Ein Mikro-Refractometer.

Von

Prof. **Sigm. Exner,**

Assistenten am physiologischen Institute zu Wien.

Hierzu Tafel IV und 2 Holzschnitte.

Seit längerer Zeit mit Untersuchungen über die optischen Eigenschaften der Muskelfasern beschäftigt, benütze ich einen kleinen Apparat, dem ich den obigen Namen beilegen will, und der mir als Hilfsapparat zum Studium gewisser Fragen auf dem Gebiete der Mikroskopie empfehlenswerth erscheint. Ich gebe im Folgenden eine Beschreibung seiner Einrichtung und seiner Wirkung; über die Versuche, zu deren Zwecken er construirt wurde, werde ich später berichten.

Entfernt man sein Auge von dem Ocular eines z. B. auf Blutkörperchen eingestellten Mikroskopes um 2—3 cm und schiebt allmählich in einer passenden Entfernung zwischen Ocular und Auge ein Kartenblatt ein, so kann der Rand desselben ziemlich nahe an die Axe des Mikroskopes heranrücken, ehe eine Verdunkelung des Sehfeldes eintritt; ist er aber etwas über die Axe vorgertickt, so ist die Verdunkelung eine vollkommene. Zwischen diesen beiden Stellungen des Kartenblattes zeigt das Sehfeld ein eigenthümliches Aussehen; es ist auf einer Seite blau, auf der anderen mehr oder weniger orange gefärbt, und die Blutkörperchen heben sich reliefartig, anscheinend mit scharfen Lichtern und Schatten vom halbverdunkelten Grunde ab¹⁾. Um diesen einfachen Versuch mit gutem Erfolg auszuführen, ist nur nöthig, das Kartenblatt in der richtigen Höhe über dem Ocular zu halten, und diese richtige Höhe ist durch den hellen Punkt gegeben, auf welchen das mikroskopische Bild zusammen zu schrumpfen scheint, wenn man sein Auge vom Ocular des Mikroskopes bis auf deutliche Sehweite entfernt.

1) Aehnlich wie bei gewissen Arten der schiefen Beleuchtung.

Der Apparat, von dem ich spreche, besteht nun in nichts anderem, als einem passend montirten Schirm, der die Stelle des Kartenblattes vertritt, und seine Wirkung ist die, dass er schon geringe Abweichungen der Lichtstrahlen von ihrem normalen Gang durch das Mikroskop erkennen lässt. Letzteres ermöglicht je nach den Prämissen zweierlei.

Erstens, wenn es bekannt ist, ob der Brechungsindex des mikroskopisch gesehenen Objectes (z. B. einer Zelle) grösser oder kleiner ist, als der der umgebenden Substanz, lässt sich, mit grösserer Sicherheit als bisher, ein Schluss auf das Relief des Objectes ziehen; gewöhnlich springt dieses Relief in die Augen, die Dinge sehen körperlich aus als wären sie von einer Seite her scharf beleuchtet, wie dies die beigelegten Figuren von Blutkörperchen des Menschen und des Frosches zeigen (Fig. 1, Taf. IV).

Zweitens, wenn die Form des Objectes wenigstens soweit bekannt ist, dass man für eine Stelle desselben weiss, nach welcher Seite hin dasselbe an Dicke zu- oder abnimmt¹⁾ (es ist mir kein Fall gegenwärtig, in welchem der Mikroskopiker das anzugeben nicht in der Lage wäre), lässt sich feststellen, ob der Brechungsindex des Objectes oder der der umgebenden Substanz ein grösserer ist. Es kann hieran, wie ich sogleich zeigen werde, eine Methode geknüpft werden, wenigstens in vielen Fällen den Brechungsindex eines mikroskopischen Objectes mit ziemlicher Genauigkeit zu bestimmen, d. h. diesen Apparat als Mikrorefractometer zu benutzen.

Der sachkundige Leser wird schon erkannt haben, dass es sich hier um eine Anwendung jenes optischen Principes handelt, welches in der Benützung der unregelmässig gebrochenen Strahlen zur Entwerfung eines Bildes besteht und seine bekannteste Anwendung in Töpler's Schlierenapparat²⁾ gefunden hat. Da nicht allen Mikroskopikern dieses Prinzip geläufig sein dürfte, will ich es, gleich mit Anwendung auf unseren speciellen Fall, kurz erläutern.

In beistehendem Holzschnitt stelle *F* das sogenannte Objectivsystem, *C* die Collectiv- und *O* die Ocularlinse eines Mikroskopes dar, *A* sei das Auge, *xy* die Axe des ganzen optischen Systemes.

1) Die Dicke auf die Richtung der Mikroskop-Axe bezogen.

