatomeen: Die feinen, aus metallischen Silber bestehenden Lamellen sind bereits im Eiweiss der Bildschicht eingebettet. Der Brechungsexponent derjenigen Substanz, in welcher das Eiweisshäutchen mit den Lamellen schwimmt, kann die Auflösungsfähigkeit nicht beeinflussen.

Auf Grund dieser Erwägungen wurde für die Schnitte ein einbettendes Medium gewählt, dessen Brechungsexponent demjenigen des Objectivträgers und Deckglases möglichst nahe steht, also Kanadabalsam. Einzelne Versuche wurden auch mit Glycerinbettung unternommen, da vorauszusehen war, dass Glycerin durch Aufquellung des Eiweiss die Lamellen weiter auseinander schieben und daher für die Auflösung besonders günstige Vorbedingungen schaffen würde.

Bei Auflösung von Streifensystemen ist es wünschenswert vorher zu wissen, in welchem Abstände sich die Streifen ver-

die Verhältnisse bei mikrophotographischen Aufnahmen in viertausendfacher Linearvergrößerung. Das gelbbraune Präparat, welches viel blaues Licht verschluckt, stellt sich dem Auge als zu dunkel dar. Zwar liess sich an besonders günstigen Stellen die Streifung auch bei Ocularbeobachtung erkennen. Im Mikrophotogramm, wo die Addition der Lichteindrücke eine Kollo spielt, wurde die Lamellenstructur aber viel schöner sichtbar.

Die am Negativ gemessenen Abstände der Streifen stimmen genau mit den errechneten Lamellenabständen überein. Damit war der Beweis geliefert, dass die Zenker'sche Theorie, betreffend das Zustandekommen der Farben bei farbigen photographischen Aufnahmen, richtig ist.¹⁾

Einige Versuche lehrten, dass auch bei Benutzung von Licht grösserer Wellenlänge als $\lambda = 0,00045$ mm trotz centralen Lichteinfalls die Auflösung der Streifensysteme herbeizuführen ist. Hier machten sich jedoch die Unvollkommenheiten der bisher verwendeten Oelimmersion störend bemerkbar; dem immer, wenn der Beleuchtungskegel hinreichend breit war, wurde das Bild verschwommen. Die Möglichkeit, mit breitesten Beleuchtungskegeln zu arbeiten, ist abhängig von der bestmöglichen sphärischen und chromatischen Correction des Objectives. Auf Bitte des Verfassers hatte die Firma Zeiss (Jena) die Liebenschwürdigkeit, für die Fortsetzung der Untersuchungen einen ihrer vorzüglichsten Achromate mit 1,40 mm Apertur zur Verfügung zu stellen. Die hiermit erzielten Resultate sind sehr bemerkenswerth: Die Streifensysteme liessen sich bei centralen Lichteinfall mit weissem und gelbem Lichte auflösen, auch wenn, wie bei den in Kanadabalsam gebetteten Präparaten, der Streifenabstand zwischen 0,00022 mm und 0,00025 mm liegt. Ohne die Richtigkeit der Formel $e = \lambda/a$ in Frage zu stellen, lässt sich hierfür eine befriedigende Erklärung geben: Mit dem Zeiss'schen Objectiv war Verfasser im Stande, selbst die Apertur 1,30 voll²⁾ auszunutzen. Erst

1) Dass nach Wieners Untersuchungen (Wied. Ann. 55, p. 225. 1895), das Zustandekommen der Farben *mitunter* auf Körperfarben beruht, ist eine Sache für sich.

2) Selbstverständlich wurde hierbei die Frontlinse des Kondensators und die Unterseite des Objectträgers durch Oel verbunden.

Die Auflösung muss also schon mit jedem guten, starken Trockensystem vor sich gehen. Eine Immersion mit grösserer Apertur als 1 würde erst nöthig, wenn der Lamellenabstand unter 0,00028 mm herabsinkt.

