

## Werk

**Titel:** Ultramikroskopie

**Autor:** Berg, W.

**Ort:** Braunschweig

**Jahr:** 1906

**PURL:** [https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?385489110\\_0021](https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?385489110_0021) | LOG\_0278

## Kontakt/Contact

[Digizeitschriften e.V.](#)  
SUB Göttingen  
Platz der Göttinger Sieben 1  
37073 Göttingen

✉ [info@digizeitschriften.de](mailto:info@digizeitschriften.de)

# Naturwissenschaftliche Rundschau.

Wöchentliche Berichte

über die

Fortschritte auf dem Gesamtgebiete der Naturwissenschaften.

XXI. Jahrg.

12. Juli 1906.

Nr. 28.

## Ultramikroskopie <sup>1)</sup>.

Von Dr. W. Berg (Straßburg i. E.).

Die Ultramikroskopie bezweckt bekanntlich, Teilchen, welche unter der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit liegen, sichtbar zu machen. Es geschieht dies in der Form, daß die zu untersuchenden Teilchen durch Beleuchtung mit dem intensiven Lichte eines Heliostaten oder einer Bogenlampe zum Selbstleuchten, zum Abbeugen des beleuchtenden Lichtes gebracht werden; beobachtet werden dann die Beugungsscheibchen bzw. bei größeren Körpern die Summe der Beugungsscheibchen, die aber kein objektähnliches Bild liefern, sondern nur anzeigen, daß im untersuchten Präparat optische Diskontinuitäten vorhanden sind <sup>2)</sup>. Wesentlich bei der Methode ist die Art der Beleuchtung. Es muß verhindert werden, daß die beleuchtenden Strahlen gleichzeitig mit den Strahlen abgelenkten Lichtes in das beobachtende Auge gelangen, da letztere weniger intensiv sind und überdeckt werden würden. Bei der Untersuchung von festen Körpern, z. B. Goldgläsern, und von Flüssigkeiten, die in geeigneten Küvetten untersucht werden, ist dies dadurch erreicht, daß die optische Achse des Mikroskops und die Achse des beleuchtenden Strahlenbündels senkrecht auf einander stehen. Wichtig bei dieser Anordnung ist, außer Nebenaufgaben erfüllenden Projektionssystemen und einem als Kondensor dienenden Mikroskopobjektiv, ein zwischen Lichtquelle und Präparat gebrachter, verstellbarer Präzisionspalt, welcher gestattet, die Durchleuchtung des Präparates auf ein gewünschtes Volumen abzugrenzen. Diese Art der Untersuchung erfordert — die Durchleuchtung erfolgt auf der einen Seite und die Beobachtung auf der dazu normalen Fläche — eine verhältnismäßig große Dicke des Objektes, wie sie die äußerst dünnen, zwischen Objektträger und Deckglas eingeschlossenen mikroskopischen Präparate nicht haben können. Für die Beobachtung solcher hat Siedentopf die Hinterfläche der Frontlinse eines Immersionsobjektivs derart abgeschliffen und geschwärzt, daß nur Strahlen großer Apertur eindringen können, ein Prinzip,

<sup>1)</sup> Nach einem in der Ges. naturf. Freunde zu Berlin erstatteten Referat.

<sup>2)</sup> Vgl. das ausführliche Autoreferat von H. Siedentopf und R. Zsigmondy über „Die Sichtbarmachung und Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen mit besonderer Anwendung der Goldrubingläser“ in der Naturw. Rundschau 18, 365, 1903.

welches zur Beobachtung von Teilchen genügt, die nicht allzu sehr unter der Grenze mikroskopischer Sichtbarkeit liegen, etwa  $\frac{5}{10000}$  —  $\frac{5}{100000}$  mm groß sind. Die erste Anordnung erlaubt, bei günstigsten Bedingungen Teilchen von  $\frac{4}{1000000}$  mm Größe sichtbar zu machen; sie werden getrennt wahrgenommen, wenn sie mehr als  $\frac{4}{10000}$  mm von einander entfernt sind, sonst erscheinen sie als diffuse Helligkeit.

