

Methode voor het copiëren van microscopbeelden

door

M. A. BOUMAN en P. B. ROEST

(Werkgroep Waarneming Rijksverdedigingsorganisatie T.N.O.)

Inleiding

Een veel voorkomende behoefte bij het microscopiseren is het vastleggen van het waargenomene. Slechts in zeer speciale gevallen fotografeert men het beeld, dat dan hiervoor voldoende lichtsterk moet zijn. Voor eenvoudiger werk wordt het beeld op een naast het microscop gelegen tekenvlak gecopiëerd; althans de markante contouren ervan of het overige dat voor het onderzoek van belang is. Zonder gebruik van speciale hulpmiddelen komt het eigenlijk hierop neer, dat de waarnemer beurtelings in het microscop kijkt en op het tekenvlak en dus bij het tekenen min of meer op zijn geheugen werkt.

Met in de handel verkrijgbare speciale accessoires kan men het copiëren vaak beter doen.

De eenvoudigste manier is: met een hulpspiegeltje, dat aan de oculairbuis wordt bevestigd, het microscopbeeld op het tekenvlak te projecteren. Hiermede moet in een verduisterd vertrek gewerkt worden. Een zwakke hulpverlichting van het tekenvlak om de tekenstift en het reeds gecopieerde stuk van het beeld goed te kunnen zien, is dan nodig, evenals een extra sterke verlichting van het object in het microscop. Bij deze copiermethode is het oog van de waarnemer niet aan de apparatuur gebonden; men kijkt vrij met beide ogen naar het tekenvlak, waarop een reëel beeld van het object is geprojecteerd.

Een iets ingewikkelder methode is het gebruik van een tekenprisma, waarbij het vertrek onverduisterd kan blijven. In principe bestaat het uit een halfdoorlaatbare spiegel, die onder een hoek van 45° direct op de uittree-opening van het oculair wordt geplaatst. Kijkt men nu in het microscop, dan ziet men door de spiegel heen het object en daaroverheen gesuperponeerd via reflectie aan de spiegel het tekenvlak. Meestal is in deze tweede bundel een volledig reflecterende vlakke oppervlakte-spiegel opgesteld om een geschikte ligging van het tekenvlak te verkrijgen. De halfdoorlaatbare spiegel boven het oculair is om overbodige reflecties te voorkomen samengesteld uit twee met de grote vlakken tegen elkaar geplaatste 45° prisma's. Deze grote vlakken zijn halfspiegelend gemaakt. Deze tweede methode is in eenvoudige en zeer ingewikkelde uitvoeringsvormen verkrijgbaar. Plaatsing van het oog ten opzichte van de apparatuur is gefixeerd.

Zie overigens de figuren 1, 2 en 3, waarin deze methoden en uitvoeringen schematisch zijn weer-gegeven.