Praktische Versuche ergaben jedoch, dass mit möglichst schiefer Beleuchtung bei unseren Schnittpräparaten überhaupt nichts zu erreichen ist. Da die dünnsten Paraffinschnitte immer noch eine Dicke von 0,002 mm haben, so sieht man bei schiefer Beleuchtung nur ein wirres Durcheinander von Schatten und verschwommenen Umrissen der Silberkörnchen. Die Benutzung von möglichst schieferm Lichte verbot sich auch deshalb, weil hierbei Diffractionssäure, welche jede Art von Streifung vertauschen können, unvermeidlich sind. Die unter allen Umständen anzustrebende, *gänzliche* Vermeidung von Diffractionssäuren lässt sich nur bei centraler Beleuchtung unter Anwendung *möglichst* breiter Lichtkegel erreichen.

Für centrale Beleuchtung gilt, wie oben bemerkt, die

$$\text{Formel: } e = \lambda/a$$

$$a = \frac{0,00055}{0,00038} = 1,45.$$

Um ein Präparat mit Streifenabstand von 0,00038 mm bei weissem Tageslichte und centraler Beleuchtung zu lösen, wäre also ein Objectivsystem von 1,45 mm. Ap. erforderlich. Zeiss fertigt Monobromnaphthalinimmersionen mit 1,60 mm. Ap.; doch kommen dieselben bei vorliegenden Untersuchungen nicht in Frage, weil das einbettende Medium einen Brechungsindex von mindestens 1,60 haben muss und derjenige des Eis weiss 1,50 kaum erreicht. Im übrigen haben die apochromatischen Oelimmersionen nur 1,40 mm. Ap. Mit denselben ist also Auflösung der in Frage stehenden Streifensysteme bei centraler Beleuchtung und weissem Tageslichte überhaupt nicht möglich. Benutzen wir an Stelle des weissen Tageslichtes blaues Licht mit Wellenlänge 0,00045 mm, so gelingt die Auflösung schon mit einem Objectivsysteme von 1,48 mm. Ap.

Verfasser verwendete also Sonnenlicht unter Zwischen-schaltung einer Absorptionseenvette mit dunkelblauer Kupferoxydammoniaklösung und konnte bei centralen Lichteinfall die dünnen Zenker'schen Blättchen zur Anschauung bringen. Noch anschaulicher als bei Ocularbeobachtung gestalteten sich

170
bei noch weiterer Steigerung der Breite des Beleuchtungskegels wurde das Bild verschwommen. Bei so erheblicher Breite des Beleuchtungskegels wirken aber neben den centralen Lichtbündeln gleichzeitig sehr schiefe, welche ihre Wirkung nach der Formel $e = \lambda/2a$ ausüben. Die schiefen Lichtbündel ohne die centralen anzuwenden ist, wie wir oben sahen, unstatthaft.

Freilich würde bei so breiten Beleuchtungskegeln wohl auch das Zeiss'sche Objectiv versagt haben, wenn uns nicht ein anderer Umstand zu Hilfe käme. Man versuche einmal, Amphipleura pellucida mit so breitem Beleuchtungskegel zu lösen! Man wird nicht nur keine Querstreifung, sondern auch von der Kieselschale nur noch wenig sehen. Das *Structurbild* verträgt eben nicht so breite Beleuchtungskegel. Ganz anders steht es mit dem auf Absorption beruhenden Bilde: Die feinsten Geisseln gefärbter Bacterien treten am besten in die Erscheinung, wenn man die volle Apertur (1,40) des Systems ausnutzt. Bei unseren Schnitten haben wir in der gelbbraunen Farbe des Silberniederschlags ein Mittelglied zwischen Absorptions- und Structurbild. Wegen des Unterschiedes im Brechungsindex des metallischen Silbers und des einbettenden Eisens kommt das Absorptionbild nicht voll zur Geltung. Aus diesem Grunde vertragen die Präparate zwar nicht einen so breiten Beleuchtungskegel, wie gefärbte Bacterien, aber einen erheblich breiteren, als Amphipleura pellucida.