In derselben Publikation, in der Siedentopf und Zsigmondy ihre neue Methode beschrieben <sup>1)</sup>, berichteten sie auch über deren Anwendung auf die Untersuchung von kolloidalen Goldlösungen. Sie entschieden die Frage, ob die durch das Tyndallphänomen nachzuweisenden kleinsten Teilchen eine wesentliche Eigenschaft kolloidaler Lösungen seien, in dem von ihnen bearbeiteten Falle in positivem Sinne und machten die Teilchen selbst sichtbar. Die Goldteilchen waren bei allerfeinster Verteilung nur als Aufhellung des ultramikroskopischen Gesichtsfeldes nachweisbar, von etwa  $\frac{6}{1000000}$  mm als leuchtende Punkte, welche in wässriger Lösung eine eigentümliche, von der Brownschen Molekularbewegung differente Bewegung zeigten, um so energischer, je kleiner die Teilchen. Ein Zusammenhang zwischen der makroskopischen Farbe der Lösung und der Größe der Teilchen ließ sich nicht deutlich machen.

Die Teilchen waren zu charakterisieren durch ihre Farbe, ihre Bewegung und ihre Größe.

Um letztere zu bestimmen, gaben die Autoren drei Methoden an. Bei bekannter Konzentration und bekanntem spezifischen Gewicht des gelösten Körpers findet man die Teilchengröße durch Bestimmung der Teilchenzahl oder des mittleren Abstandes der Teilchen in bestimmtem Volumen. Bei Teilchen gleicher Art kann man nach der verschieden starken Helligkeit die Größe taxieren.

Zsigmondy hat später in einer ausführlichen Arbeit <sup>2)</sup> über die Ultramikroskopie der Goldlösungen in Zusammenhang mit den Fragen der angrenzenden physikalisch-chemischen Gebiete gehandelt; er hat kurz über Beobachtungen an einer Anzahl von Suspensionen und kolloidalen Lösungen berichtet und eine Literaturübersicht gegeben. Er führt für die ultramikroskopischen Teilchen eine sehr bequeme Nomenklatur ein. Die Ultramikronen zerfallen in die mit dem Ultramikroskop nachweisbaren einzelnen

<sup>1)</sup> Ann. d. Phys., Folge 4, Bd. 10, 1903.

<sup>2)</sup> Zur Erkenntnis der Kolloide. Jena, G. Fischer, 1905.

Submikronen und die nicht mehr nachweisbaren Amikronen.

Biltz<sup>1)</sup> verwendete das Ultramikroskop zum Studium der Erscheinungen bei der Ausscheidung des Schwefels aus schwefliger Säure und des Selen aus seleniger Säure. Es ließ sich nachweisen, daß die Ausscheidung diskontinuierlich erfolgt; es bildet sich erst eine kristalloide Lösung, aus welcher die Submikronen durch Übersättigung ausgeschieden werden. Die bei Zersetzung seleniger Säure eintretende Ausscheidung wird makroskopisch erst nach 30 Minuten, ultramikroskopisch schon nach 2 Minuten 20 Sekunden bemerkbar.

Die große Mehrzahl der erschienenen Arbeiten haben das Ultramikroskop in Fragen von biologischem Interesse angewendet. Untersucht wurden Teerfarbstofflösungen, Lösungen von Eiweiß und dessen Abkömmlingen, von Glykogen, aber auch von Körperflüssigkeiten und toxischen Seren. Endlich hat man mit der neuen Vorrichtung auch mikroskopisch-anatomische Fragen, wie die feinere Struktur der Blutkörperchen, der „strukturlosen“ Augenmembranen, sowie das Verhalten von Bakterien bei der Eiweißfäulnis, bearbeitet.