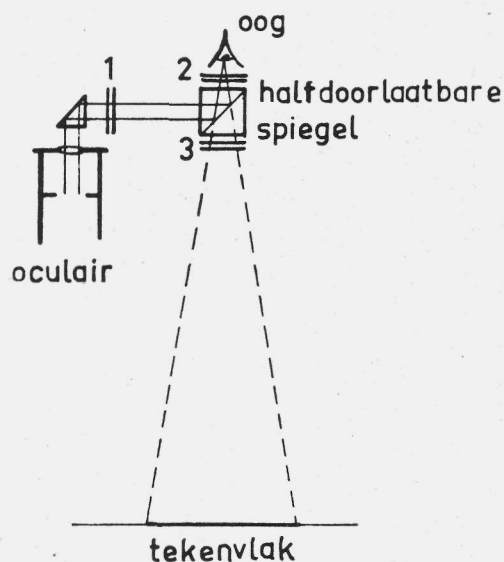
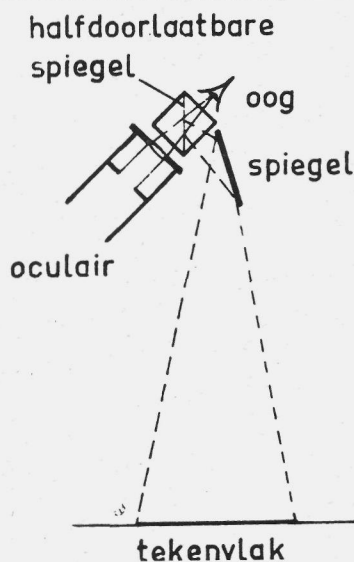
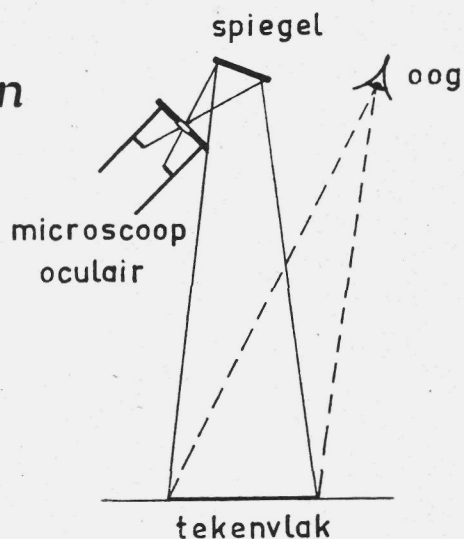
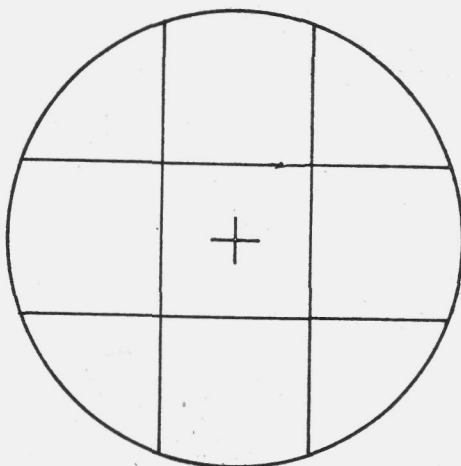
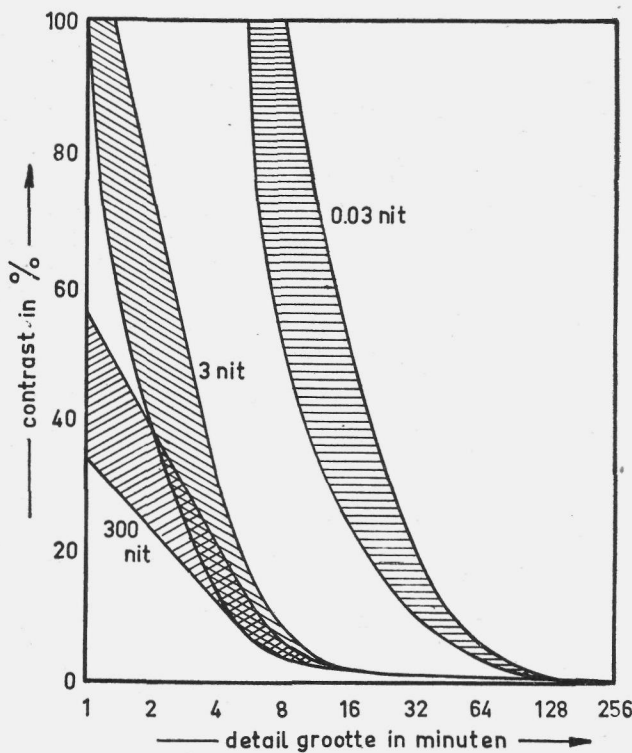
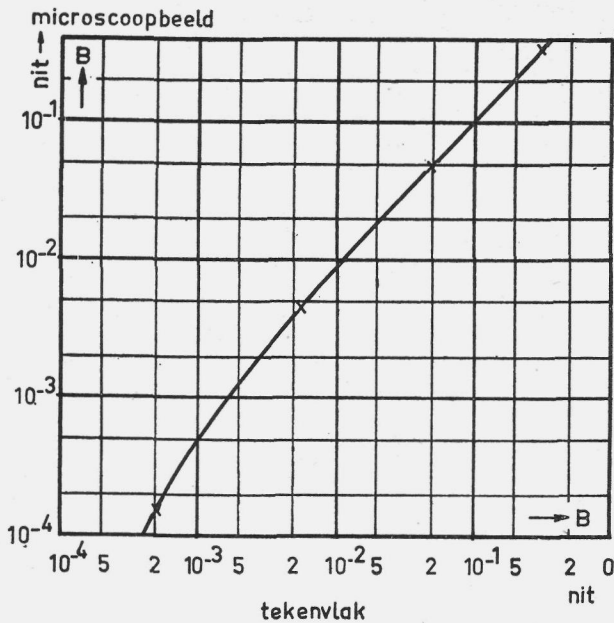


Fig. 1, 2 en 3. Schematische voorstelling van beschreven methoden voor het copiëren van een microscopbeeld. [1, 2 en 3 in fig. 3: polaroid-verzwakkers.]