2) Töpler, Beobachtungen nach einer neuen optischen Methode. Bonn 1864.

Fig. 1.

Von einem entfernten hellen Punkte werde durch den Planspiegel des Mikroskopes reflectirt, ein Cylinder paralleler Strahlen (a, b) auf die Frontlinse geworfen. Die Strahlen nehmen den durch die ausgezogenen Linien eingeschlossenen Weg. Sie werden also zweimal in einen Punkt vereinigt. Der erste derselben liegt hart über dem Objectivsystem; man sieht ihn an jedem Mikroskope, wenn man nach Entfernung der Ocularlinse in den Tubus blickt. Der zweite Vereinigungspunkt liegt über dem Ocular, man kann auch ihn, wie schon erwähnt, ohne Weiteres sehen.

Nun sei in c ein Object, auf welches das Mikroskop eingestellt ist. Würde dasselbe etwa mit auffallendem Lichte beleuchtet sein, so würden die von je einem Punkte desselben ausgehenden Strahlen den durch die gestrichelte Linie schematisirten Weg machen und bei y zu einem aufrechten Bilde führen. Ist c aber durchsichtig, wie dieses bei dünnen Schichten thierischer Gewebe der Fall zu sein pflegt, so giebt es keine Strahlen dieser Art. Es kommen nur Strahlen, die durch das Gewebe hindurchgegangen sind in Betracht. Die punctirt gezeichneten d und e seien zwei solche dem beleuchtenden Lichte angehörige Strahlen. Gesetzt, das Object e bestehe aus einer stärker brechenden Substanz als seine Umgebung und sei am Rande dünner als in der Mitte, dann werden sie in der gezeichneten Weise von ihrem Wege abgelenkt werden.

Nach ihrem weitem Verlaufe durch das optische System, den ich in der Abbildung gezeichnet habe, werden sie zur Erzeugung des Bildes auf der Netzhaut beitragen, da sie durch das eingestellte Object hindurchgegangen sind.

Man bemerkt, dass an dem Punkte, an welchem der Schirm S in den Weg der Lichtstrahlen vorgeschoben wird, der Strahl, der durch die Spitze des Pfeiles gegangen ist (in der Abbildung), links,

und der durch die Federn des Pfeiles gegangen ist, rechts vom Brennpunkt des Mikroskopes verläuft. Schiebt man nun den Schirm vor (in der Zeichnung von rechts nach links), so blendet er erst die Fortsetzung des Strahles *e* ab, es wird also das Object auf der scheinbar dem Schirm gegenüberliegenden Seite dunkel werden; kommt der Schirm bis an den Brennpunkt, so verdunkelt sich das Sehfeld, nur der Strahl *d* wird in seinem Verlaufe noch nicht alterirt. Es wird also die dem Schirm scheinbar zugewendete Seite des Objectes immer noch hell erscheinen. Ist die Stellung des Schirmes so, dass die Verdunkelung des Sehfeldes keine vollständige ist, so tritt das Object auf der einen Seite hell, auf der anderen dunkel hervor.

Die Farben, in welchen das Sehfeld in diesem Falle erscheint, rühren von der chromatischen Abweichung her. Da der Brennpunkt der rothen Strahlen dem Auge näher als der der violetten liegt, so blendet der Schirm bei einer Lage zwischen diesen beiden Brennpunkten von der einen Hälfte des Sehfeldes vorwiegend die langwelligen, von der anderen vorwiegend die kurzwelligen Strahlen ab. Deshalb erscheint die dem Schirm scheinbar zugewendete Hälfte desselben blau, die andere orange.

Der Apparat selbst ist in Holzschnitt Fig. 2 durchschnitten und vergrößert dargestellt. Ueber dem Ocular (*O*) des

Fig. 2.

Mikroskopes ist ein Kästchen angebracht. Eine Oeffnung (*A*) in seiner oberen Wand erlaubt durch dasselbe, wie durch ein Ocular, in's Mikroskop hineinzublicken. Unter dieser Oeffnung befindet sich ein Schirm (*I'*), der aus einem breiten nach oben federndem Stahlband besteht, er kann durch die Schraube *B* in einer Schlitten-vorrichtung vor- und rückwärtsgeschoben und durch die Schraube *C* gehoben oder gesenkt werden.

Das ganze Kästchen ist in einem Ring, der in der Zeichnung als Durchschnitt *r, r* erscheint, um die Axe des Mikroskopes drehbar, wird von diesem Ring getragen, und ist durch ihn unter Vermittelung eines federnden und klemmbaren Rohrstückes an den Tubus des Mikroskopes befestigt. Um mit einem Handgriff das Apparatchen vom Ocular entfernen und frei in's Mikroskop blicken zu können, bewegt sich das Ganze in einem drehbaren Zapfen (*Z*) und ist mit einer Einschnappvorrichtung (*E*) versehen¹⁾.