Raehlmann<sup>2)</sup> und Michaelis<sup>3)</sup> untersuchten unabhängig von einander Teerfarbstofflösungen, wie sie zur histologischen Färbung verwendet werden. Nach dem Verhalten ihrer ultramikroskopischen Teilchen teilt sie Michaelis — wie Raehlmann — ein in:

1. optisch vollkommen auflösbare. Hierher gehören Sulfosäuren, wie Indulin und Violettschwarz, Anilinblau, Fuchsin in Anilinwasser, Fuchsin in heißer Kochsalzlösung gelöst und unterkühlt;

2. partiell auflösbare. Hierzu gehören Fuchsin in wässriger Lösung, Methylviolett, Neutralrot, Pikrinsäure und Capriblau;

3. völlig unauf lösbare. Fluorescein, Eosin, Toluidinblau, Nilblau, Methylenblau.

Die total auflösbaren Farbstoffe haben die Eigenschaft, bei Anwendung auf histologische Objekte diffus zu färben. Die unauf lösbaren färben distinkt, und zwar die sauren das Protoplasma, die basischen den Kern, distinkter jedenfalls als die Stoffe der zweiten Klasse.

Raehlmann fand den Ultraapparat geeignet zum Nachweise von Verunreinigungen der Farbstoffe, da die Ultramikronen derselben sehr charakteristisch sind. Er untersuchte auch Gemische von Teerfarbstofflösungen und konnte ultramikroskopisch zwei Typen unterscheiden. Es gibt Gemische, in denen die Ultramikronen der Komponenten unverändert neben einander fortbestehen, und solche, in denen sie eine Veränderung eingehen. Das letztere ist bei der Mischung von Naphtholgelb- und Preußischblau-Lösung der Fall. Die messinggelben bzw. blauen Ultramikronen werden nach der Mischung der Lösungen

grün bzw. gelbrot. Nach der Elektrolyse der Mischung im U-Rohr waren in der Kathodenflüssigkeit gelbe Naphtholgelbultramikronen nachzuweisen. Bei gleicher Behandlung einer Lösung von Preußischblau gingen die Farbteilchen zur Anode. Raehlmann nimmt demgemäß, nach Ausschluß anderer Möglichkeiten, an, daß die Submikronen der Komponenten umhüllt werden durch Amikronen, welcher Vorgang durch molekular-elektrische Kräfte bewirkt wird.

Ähnliche Ursachen glaubt Raehlmann auch für das Zustandekommen der histologischen Färbung annehmen zu sollen.

Bei der Untersuchung<sup>1)</sup> von Lösungen von Glykogen, Hühnereiweiß, Serumalbumin, sowie der pathologisch eiweißhaltigen Vorderkammerflüssigkeit des Auges und beim Untersuchen von eiweißhaltigem Harn konnte Raehlmann Ultramikronen nachweisen. Er sprach die Ansicht aus, daß mit dem neuen Apparat der wichtige Eiweißnachweis im Harn auf bequeme und elegante Weise möglich sei. Dies wurde von Behring<sup>2)</sup> und seinen Schülern Römer, Much, Siebert bestätigt; es wurde ein Parallelismus in der Stärke der Kochprobe auf Harneiweiß und der Anzahl der Ultramikronen gefunden.

Römer, Much und Siebert<sup>2)</sup> untersuchten eine große Anzahl von Eiweißlösungen und fanden, daß bei diesen die Anzahl der Ultramikronen um so größer ist, je komplizierter der chemische Aufbau. Sie stellten Verdünnungen her, bei denen noch drei bis vier Ultramikronen im Gesichtsfeld erschienen, und bezeichneten diesen Verdünnungsgrad als Ultrawert. Derselbe variiert von 1:300 000 bei Milchserum bis 1:2000 bei 10proz. Lösung von Acidalbumose, eine Differenz, die so stark ist, daß die Einwürfe, die Michaelis gegen die Verdünnungsmethode gemacht hat, diese groben Differenzen unberührt lassen. Behring faßt die Eiweiß-Ultramikronen als Moleküle auf.

Michaelis<sup>3)</sup> konnte bei einem und demselben Serum keinen identischen Ultrawert finden, wenn er statt mit Kochsalzlösung mit destilliertem Wasser verdünnte. Namentlich im zweiten Falle war die Verminderung der Ultramikronen nicht proportional dem Abfall der Konzentration, offenbar infolge der Ausflockung der nur in Salzlösung gut löslichen Globuline. Gegen die Anschauung Behrings, daß die Eiweiß-Ultramikronen Moleküle seien, wendet Michaelis ein, daß er bei Eiweißlösungen neben den Submikronen immer diffuse Fluoreszenz infolge der Anwesenheit von Amikronen zu beobachten hatte. Durch Kochen ließen sich letztere zu Submikronen zusammenflocken. Ob die Amikronen Moleküle sind, läßt er dahingestellt.