Volgens de beschreven methoden wordt in één of in beide ogen aan de afbeelding van het object op het netvlies toegevoegd de afbeelding van het tekenvlak. Dit vlak kan niet onbelicht blijven; waarneming van het getekende en van de tekenstift moet mogelijk zijn. Over het beeld van het object wordt dus noodzakelijkerwijze een homogene verlichting gesuperponeerd. Men behelpt zich door de helderheden van beeld en tekenvlak zó in te stellen, dat een zo gunstig mogelijke totaalindruk verkregen wordt. Onderstellen we, dat zeer zwaar getekend wordt — bv. zwarte lijnen van 0,5 mm dikte op ca 30 cm afstand van het oog — dan is globaal in figuur 4 voor iedere helderheid van het tekenvlak de maximaal toelaatbare gemiddelde microscoophelderheid gegeven voor het goed waarneembaar zijn van de lijnen. De verliezen in de halfdoorlaatbare spiegel laten we even buiten beschouwing. In de figuur hebben dus de helderheden rechtstreeks betrekking op de visuele waarneming.

In figuur 5 is voor een paar van deze combinaties van helderheden uit figuur 4 het benodigde contrast in het microscoopbeeld gegeven als functie van de grootte van het in dit beeld waar te nemen detail. Voor ieder van de drie aangegeven helderheden van het tekenvlak zijn bij optimale instelling alle combinaties van contrast en detailgrootte boven de desbetreffende curve in de figuur in het object waarneembaar. In figuur 5 geven de gearceerde stroken de combinaties contrast en detailgrootte aan, die zelfs bij de gunstigste situatie in het object onzichtbaar worden bij gebruik van de gegeven copieermethoden.

De curven uit de figuren zijn gebaseerd op scherpe contouren tussen detail en omgeving en op het tekenen van diepzwarte lijnen van 0,5 mm dikte op 30 cm afstand. Voor continu verloopende contrasten in het object en dunnere niet diepzwarte tekenlijnen worden de gearceerde gebieden uit figuur 6 belangrijk groter.

Toepassing van een tekenapparaat voor het kopiëren van het object overeenkomstig de figuren 1, 2 en 3 maakt dus het microscoopbeeld geheel of gedeeltelijk onzichtbaar. Natekenen op het geheugen zou in deze gevallen dus overblijven. Dit gaat met zo'n apparaat wel iets gemakkelijker dan zonder. In een verduisterd vertrek kunnen object en tekenvlak periodiek beurtelings verduisterd worden. Men kijkt dan hierdoor zonder het oog te verplaatsen dus beurtelings naar object en tekening. De gelijktijdige waarneming van object en tekening is uiteraard niet te realiseren en het blijft natekenen op het geheugen.

Het is mogelijk, volgens een andere methode de gewenste gelijktijdige waarneming in deze gevallen toch te verkrijgen. Bij deze methode wordt gebruik gemaakt van het inzicht, dat hetgeen met één oog zichtbaar is ook zichtbaar kan zijn bij gelijktijdige waarneming van een ander beeld met het andere oog. De tot deze conclusie leidende metingen werden eerder beschreven ²⁾.

Fig. 4. Samenhang van de goede waarneembaarheid met de helderheid van tekenvlak en microscoop. — Fig. 5. Het contrast in het microscoopbeeld als functie van de grootte van het waar te nemen detail. — Fig. 6. Fixatiefiguur.

Gelijktijdige waarneming van het object met het ene en van het tekenvlak met het andere oog

Wanneer we iets fixeren bij normale binoculaire waarneming, worden de oogassen op het betrokken object gericht en daarbij gelijktijdig de ooglenzen zo gesteld, dat het in de corresponderende netvliescentra scherp wordt afgebeeld.