Zur Beleuchtung benützte ich einen Gasrundbrenner, dessen Cylinder aus einer weissen bodenlosen Thonzelle, wie man solche zu galvanischen Elementen verwendet, bestand, und der aussen noch mit einem Cylinder aus Schwarzblech umgeben war. Eine runde Oeffnung von circa 1 cm Durchmesser liess die Flamme sehen, und bildet dann in der Entfernung von 1 m eine gute Lichtquelle. Es ist aber für die meisten Zwecke diese Vorrichtung unnöthig, die ganz gewöhnliche Beleuchtung des Mikroskopes mit Himmelslicht und Concavspiegel zeigt die Erscheinungen, besonders wenn man das Mikroskop in einiger Entfernung vom Fenster aufstellt, vortrefflich, ja in gewisser Beziehung besser, weil die bei Benutzung des Lichtpunktes auftretenden Beugungserscheinungen wegfallen. Die beigelegten Abbildungen von Blutkörperchen sind bei gewöhnlicher Beleuchtung mit Tageslicht und Hohlspiegel gezeichnet.

Bei starken Vergrösserungen (über Hartnack Obj. VIII) werden die Bilder zu lichtschwach. Ich versuchte in diesen Fällen elektrische Beleuchtung anzuwenden. Glühlampen gewöhnlicher Art (von der Construction Swan) geben, wie zu erwarten war, keine nennenswerth grösseren Helligkeiten als Gaslicht, und eine Bogenlampe gab zwar auch für die stärksten Wasserimmersionen

1) Der Apparat wird vom Mikroskopfabrikanten Karl Reichert in Wien für den Preis von circa 19 fl. ö. W. geliefert.

(Hartnack XV) genügend Licht, doch sind die Beugungserscheinungen dann schon so störend, dass wenigstens in dieser Form an eine praktische Verwerthung des Bogenlichtes nicht gedacht werden kann.

Die vorliegende Mittheilung war schon abgeschlossen, als ich eine Abhandlung Töpler's¹⁾ fand, in welcher er sein Princip der Schlierenbeobachtung auf das Mikroskop anwendete. Seine Vorrichtung, im Constructionsplan mit der meinen übereinstimmend, unterscheidet sich von dieser besonders dadurch, dass er den Schirm nicht über dem Ocular, sondern entsprechend dem andern Vereinigungspunkt der Strahlen über dem Objectiv, also an der Stelle *p* des Holzschnittes Fig. 1, einschiebt. Es geschieht dieses mit Hülfe eines Zwischenstückes, das oberhalb des Objectivsystemes eingeschaltet wird. Der Schirm ist nicht nach auf- und abwärts verschiebbar, vielmehr geschieht die Einstellung, welche ich durch Schraube *C* (Fig. 2) besorge, durch Verschiebung der im Objecttisch angebrachten Blendung.

Ich zweifle nicht, dass diese Einrichtung vortreffliche Dienste leistet. Auch ich habe ursprünglich den Schirm am ersten Vereinigungspunkt der Strahlen angebracht, habe aber später die andere Form gewählt, weil mir diese handlicher und zu meinen Zwecken geeigneter erschien. Töpler war es nur darum zu thun, den Effect der schiefen Beleuchtung in vollkommenerem Masse zu erzielen und Bilder zu erhalten, in welchen sich die Aenderungen der optischen Dichtigkeit deutlich aussprachen; mir war die Verwendung als Refractometer die Hauptsache, und dazu ist es nöthig, dass man mit einem Handgriff den Apparat ein- und ausschalten, dass man den Schirm um die Axe des Mikroskopes drehen kann (Töpler muss den ganzen Tubus drehen), dass man beliebige Linsen verwenden (bei Töpler muss jede Objectivlinse mit der Vorrichtung versehen werden) und dieselben leicht wechseln kann. Diese und einige andere Unbequemlichkeiten dürften den von Töpler angegebenen Vortheil der besseren Bilder aufheben. Um wieviele die Bilder bei Ablendung am unteren Vereinigungspunkte vollkommener sind, kann ich freilich nicht angeben, denn

1) Ueber die Methode der Schlierenbeobachtung als mikroskopisches Hilfsmittel, nebst Bemerkungen über schiefe Beleuchtung. Poggend. Annal. Bd. 27, pag. 556.

ich habe nur mit einem provisorisch zusammengestellten Apparat dieser Art gearbeitet; hierbei habe ich allerdings keinen Unterschied zu Ungunsten meiner Vorrichtung bemerkt. Auch sind die Bilder, die ich erhalte, so gut, dass sie bei den Vergrößerungen, mit denen hier überhaupt gearbeitet werden kann, kaum etwas zu wünschen übrig lassen.

