4.2 Kleinküvetten für Messungen an geringen Flüssigkeitsmengen (0,5 ml für 1 cm Schichtdicke)

Falls die für C-Küvetten benötigte Menge der Untersuchungslösung nicht zur Verfügung steht, benutzt man sogenannte Kleinküvetten[1]), für die infolge des verringerten Innenmaßes besondere Zusatzlinsen für Leuchte und Photometer erforderlich sind.

Zusammenstellung

Je 2 Kleinküvetten mit Falzdeckel, 1, 2 und 5 cm Schichtdicke, in Behälter
Kleinküvettenhalter auf Reiter mit Säule
2 Vorsatzobjektive f = 125 mm
2 Vorsatzlinsen f = 154 mm in Einsteckfassung

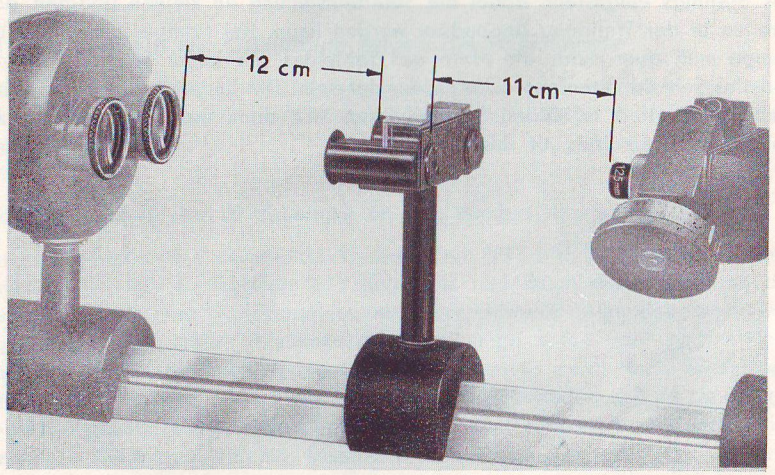

Bild 14. Ergänzungsausrüstung für Messungen an geringen Flüssigkeitsmengen (0,5 ml für 1 cm Schichtdicke)

Die Kleinküvetten haben die gleiche, rechteckige Form der C-Küvetten, sind wie diese säurefest verschmolzen und lassen sich ebenso einfach füllen und reinigen. Man braucht die Gefäße nicht bis zum oberen Rand zu füllen; denn das Sehfeld des Photometers wird schon bei einer Füllhöhe von 8 mm voll ausgeleuchtet, sofern man sich beim Aufstellen und Justieren der Anordnung an folgende Vorschrift hält:

[1]) Die erforderlichen Flüssigkeitsmengen und lieferbaren Schichtdicken dieser Küvetten sowie der übrigen Arten von Untersuchungsgefäßen sind der Tabelle auf S. 8 zu entnehmen.

Der Halter zur Aufnahme der Kleinküvetten (s. Bild 14) ist so auf die Dreikantschiene zu stellen, daß die beiden festeingebauten, als Plankonvexlinsen ausgebildeten Fenster dem Photometer zugewandt sind.

Zwischen der Vorsatzlinse im Kondensorstutzen der Leuchte und dem hinteren Rand des Halters ist ein Abstand von etwa 12 cm einzuhalten. Bei versuchsweise herausgenommenen Mattscheiben beobachtet man an den Auflagen der Linsen im Inneren des Halters scharfe Bilder der Glühlampenwendel.

Der Rand eines vor die Plankonvexlinse gehaltenen Papierstreifens oder eine Bleistiftspitze muß — während man das Photometer auf der Dreikantschiene verschiebt — beim Einblick in das Okular zugleich mit dem Wendelbild scharf erscheinen. Der Abstand zwischen Plankonvexlinse und Vorsatzobjektiv am Photometer beträgt dabei etwa 11 cm[1]).

In der so gefundenen Stellung klemmt man Küvettenhalter und Photometer mit den Kreuzgriffschrauben an der Dreikantschiene fest und prüft die Ausleuchtung gemäß Abschnitt 3.62. Die Kleinküvetten werden stets nahe an den Plankonvexlinsen in den Halter eingesetzt.