Kijken we nu in een overigens lege ruimte naar een fixatiefiguur, zoals in figuur 6 is aangegeven. Bij fixatie met het linkeroog van een punt in het vlak van deze figuur zal ook het rechteroog op dit punt gericht zijn, indien voldoende dicht bij dit punt geschikt gevormde delen van de fixatiefiguur aanwezig zijn.

Bijvoorbeeld zal een dicht bij dit punt geplaatste verticale lijn dubbel gezien worden bij een onjuiste hoek tussen de oogassen. Een naburige horizontale lijn wordt dubbel gezien, indien de oogassen niet in één vlak liggen. Zodra dit dubbelzien optreedt, wordt deze afwijking min of meer reflexmatig met de oogspieren gecorrigeerd. Deze lijnen van de fixatiefiguur moeten niet te ver van het waar te nemen punt af liggen, daar ver buiten het centrale deel van het netvlies dubbele beelden moeilijker te onderkennen zijn en dit dus ook minder spontaan een correctie — ook wel fusiereflex genoemd — opwekt.

De onderlinge afstand van de lijnen moet dus niet te groot, maar ook niet te klein worden gekozen. Is de afstand kleiner dan mogelijke afwijkingen in de stand van de assen, dan bestaat de mogelijkheid, dat niet corresponderende lijnen gefuseerd worden. Dit kan voorkomen worden door onregelmatige afstanden te gebruiken of gelijke afstanden van ge-

schikte grootte te nemen. Een regelmatige verdeling van vierkante cellen met zijden van 5 à 8 graden bv. is voldoende. Met zo'n figuur is dus bereikt, dat bij fixatie van een bepaald punt in het figuurvlak met het ene oog de oogas van het andere oog naar dezelfde plaats wijst. Uiteraard kan hierbij de afbeelding van de figuur op het ene netvlies bv. verkregen worden door in het oculair van het microscoop overeenkomstig het gebruik van een oculairmicrometer een transparant perspexplaatje met daarin de fixatiefiguur gekrast te plaatsen. Op het netvlies van het andere oog, dat het tekenvlak waarneemt, kan nu — hetzij door aanbrengen op het tekenvlak zelf, hetzij door zichtbaarmaken via een half-doorlaatbaar spiegeltje — eveneens de corresponderende figuur geprojecteerd worden.

Bij erg donkere microscoopbeelden kunnen de fixatiefiguren zelflichtend gemaakt worden door de perspexplaatjes — dan ook voor het tekenoog in ieder geval zichtbaar via een half-doorlaatbaar spiegeltje — aan de zijkanten te verlichten, zodat door inwendige totale reflectie in de plaatjes de lijnen zichtbaar worden. Voor voldoende heldere microscoopbeelden wordt de verlichting uitgeschakeld. Het microscoop oog ziet de krasjes in perspex dan donkerder dan het beeld. Voor het tekenoog wordt de figuur nu in zwarte lijnen op het tekenvlak aangebracht.

In de figuren 7 en 8 zijn diverse details verder uitgewerkt.

In principe is hiermede de mogelijkheid verkregen, in de binoculaire perceptie via deze apparatuur object en tekening gelijktijdig waar te nemen. Waarneembare details in het object bij de daar heersende verlichtingssterkte kunnen zichtbaar zijn