Unzweifelhaft ist aus Töpler's Beschreibung zu ersehen, dass die Wirkung seiner Vorrichtung bei Weitem den bis dahin üblichen Arten schiefer Beleuchtung überlegen war, und es muss auffallen, dass seine Empfehlung letztere durch Anwendung dieser Vorrichtung zu substituiren, so wenig Beachtung fand.

So frappirend nun auch die Relief-Effecte des Apparates in vielen Fällen z. B. bei Blutkörperchen, Muskelfasern u. s. w. sind, so glaube ich doch, dass der geübte Mikroskopiker, wenn es sich ihm um die Feststellung einer Form handelt, nur bei ganz besonderen Objecten Nutzen aus dem Apparate ziehen wird. Die Ursache davon liegt in Mancherlei. In Fig. 1 *B* habe ich absichtlich ein Froschblutkörperchen abgebildet, das zwei Alveolen enthält. Sie erscheinen im entgegengesetzten Relief wie das Blutkörperchen selbst, also wie Gruben im Blutkörperchen, weil sie einen geringeren Brechungsindex haben als dieses. Hier ist die Deutung der scheinbaren Vertheilung von Licht und Schatten leicht, nicht so in manchen anderen Fällen, in welchen man im Zweifel bleiben kann, ob ein Lichteffect auf einer Differenz im Brechungsindex oder in der Dicke des Objectes beruht. Von einem Beispiel dieser Art soll alsbald die Rede sein. An Schnittpräparaten stört die Unebenheit ihrer Begrenzungsflächen.

Anders ist es bei der

Verwendung des Apparates als Refractometer.

Um seine Empfindlichkeit zu prüfen, stellte ich mir zwei Flüssigkeiten von nahezu gleichem Brechungsindex her. Die eine bestand aus einem Gemenge von gereinigtem Olivenöl mit Ethylenchlorid und hatte einen Brechungsindex

$$n = 1,4672;$$

die andere aus mit Wasser verdünntem Glycerin

$$n = 1,4669.$$

Macht man aus diesen Flüssigkeiten eine Emulsion, so sind die Tropfen derselben bei Untersuchung mit dem gewöhnlichen

Mikroskope nur mit sehr zarten Contouren zu sehen. Mit dem Refractometer erscheint jeder Tropfen als eine deutliche, von einer Seite her beleuchtete Kugel und man überzeugt sich auf den ersten Blick von dem Unterschiede zwischen ihrem Brechungsindex und dem der Umgebung. Es sind nämlich die Tropfen scheinbar auf derselben Seite, auf welcher sich der Schirm des Apparates befindet hell, auf der entgegengesetzten dunkel, wenn der Tropfen stärker bricht als die Flüssigkeit in der er suspendirt ist, und umgekehrt, wenn er schwächer bricht als diese. Auch als ich den Brechungsindex des Glycerines bis auf

$$n = 1,4671$$

steigerte, konnte man nicht einen Moment im Zweifel sein, welche der beiden Flüssigkeiten stärker breche.

Hierzu ist jedoch zu bemerken, dass die angeführten Brechungsverhältnisse der Flüssigkeiten mit Abbe's grossem Refractometer¹⁾ gemessen wurden und dieses Instrument die Grenze seiner Leistungsfähigkeit in der vierten Decimalstelle hat, derart, dass ich Fehler bis zu 3 Einheiten derselben machen kann²⁾. Die obigen, sowie alle folgenden Angaben von n sind das Mittel aus mehreren Ablesungen. Ferner habe ich zwar Flüssigkeiten gewählt, deren gegenseitiges Lösungsvermögen ein Minimum ist, doch ist es nicht undenkbar, dass sie bei der Bildung der Emulsion ihr n um eine hier schon in Betracht kommende Grösse verändert hätten. Wie dem immer sei, bei den schlagenden Resultaten, welche der Apparat noch gibt, wenn die Brechungsverhältnisse der beiden Flüssigkeiten, soweit es die Messungen mit Abbe's Refractometer gestatten, einander so nahe als möglich gebracht sind, überschätze ich die Empfindlichkeit sicher nicht, wenn ich sie auf einige Einheiten der vierten Decimale angebe.

Die Messung des Brechungsindex eines mikroskopischen Objectes geschieht nun, indem man eine Flüssigkeit herstellt, welche eben noch stärker und eine andere, die eben noch schwächer bricht als das Object. Die Brechungsverhältnisse dieser Flüssigkeiten müssen dann (am bequemsten mit Abbe's grossem Refractometer)

1) Neue Apparate zur Bestimmung des Brechungs- und Zerstreuungsvermögens fester und flüssiger Körper. Jena 1874.