Glykogenlösung zeigt nach Raehlmann<sup>4)</sup> und

<sup>1)</sup> Göttinger Nachrichten 1904, Heft 4; Rdsch. 1905, XX, 8.

<sup>2)</sup> Ophthalmol. Klinik 7, 16, 19; Physik. Zeitschr. 4, 30.

<sup>3)</sup> Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 42; Virchows Archiv 179.

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochenschrift 1903, Nr. 48; Berliner klin. Wochenschrift 1904, Nr. 8.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physik. u. diätet. Therapie 1904, Heft 1 u. 2; Behrings Beiträge, Heft 10, S. 22.

<sup>3)</sup> Virchows Archiv 179, S. 195.

<sup>4)</sup> Münch. med. Wochenschrift 1903, Nr. 48; Berliner klin. Wochenschrift 1904, Nr. 8.

Gatin-Grużewska und Biltz<sup>1)</sup> neben Fluoreszenz eigentümliche grau-weiße Ultramikronen; diese verschwinden auf Zusatz von (verzuckerndem) diastatischem Ferment — der sichtbare Nachweis einer Fermentwirkung. Daß die Eiweißkörper mit dem fortschreitenden Abbau durch Fermente an Ultramikronengehalt verlieren, ist schon erwähnt; reines Pankreasverdauungsprodukt enthält jedenfalls keine Submikronen mehr. Besonders interessant aber ist der Versuch, den Behring und seine Schüler machten, um mit dem Ultramikroskop Aufschluß über das Wesen der biologisch wirksamen Stoffe der Sera zu gewinnen, von denen wir ja nur die Wirkung, nicht das Substrat kennen. Eine Untersuchung von Tetanusantitoxin<sup>2)</sup> war ergebnislos, was mit der Vorstellung übereinstimmt, welche die Wirkung dieses Stoffes an albumosenähnliche Körper gebunden annimmt.

Wurde aber immunisierendes<sup>3)</sup> Laktoserum im U-Rohr elektrolysiert, so war bei der Anodenflüssigkeit Ultrawert, agglutinierende und baktericide Eigenschaft gegenüber der nicht elektrolysierten erheblich gesteigert, weniger in der Zwischenflüssigkeit; dagegen war bei der Kathodenflüssigkeit Agglutination und Baktericidität gleich Null, Ultrawert vermindert.

Ein gewisser Parallelismus der wirksamen Eigenschaften und der Ultramikronenzahl des Serums war damit nachgewiesen.

Die bisher besprochenen Resultate sind mit der Anordnung des Ultramikroskops erzielt worden, bei welcher die Beleuchtung senkrecht zur Achse des Mikroskops erfolgt. Es liegen aber auch Beobachtungen vor, welche mit konaxialer Beleuchtung an Deckglaspräparaten angestellt sind.

Raehlmann<sup>4)</sup> untersuchte Blut verschiedener Tiere und des Menschen bei starker Verdünnung mit 0,6proz. Kochsalzlösung. Die Leukocyten erschienen durch übereinandergelagerte Diffraktionsringe bunt. In ihnen waren bisweilen kleine, gelbe Kugeln zu sehen, die Raehlmann als Granula oder als Zeileinschlüsse, vielleicht infolge von Phagozytose, auffaßt. Die Kugeln bewegen sich lebhaft. Gelbe, lebhaft bewegliche Kugeln konnten auch in den roten Blutkörperchen von Frosch, Salamander, Eidechse und von Vögeln gesehen werden. Beim Menschen fehlen sie; hier finden sich innerhalb der starken Diffraktionsringe des Randes der Blutkörperchen ein bis zwei „Polkörperchen“.