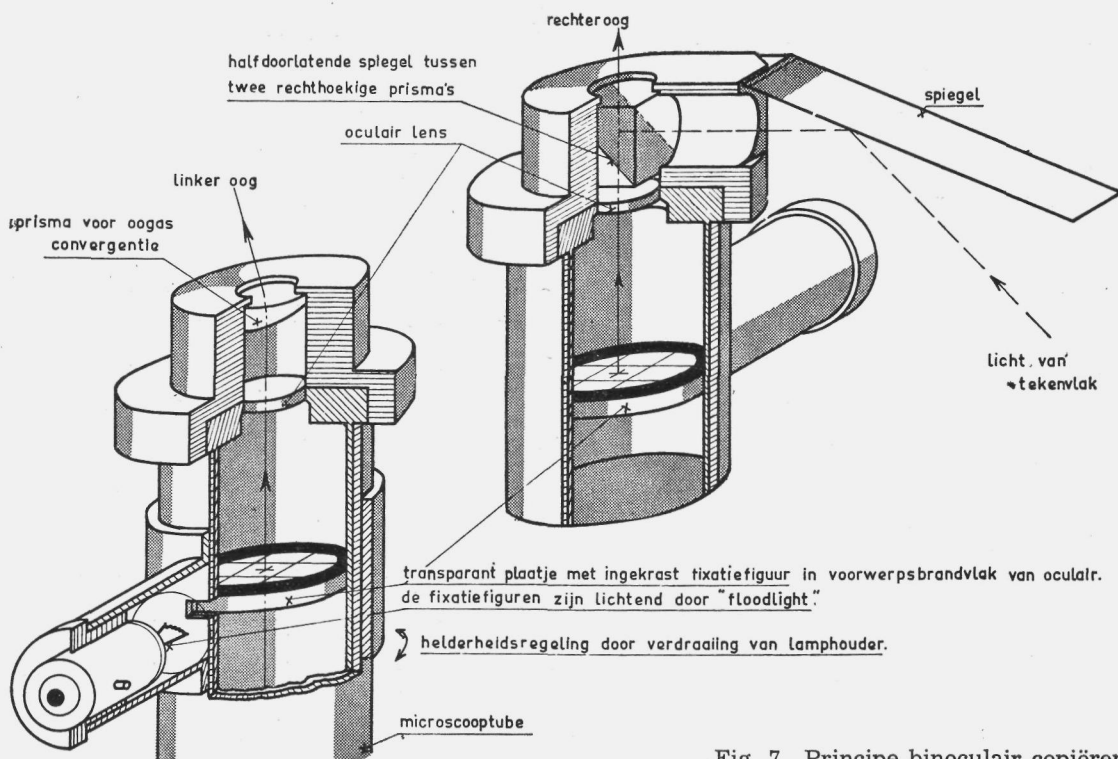


Fig. 7. Principe binoculair kopiëren.

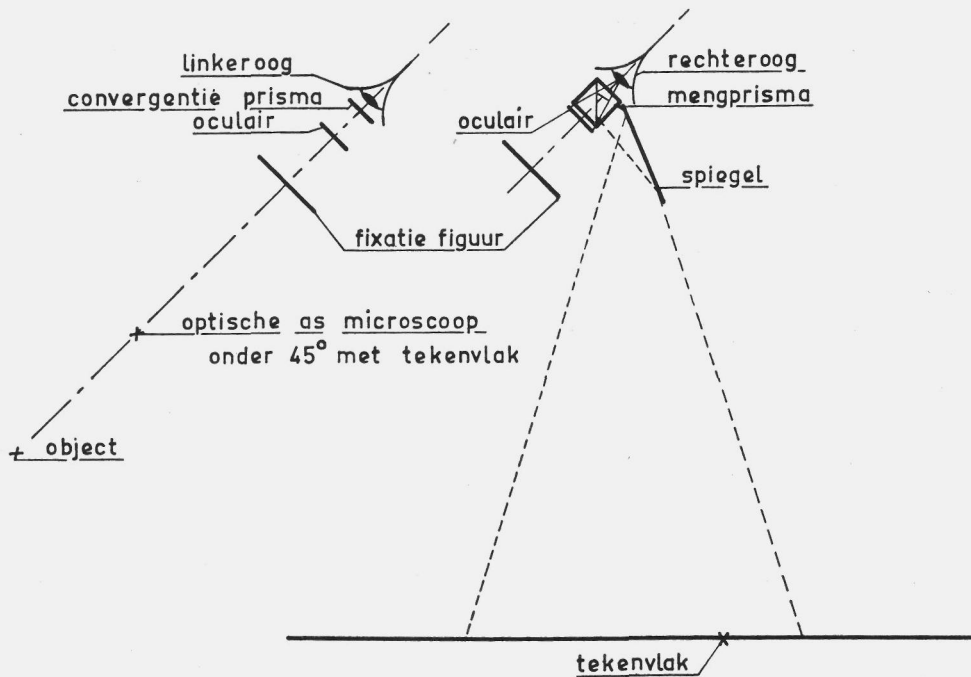


Fig. 8. Schema binoculaire waarneming.