2) Vergl.: v. Fleischl, die doppelte Brechung des Lichtes in Flüssigkeiten. Wiener akad. Sitzber. Bd. 90. II. Abth. Oktob. 1884.

meter, der bei seiner Billigkeit und Vortrefflichkeit ohnehin in den meisten Laboratorien vorhanden sein dürfte und bei welchem eine Messung kaum mehr als eine Minute erfordert) bestimmt werden.

Je nach der Natur des Objectes wird man verschiedene Flüssigkeiten verwenden und dafür sorgen, dass man durch Mischung je zweier Flüssigkeiten eine Scala herstellen kann. Dabei ist es möglich, über jene Genauigkeit hinauszugehen, welche das Abbe'sche Instrument erlaubt, indem man sich noch Mischungen herstellt, welche zwischen den gut gemessenen Grenzwerten liegen und ihren Brechungsindex entweder berechnet¹⁾ oder sich durch eine Anzahl von Messungen verschiedener Concentrationsgrade dieser Flüssigkeit eine Curve construirt, welche die Aenderung des Brechungsindex bei Zusatz des einen Bestandtheiles anzeigt. Man kann dann interpoliren. Eine derartige Curve, die ich für ein Glycerin-Wasser-Gemisch hergestellt habe, zeigte mir, dass man innerhalb der engen Grenzen, um die es sich in einem solchen Falle handelt, die Aenderung des Index proportional dem Zusatz der einen Flüssigkeit annehmen kann.

Ich führe am Schlusse eine Anzahl von Flüssigkeiten mit ihrem Brechungsindex an, die ich bisher in Gebrauch gezogen habe.

In Bezug auf die Verwendung von mit Wasser unmischbaren Flüssigkeiten bei frischen Geweben, in welchen ein Organtheil also von einer Schicht Gewebeflüssigkeit umgeben zu sein pflegt, sei hervorgehoben, dass, sobald diese Schicht nur hinlänglich dünn ist, sie auf den Verlauf der Strahlen keinen merklichen Einfluss übt. Es ist dies einem bekannten dioptrischen Gesetze für Kugelflächen analog²⁾.

Es ist nun leicht z. B. den Brechungsindex lebender Muskelfasern zu messen, das Nähere hierüber soll in der erwähnten späteren Mittheilung besprochen werden; ein Blick auf einen Schnitt durch den Kopf des Frosch-Femurs genügt, um zu erkennen, dass die Grundsubstanz stärker bricht als die Knorpelzellen; ein Beispiel einer ausgeführten Messung will ich aber etwas näher besprechen.

1) Vergl. Landolt, Poggend. Ann. Bd. 123. pag. 623. 1864.

2) Vergl. Helmholtz physiol. Optik. pag. 60.

Bei Gelegenheit meiner Untersuchung „über das Sehen von Bewegungen und die Theorie des zusammengesetzten Auges“¹⁾ war mir darum zu thun, die optischen Constanten eines Insektenauges zu ermitteln. Ich berechnete den Brechungsindex der Cornea des *Hydrophilus piceus* aus der Lage des optischen Bildchens, welches eine Façette entwarf; den Brechungsindex des Glaskegels zu bestimmen hatte ich kein Mittel. Ich setzte ihn damals gleich dem der Cornea. Es war mir jetzt interessant nachzusehen, wie weit die directen Messungen mit jenen unvollkommenen Bestimmungen und Annahmen coincidiren.

Was zunächst den Glaskegel anbelangt, so fand ich denselben, frisch in einem Gemenge von Anilin und Olivenöl untersucht, von einem Brechungsindex

$$n < 1,5612$$

$$n > 1,5567.$$

Genauer liess sich die Bestimmung deshalb nicht ausführen, weil n der verschiedenen Kegel nicht ganz gleich war. Ja es fanden sich Kegel, für welche der Werth $n = 1,5612$ noch zu klein, und andere für welche $n = 1,5567$ schon zu gross schien. Die Genauigkeit der Messung geht hier also über die Gleichmässigkeit, welche die Natur, mit oder ohne functionelle Bedeutung, den Gebilden gegeben. Man wird also nicht viel fehlgehen, wenn man als Durchschnittswerth für den Krystallkegel des *Hydrophilus*-auges setzt

$$n = 1,559.$$

Auffallend ist, wie wenig sich das Brechungsverhältniss dieser hornartigen Masse ändert, wenn die Thiere Monate lang in Alkohol liegen. An solchen fand ich

$$n > 1,5536$$

$$n < 1,5734.$$

Complicirter sind die Verhältnisse in der Hornhaut des *Hydrophilus*. Jede Façette derselben besteht aus einem soliden Chitincylinder, der vorn durch eine Fläche begrenzt wird, deren Krümmung die des mit freiem Auge sichtbaren Organes ist. Ihr Krümmungshalbmesser ist für die verschiedenen Abschnitte des Auges nicht genau gleich und beträgt in einem bestimmten Falle 1,44 mm. Der Krümmungshalbmesser der hinteren gegen den

1) Sitzbr. d. Wiener Akad. d. W. Bd. 72. 1875.