Auf Grund der gewonnenen Erkenntniss machte Verfasser mit Sonnenlicht, Kalklicht und Auerlicht unter Zuhilfenahme des Zeiss'schen Objectives und gelber bis gelbgrüner Lichtfilter eine beträchtliche Reihe von Aufnahmen, welche sämtlich aufs Klarste die Lamellenbildung zeigen. Dass bei so breiten Beleuchtungskegeln Verwechslung mit Diffraktionsräumen ausgeschlossen ist, brauchen wir nicht besonders zu betonen. Immer ist bei einer bestimmten Breite des Beleuchtungskegels (die bei verschiedenen Schnitten zwischen 1,0 und 1,3 mm. Apertur schwankt) die Auflösung der Streifensysteme am vollkommensten. Bei weiterer Vergrößerung der Apertur wird das Bild verwaschen, bei Verkleinerung derselben (mit Hilfe der Irisblende) kommt bald der Augenblick, wo jede

Streifung verschwindet. Bei noch weiterer Verkleinerung der Apertur tritt wieder Streifung auf: es sind aber Diffraktionsräume, die sich durch die Art ihres Verlaufes und durch ihr Erscheinen auch *ausserhalb* des Schnittes als solche verrathen. Wir wollen schliesslich noch auf einige Besonderheiten hinweisen, die sich auf den Querschnitten darbieten.¹⁾ Stets ist diejenige Hälfte der Bildschicht, welche der Colloidiumunterlage und dem Glase zugekehrt war, glasklar; nur diejenige Hälfte, welche während der Aufnahme mit dem Quecksilber in Berührung stand, weist Silberniederschlag auf. Die Wirkung der einfallenden und am Quecksilberspiegel reflectirten Lichtstrahlen war also nicht kräftig genug, um die Bildschicht in ihrer ganzen Dicke zu verändern. An denjenigen Theilen, welche dem Quecksilber zunächst lagen, ist der Silberniederschlag am undurchsichtigsten; er hellt sich nach der Mitte der Bildschicht hin allmählich auf, um etwa in der Mitte derselben völlig zu verschwinden. Merkwürdigerweise finden sich vereinzelte Silberkörnchen dort, wo die Bildschicht der Colloidiumunterlage auflag. Hier fand an der Trennungsoberfläche der beiden Medien schwache Reflexion statt, welche aber nur wenige Silberkörnchen zu verändern vermochte.

Innerhalb der Zone des Silberniederschlags sind im ganzen 6—8 Streifen (Durchschnitte der dünnen Zenker'schen Blättchen) sichtbar.

Die Aufnahmen lehren auch, weshalb die Farben bei Betrachtung der Lippmann'schen Bilder von der Glasseite aus viel weniger leuchtend sind: Hier sind dem Auge diejenigen Theile des Silberniederschlags zugekehrt, bei welchen die Lamellenbildung infolge der bereits stark geschwächten Lichtwirkung nicht mehr recht fertig wurde.

Die Lamellen zeigen nicht schnurgeraden, sondern wellenförmigen Verlauf. Dies hängt damit zusammen, dass die Oberfläche der Bildschicht nicht eben, sondern infolge des Silberkornes und der durch Austrocknung bedingten Schrumpfung runzelig ist. Da das Quecksilber sich der Schicht genau an-

¹⁾ Die Figur veranschaulicht die tatsächlichen Verhältnisse nur in mangelhafter Weise. Ein Lichtdruck nach einem der Originalnegative des Verfassers ist veröffentlicht in: Dr. R. Neuhauß, Die Farbenphotographie nach Lippmann's Verfahren. Halle a. S. 1898. W. Knapp.

legt, so müssen die dünnen Blättchen denselben Verlauf zeigen, wie die Oberfläche.

Es bleibt im hohen Grade wünschenswerth, diese Untersuchungen fortzusetzen und auf Mischfarbenaufnahmen auszu dehnen. Wie bei letzteren sich die Anordnung der Lamellen gestaltet, können wir vor der Hand mit Sicherheit noch nicht sagen; verschiedene Vermuthungen sind darüber aufgestellt, aber nur Mikrotom und Mikroskop können endgültigen Aufschluss geben. Derartige Untersuchungen würden uns sicherlich auch darüber aufklären, weshalb das Lippmann'sche Verfahren gerade bei Mischfarbenaufnahmen so viele Misserfolge zeitigt.

Wichtig wäre auch festzustellen, wie bei Platten, welche physikalisch entwickelt wurden, und welche ebenfalls Farben, wenn auch falsche zeigen, sich die Lamellenbildung gestaltet. Da hier nicht Reduction der belichteten Silbertheilchen, sondern Auflagerung von Silber aus dem Entwickler stattfindet, so ist Lamellenbildung nicht ohne weiteres zu erklären.

(Eingegangen 19. Februar 1898.)