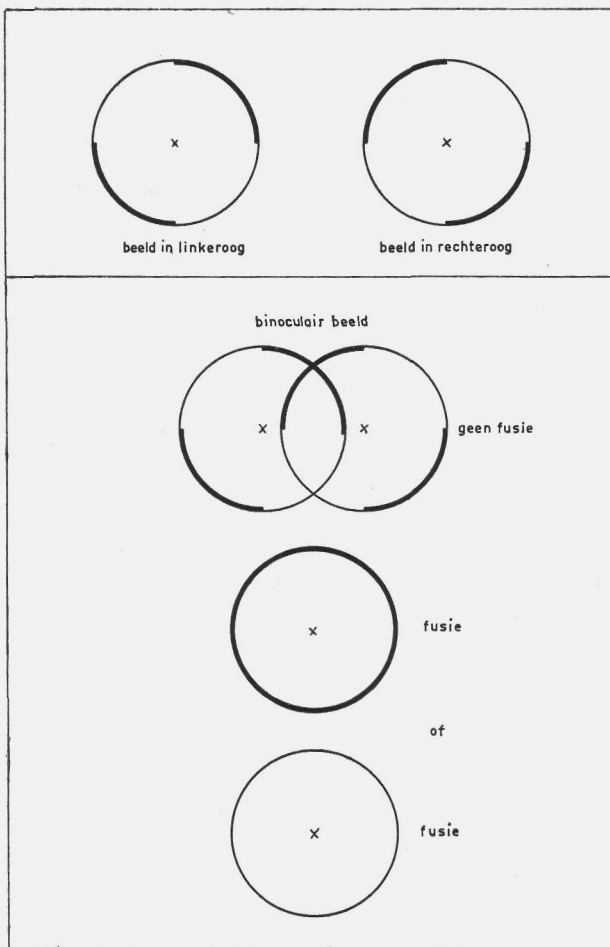


Fig. 9. Wisselende dominanties bij binoculair zien.

ongeacht de lichtsterkte van het tegelijk waargenomen tekenvlak.

Bij het gebruik van deze apparatuur valt het volgende verschijnsel als hinderlijk op: vooral wanneer de helderheden of kleuren in de beide ogen sterk verschillen, is de binoculaire perceptie zeer wisselend²⁾. In sommige delen van het gezichtsveld is de perceptie uitsluitend afkomstig van het ene oog, in andere delen van het andere en in het overige stuk van beide ogen. Deze plaatselijke dominanties wisselen voortdurend op zeer onregelmatige manier (zie figuur 9). Indien we nu op een bepaald deel van het object aan het tekenen zijn, kan op dat moment daar ter plaatse 1) dit deel van het object dominant zijn, waardoor hier niet getekend kan worden; 2) dit deel van het tekenvlak dominant zijn met hetzelfde gevolg, of 3) kunnen object en tekenvlak aan de perceptie meedoen. Indien geval 3 gerealiseerd is, worden alle zichtbare details uit beide ogen afzonderlijk, ongeacht de onderlinge helderheden, gelijktijdig waargenomen, zodat alles gecopieerd kan worden.

Het wisselen van de optredende dominantie-effecten kan door de waarnemer niet zonder meer onderdrukt of beïnvloed worden. Uit het eerder gerefereerde onderzoek is echter bekend, dat de dominantie van het ene oog op een bepaalde plaats opgeheven kan worden door een verandering in de stimulus op de corresponderende plaats in het andere oog. In dit geval kan men bv. veelal door het microscoopog één of meermalen dicht en open te doen het te kopiëren deel van het object in de binoculaire perceptie weer laten verschijnen, of door de verlichting van het object enige malen flink te

(Slot →)

Mededelingen

Waterontzouting

Het T.N.O.-onderzoek over het ontzouten van water door middel van electro-dialyse zal in internationaal verband op grotere schaal worden voortgezet.

Ondernemers (manufacturers) van dit plan zijn Nederland, Engeland, Australië en Zuid-Afrika; ook de Verenigde Staten zullen waarschijnlijk deelnemen. Als belangstellend land (user) doet Frankrijk mee; met verschillende andere landen zijn nog besprekingen gaande. Er is een bestuur (steering committee) gevormd, waarvan het voorzitterschap en het secretariaat worden waargenomen door Dr Hamaker en Dr Wegelin van het *Centraal Technisch Instituut T.N.O.* te 's-Gravenhage.

Deze internationale samenwerking is tot stand gekomen doordat Nederland, na het probleem van de electro-dialytische ontzouting van brak water op verzoek van de Hydrologische Commissie T.N.O. enige tijd te hebben bestudeerd, de zaak aanhangig heeft gemaakt bij de O.E.E.C. in Parijs. Voor de bestudering van de ontzouting is toen een werkgroep in het leven geroepen, die het nummer 8 kreeg (W.P. 8).