Krystallkegel kuppelartig vorspringenden Fläche ist 0,013 mm ¹⁾. Vergl. Fig. 2, Taf. IV.

Legt man eine solche Cornea, nachdem sie mit dem Pinsel von den anhaftenden pigmentirten Theilen und von den Krystallkegeln gereinigt ist, auf einen durchbohrten Objectträger, so dass die vordere Fläche an Luft, die hintere an Wasser grenzt, so entwirft jede Façette ein mikroskopisches Bildchen. Aus der Entfernung dieses Bildchens von der hinteren brechenden Fläche habe ich (l. c.) den Brechungsindex der Substanz berechnet, aus welcher die Hornhautfaçette gebildet ist. Ich fand die enorm grosse Zahl $n = 1,82$.

Als ich nun mit dem Mikrorefractometer den Brechungsindex direct maass, fand ich diese Zahl falsch — und doch waren meine früheren Rechnungen und Messungen richtig. Die Erklärung hierfür liegt in einem eigenthümlichen dioptrischen Bau der Corneafaçette, durch welche sie eine viel geringere Brennweite hat, als ihr, entsprechend dem Brechungsindex und ihren brechenden Flächen, zukäme; sie steht dadurch in gewisser Analogie zur menschlichen Linse.

Bei der Bestimmung des Brechungsindex der Cornea ²⁾ verfuhr ich in folgender Weise. Mir war darum zu thun, auch zu sehen, ob die vorderen und hinteren Schichten gleiches Brechungsvermögen haben. Deshalb kappte ich von einer Cornea mit dem Rasirmesser ein rundliches Stück ab, und fertigte dann einige Schnitte an, welche dadurch ringförmig wurden, dass die Schnittflächen senkrecht auf den Krümmungsradius des abgekappten Stückes waren. Der äussere Rand des Ringes war demnach durch die äusseren Hornhautschichten gebildet, der innere durch die kuppelartigen Enden der Façetten, von denen an jedem Schnitt mehrere waren, die die Gestalt einer gewöhnlichen planconvexen Linse hatten, und nur durch eine schmale Brücke noch mit dem übrigen Präparate zusammenbingen. An diesen konnte ich also Messungen ausführen. Indem ich dieselben Schnitte nacheinander in verschiedene Mischungen von Monobromnaphthalin und sogen.

1) Diese Maasse sind aus meiner schon citirten Abhandlung genommen.

2) Da die Krystallkegel ihren Index durch langes Liegen in Alkohol nicht veränderten, so durfte ich gleiches bei der Cornea voraussetzen, maass also an Alkoholpräparaten.

flüssigen Paraffin brachte, zeigte sich der Brechungsindex der Cornea

n	der äussersten u. innersten Schichten	$> 1,4712$ (Paraph. liquid. allein)
n	„ „ „ „ „ „	$< 1,6608$ (Monobrnaphth. allein)
n	„ „ „ „ „ „	$> 1,5005$
n	„ „ „ „ „ „	$< 1,6145$
n	„ „ „ „ „ „	$< 1,5907$
n	„ „ „ „ „ „	$< 1,5842$
n	„ „ „ „ „ „	$< 1,5727$
n	„ „ „ < der innersten merklich =	$1,5651$
n	„ „ < einzelner Façetten der innersten Schichten	$> 1,5582$
n	„ „ < der innersten Schichten	$> 1,5517$
n	„ „ Schichten im Blau des Sehfeldes spurweise < im Gelb merklich =, der innersten Schichten	$> 1,5470$
n	„ „ Schichten im Gelb des Sehfeldes > im Blau merklich =, der innersten Schichten	$> 1,5421$
n	„ „ „ und innersten Schichten	$> 1,5385$.

Man kann demnach den Brechungsindex für die äusseren Hornhautschichten $= 1,545$, für die inneren Schichten $= 1,565$ setzen. Der gefundene Unterschied muss nicht auf eine Zunahme des Brechungsvermögens von Aussen nach Innen der Gesamtcornea bezogen werden, es kann vielmehr sein, dass er auf einem nun zu besprechenden Umstande beruht.