Bei längerem Stehen des Präparates kam es zu einer Granulierung des Zentrums der Erythrocyten. Dann traten auch hier lebhaft hüpfende gelbe Kügelchen auf. Allmählich verschwanden die Diffraktionsringe, das granuliert Zentrum persistierte allein und konnte mit etwas veränderten Leukocyten leicht verwechselt werden. Auf geringen Druck zerfielen die Blutkörperchen in einen Haufen sich abrundender Körnchen. Da Raehlmann ähnliche frei im Blute

fand, schloß er, daß ein solches Zerfallen der Blutkörperchen im Blute vorkommen müsse.

Außer weißen und roten Blutkörperchen fand Raehlmann Elemente, deren Größe etwa ein Drittel derjenigen von roten Blutkörperchen betrug. Er hält sie für Zellen, die gewissen Leukocyten verwandt seien, und identifiziert sie mit Scheiben, welche gelegentlich mikroskopisch beobachtet, freilich von dem Autor (Heinz) für Degenerationsformen weißer oder roter Blutkörperchen gehalten worden sind. Die Körperchen treten in zwei Formen auf, von denen die eine in homogener Grundsubstanz gelbgraue Kügelchen enthält, wie sie auch im Blutserum, im Speichel und in allen Körpersäften zu finden sind. Raehlmann identifiziert alle diese gelbgrauen Kügelchen; er vermutet, daß sie für den Gewebstoffwechsel große Bedeutung haben, indem sie das Blut verlassen, um im Körper aufgebraucht oder verändert dem Blute zurückgeführt zu werden.

Michaelis<sup>1)</sup> fand das Ultramikroskop auch zur Untersuchung fixierter und gefärbter Blutpräparate nützlich. Feinste, mikroskopisch äußerst mühsam nachweisbare Erythrocytenkörnclungen ließen sich ultramikroskopisch leicht finden und dann auch mikroskopisch bestätigen.

Eine sehr beachtenswerte Anwendung des Ultramikroskops machte Peschel<sup>2)</sup>. Bei der Untersuchung von sog. strukturlosen Membranen des Auges fand er, daß nur die Linsenkapsel des Erwachsenen ultramikroskopisch strukturlos ist, während die des Neugeborenen Struktur aufweist, ähnlich wie die Bowman'sche und Descemetische Membran und die Zonula Zinnii. Diese Anwendung des Ultramikroskops ist vollkommen einwandfrei; sie zeigt auch, daß sie den Biologen bei der Feststellung, ob überhaupt Struktur vorhanden ist, wertvoll sein kann.

Bakterien sind leicht ultramikroskopisch in flüssigen Medien zu beobachten. Raehlmann<sup>3)</sup> fand in faulenden Eiweißlösungen ein vielgestaltiges Bild. Neben den Ultramikronen des Eiweißes, welche allmählich kleiner werden und verschwinden, treten längliche und kugelige, lebhaft hin und her schießende Organismen auf, die durch die Art der Bewegung und einigermaßen auch durch die Form sich in verschiedene Gruppen einteilen lassen. Raehlmann glaubt, daß diese Untersuchung auf Bakterien ohne Kultur ihren Nachweis z. B. in frischem Stadium der Fäulnis erlaubt, und daß noch manche neue Formen, die sich wegen ihrer zu geringen Größe dem mikroskopischen Nachweis entziehen, gefunden werden könnten. Er glaubt, neue Fäulnisbakterien und auch Krankheitserreger gefunden zu haben.

Endlich macht das Ultramikroskop die direkte Beobachtung der Wirkung baktericider Mittel möglich, da die lebhaft bewegliche Bakterienbewegung bei Zusatz solcher Stoffe erlischt.

<sup>1)</sup> Pfügers Archiv 105, 115.

<sup>2)</sup> Berliner klin. Wochenschrift 1904, Nr. 9.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. physik. u. diät. Therapie 1904, Nr. 1 u. 2.

<sup>4)</sup> Deutsche med. Wochenschrift 1904, Nr. 29.

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Graefes Archiv 60, Heft 3, S. 557.

<sup>3)</sup> Berliner klin. Wochenschrift 1904, Nr. 8.