Deze groep besloot, dat het geen zin had alleen aandacht te geven aan de *electrodialyse*, maar dat men deze ontzoutingsmethode op haar economische en technische merites zou moeten vergelijken met ontzouten door middel van *destillatie*, met ontzouten door middel van ionenuitwisselaars en met ontzouten eveneens door middel van destillatie doch met *de zon* als natuurlijke energiebron. Uit het overleg, dat hierop volgde en vrij lange tijd in beslag nam, bleek, dat deze ontzoutingsmethoden alle vier een aangewezen toepassingsgebied hebben.

Voor destillatie ligt dit toepassingsgebied bij water met een zoutgehalte groter dan het gehalte van zeewater, voor ionenwisselaars juist bij brak water met een zeer laag zoutgehalte, en voor electro-dialyse was tussen deze twee werkwijzen een breed terrein open. De destillatie met zonne-energie kan uit de aard der zaak alleen toepassing vinden in streken, die voldoende zonnewarmte ontvangen.

Hoewel de vier werkwijzen in principe dus ieder een eigen terrein hebben en voor elk van deze terreinen een internationale samenwerking tot stand zou kunnen komen, is bij de uitwerking hiervan in het algemeen weinig succes geboekt. Voor de toepassing van bepaalde methoden ter voorkoming van ketelsteen bij destillatie zal nog een zekere vorm van samenwerking tussen Nederland en Engeland tot stand komen, doch het enige grote succes is de *internationale samenwerking op het gebied van de electro-dialyse*, die in de aanhef van deze mededeling is vermeld.

De ervaring van Nederland op dit terrein is voortgekomen uit een onderzoek tijdens de oorlog, toen de toenmalige Technische Afdeling T.N.O. gesteld werd voor de vraag, *pepsine* te ontzouten. Na afloop van de oorlog was dit probleem niet belangrijk meer, doch had Nederland een groot *wei*-overschot. Men heeft toen getracht, de werkwijze toe te passen voor de ontzouting van *wei* en is hierin technisch ook wel geslaagd; het technische succes werd echter bereikt op het moment, waarop het *wei*-overschot was verdwenen. De betere economische positie van Nederland had namelijk een grotere import van voedergranen mogelijk gemaakt; dit graan dient in een zekere verhouding met *wei* gemengd als vee-

(Slot van 280:)

laten wisselen. Door tekenstift, hand of ander voorwerp over het tekenvlak te bewegen of de verlichting van het vlak te veranderen, komt de plaats voor de tekenstift van het tekenvlak en de stift zelf weer terug in de perceptie.

Soms zal men deze manipulaties meermalen moeten herhalen om op die plaats geval 3 tenslotte gerealiseerd te hebben. De mate, waarin men van deze wisselingen last heeft, hangt sterk af van de contrasten en vormen in het object, de kleuren, de helderheid en het contrast in de fixatiefiguren e.d. Bij voorbeeld treedt het effect vrijwel niet op bij het oplichten onder het microscoop van partikeltjes bij donker-velbelichting bij niet te hoge helderheden van het tekenvlak.

Op grond van één en ander zal men echter slechts van deze waarnemingstechniek gebruik maken, voor zover toepassing van de eenvoudige monoculaire superpositiemethode onmogelijk is.

Vergelijking van beide methoden levert voor de binoculaire naast het uiteraard essentiële voordeel van mogelijk gelijktijdige waarneming van de percepties van de ogen afzonderlijk, de volgende complicaties voor de realisering:

- a) instelmogelijkheid van de pupilafstand van de waarnemer;
- b) instelmogelijkheid van de ene fixatiefiguur ten opzichte van de andere om voor de waarnemer fusie van de figuren te verkrijgen;
- c) de methode is niet bruikbaar voor personen zonder stereoscopische fusie (scheelzienden, grote refractiever verschillen tussen de ogen, e.a.);
- d) het beschreven effect van wisselende dominanties.

Literatuur

1. H. von Helmholtz: *Handbuch der Physiologischen Optik*, 3. Auflage 1910, Band III pag. 402.
2. M. A. Bouman: *Foveal and peripheral interaction in binocular vision* (W.W. 1953-11); *Optica Acta* 1, 177-183 (1955).