Betrachtet man die Gesamtcornea mit dem Mikrorefractometer, während sie mit der concaven Fläche nach oben gewendet unter dem Mikroskop liegt, so dass man einen Theil der Façetten in der Richtung ihrer Axe vor sich hat, stellt auf die Façetten der hinteren Fläche ein, so stellen sich diese, in Wasser betrachtet, natürlich als stärker brechende Medien heraus: jede bildet eine Kreisfläche, die auf der Seite des Schirmes hell erscheint. Das kann von der Brechung an der stark gewölbten hinteren Façettenfläche herrühren. Bringt man nun die Cornea in eine Flüssigkeit die ebenso stark bricht wie die Cornea in ihren hintersten Schich-

ten, so gewahrt man aber noch dasselbe Verhalten gegenüber dem Refractometer, ja man sieht auch noch ein ziemlich gutes Bildchen, welches die Façette entwirft. Dasselbe ist in einer Mischung der Fall, welche stärker bricht als irgend ein Theil der Cornea (Anilin und Olivenöl $n = 1,5734$). Ja, brachte ich die Cornea in die stärkst brechende der mir zur Verfügung stehenden Flüssigkeiten, in eine Barium-Quecksilber-Jodidlösung ($n = 1,7783$), so zeigte sich immer noch dasselbe Verhalten, immer noch erscheint die Façette hell auf Seite des Schirmes, immer noch entwirft sie ein Bildchen, welches hinter (im Mikroskope über) der gekrümmten Fläche liegt. Da der Brechungsindex der Cornea nun gewiss kleiner ist als der der Umgebung, so sollte man erwarten, dass jede Façette als Zerstreuungslinse, nicht als Sammellinse wirke. Man kann weiter die hintere gewölbte Fläche der Façette (die vordere kommt hierbei gar nicht in Betracht) ganz wegschneiden, so dass man aus der Façette einen Cylinder mit ebener Basis angefertigt hat, und immer noch entwirft derselbe ein ziemlich gutes Bildchen, dessen Lage analog der Lage ist, welche das Bildchen einer Convexlinse einnimmt.

Wie aus den obigen Messungsversuchen hervorgeht, sind die Dinge ganz anders, wenn man nicht die Corneafaçette in ihrer ganzen Dicke, sondern nur ihren hintersten Abschnitt (als planconvexe Linse) unter dem Mikroskope hat. Hier geht also in der Substanz der Corneafaçette etwas vor sich, das zu einer Wirkung, welche der einer Sammellinse ähnlich ist, führt. Was das ist, erhellt aus dem optischen Verhalten einer Façette, welche einem dünnen Schnitt angehört (s. Fig. 2, Taf. IV), der parallel den Axen der Façetten durch die Cornea geführt ist. Mit dem Refractometer erscheint jeder Façettencylinder wirklich wie ein von der Seite beleuchteter Cylinder auf der einen Seite hell, auf der anderen dunkel. Was hier vorliegt ist aber kein Cylinder, die begrenzenden Schnittflächen sind vollkommen eben, die Striemen, welche das Messer an denselben zurückgelassen hat, zeigen das auf das deutlichste. Es wird nicht nöthig sein die Frage zu discutiren, ob die Hornhautfaçetten Cylinder sind, welche eine ihrer eigenen ähnliche Masse in ihren Zwischenräumen bergen, oder ob sie sechsseitige Prismen sind, also keine Zwischenräume zwischen sich haben, jedenfalls ist keine merklich anders brechende Substanz in der ganzen Cornea zu finden. Wenn sie sich also, selbst

an Schnitten die dünner sind als ein Façettencylinder, dem Mikrorefractometer gegenüber wie Cylinder verhalten, so kann das nicht an ihrer Gestalt liegen. Sie behalten ihr Aussehen, auch wenn man sie in Schwefelkohlenstoff ($n = 1,6306$) legt.

Das geschilderte optische Verhalten der Corneafaçetten erklärt sich unter der Annahme, dass der Brechungsindex derselben von aussen nach innen zunimmt. Sie sind zu betrachten als aus conaxial in einandergesteckten Cylindern bestehend, deren innerster den stärksten Brechungsindex hat, und die äusseren successive kleinere. In der histologischen Structur braucht das natürlich nicht ausgedrückt zu sein, da die optische Dichtigkeit stetig zuzunehmen scheint.

Ich sehe in diesem Bau der Corneafaçette eine weitere Einrichtung¹⁾ der Natur, möglichst viele jener Strahlen, die von einem in der Axe der Façette gelegenen Punkte ausgehen, an der Spitze des Krystallkegels zu vereinigen, also beim Sehaect zu verwerthen.

Es ist nämlich einleuchtend, dass ein System ineinandergeschachtelter Cylinder, deren Brechungsindex in der geschilderten Weise gegen die Axe hin zunimmt, einen Strahl im Allgemeinen der Axe zuführen muss²⁾. So wird es verständlicher, dass das Bildchen einer Hornhautfaçette näher liegt, als es den Krümmungen und dem Brechungsindex derselben entspricht, ja dass überhaupt noch reelle Bildchen zu Stande kommen, wo die Krümmungen im Sinne von Concavlin sen wirken, oder wenn die Krümmung der hinteren Fläche durch eine Schnittebene ersetzt ist.

Wie nun die Zeichnung (Fig. 2) ohne Weiteres ergibt, so ist in den äussersten Theilen der Hornhaut die Schichtung nur andeutungsweise vorhanden, erst im hinteren Antheile wird die Zunahme des Brechungsindex nach der Axe der Corneafaçette deutlich. Da nun beim Abkappen der hinteren Wölbungen hauptsächlich die centraleren Partien derselben zur Beobachtung gelangen, so kann der oben gefundene Unterschied zwischen dem Brechungsvermögen der vorderen und hinteren Hornhautschichten auch als Unterschied zwischen den vorderen Schichten, und den centralen Theilen der Façette aufgefasst werden.

1) Ich habe auf diesen Punkt in der genannten Abhandlung aufmerksam zu machen gesucht.

2) Ich komme an anderem Orte auf diesen rein optischen Gegenstand zurück.

Die angeführten Beispiele mögen vorläufig genügen, um zu zeigen, dass das Mikrorefractometer für gewisse Zwecke ein nützliches Instrument sein kann, und das specielle Beispiel von der Hornhautfaçette, dass die Deutung des Bildes gelegentlich Vorsicht erheischt.

Die von mir bisher in Anwendung gezogenen Flüssigkeiten sind:

Farbloses Olivenöl	$n = 1,4730$
Terpentinöl	$n = 1,4727$
Aethylenchlorid	$n = 1,4463$
Dickstes Glycerin	$n = 1,4688$
Wasser	$n = 1,3347$
Dickstes Vaseline	$n = 1,4731$
Gereinigtes Olivenöl	$n = 1,4727$
Flüssiges Paraffin	$n = 1,4712$
Paraglobulin in wenig 1% ClNa-Lösung aufgelöst	$n = 1,3607$
Leim bei circa 20° flüssig	$n = 1,3463$
Colloide Flüssigkeit aus einer Ovariencyste . . .	$n = 1,3657$
Synovialflüssigkeit	$n = 1,3438$
Hühnereiweiss ¹⁾ frisch	$n = 1,3590$
„ „	$n = 1,3625$
„ „	$n = 1,3612$
„ „	$n = 1,3640$
Das letztgenannte Hühnereiweiss 1—3 Tage unter dem Recipienten der Luftpumpe mit Schwefelsäure gestanden	$n = 1,4053$
Anilin	$n = 1,5803$
Pseudofibrin in wenig Wasser und Natronlauge aufgelöst	$n = 1,3470$
Ein zweites Mal dasselbe	$n = 1,3457$
Auflösung von Mucin (aus Schnecken bereitet) . .	$n = 1,3405$
Lösliche Stärke	$n = 1,3758$
Benzaldehyd	$n = 1,5494$
Monobromnaphthalin	$n = 1,6608$
Cadmium borowolframicum	$n = 1,6066$

1) Das dicke in der Nähe des Dotters hat so nahe gleiches Brechungsvermögen, wie das dünne aus der Peripherie des Eies, dass die Differenzen innerhalb der Ablesungsfehler fallen.

Cuminaldehyd	$n = 1,5147$
Schwefelkohlenstoff	$n = 1,6306$
Barium-Quecksilber-Jodidlösung	$n = 1,7783^1)$

Diese Zahlen sind mit Abbe's Refractometer gefunden, beziehen sich also auf die *D*-Linie.

Auf die Temperatur habe ich keine Rücksicht genommen, doch sind die Messungen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von ca. 20° C. ausgeführt.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel IV.

- Fig. 1. A. Rothe und ein weisses Blutkörperchen vom Menschen, B ein rothes vom Frosche, das zwei Vacuolen enthält, mit dem Mikro-Refractometer gesehen. Die Farben des Sehfeldes sind nicht wiedergegeben. Gez. bei Hartn. Obj. VIII. Oc. 3.
- Fig. 2. Ein dünner Schnitt durch die Cornea von *Hydrophilus piceus* mit dem Refractometer betrachtet. Die scheinbar cylindrische Wölbung der einzelnen Facetten rührt von der Zunahme des Brechungsindex gegen die Axe her.

1) Mit dem Abbe'schen Refractometer wegen zu hohen Brechungsvermögens nicht mehr bestimmbar; nach einer Bestimmung mit dem Hohlprisma.

Fig. 1A.

Fig. 1B.

Fig. 2.