4.3 Mikroküvetten für Messungen an geringsten Flüssigkeitsmengen (0,2 ml für 1 cm Schichtdicke)

Die genaue Messung an wenigen Tropfen der Untersuchungslösung, wie es z. B. bei biologischem Material nicht selten vorkommt, wird durch die Mikroküvetten und die zu ihrer Justierung benötigte Zusatzeinrichtung möglich gemacht.

Zusammenstellung

2 Mikroküvetten, 1 cm Schichtdicke
2 Mikroküvetten, 2 cm Schichtdicke
2 Mikroküvetten, 5 cm Schichtdicke
2 Träger für die Mikroküvetten
2 Vorsatzlinsen f = 154 mm in Einsteckfassung

Die Mikroküvetten sind aus dickwandigen Glasrohren von 5 mm lichter Weite hergestellt. Die 5-cm-Küvette hat in der Mitte einen Füllstutzen und zwei auf die Enden des Rohres aufgekittete Gewindefassungen; bei den Küvetten von 2 und 1 cm Schichtdicke ist der Küvettenkörper in einem mit zwei Gewindeteilen versehenen Metallrohr eingekittet. Der verwendete Kitt ist beständig gegen Säuren und Fettlösungsmittel, jedoch nicht gegen Alkalien. Zum Halten der Fensterplatten wird auf die Gewindefassungen je eine Kappe aufgeschraubt.

[1]) Bei Nachbezug eines Kleinküvettenhalters kann im Okular eine geringe Abschattung des Sehfeldes zu beobachten sein, die sich leicht beseitigen läßt, indem man die zwei Schlitzschrauben, mit denen der Halter an der Säule befestigt ist, etwas löst und den Halter auf seiner Anlagfläche entsprechend verschiebt. Dann zieht man die beiden Schrauben wieder fest.

Bei den 2- und 1-cm-Küvetten besteht eine dieser Schraubkappen aus einem Rohrstück, das diese Küvetten der Gesamtlänge der 5-cm-Küvette angleicht. Die Endflächen der Küvettenkörper sind plan geschliffen und poliert, so daß die Küvetten bereits dicht sind, wenn die Schraubkappen leicht angezogen werden. Die beigegebenen Zwischenringe dienen nur zur gleichmäßigen Verteilung des auf die Fenster ausgeübten Druckes und werden zwischen Schraubkappe und Fensterplatte eingelegt. Das eine dieser Fenster ist als Plankonvexlinse ausgebildet. Beim Zusammensetzen der Mikroküvetten achte man also darauf, daß diese Linse stets mit der Planfläche an der Endfläche des Küvettenkörpers anliegt.

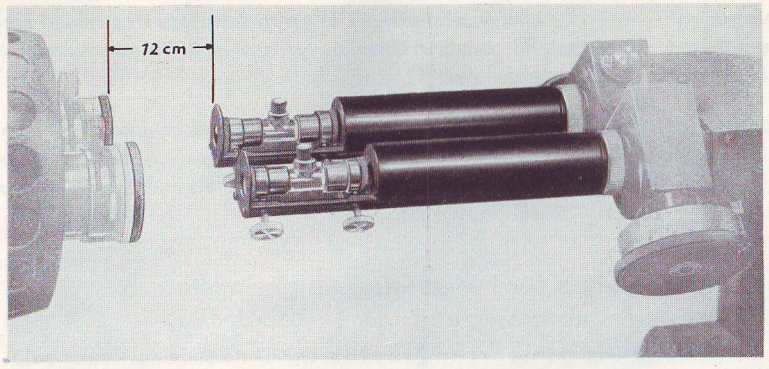

Bild 15. Ergänzungsausrüstung für Messungen an geringsten Flüssigkeitsmengen (0,2 ml für 1 cm Schichtdicke)

Die luftblasenfreie Füllung der Mikroküvetten geschieht am besten nach Entfernen eines Abschlußfensters. Mit Hilfe einer Pipette mit langer, dünner Spitze füllt man so lange Flüssigkeit ein, bis eine kleine Flüssigkeitskuppe über die Endfläche der Küvette herausragt. Dann schiebt man das Fenster von der Seite her auf und befestigt es mit der Schraubkappe.

Infolge ihres geringen Innendurchmessers ist das Ausrichten der Mikroküvetten zu den optischen Achsen des Photometers und der Leuchte besonders sorgfältig durchzuführen. Im einzelnen geht man hierzu wie folgt vor:

Wie Bild 15 zeigt, werden die beiden justierbaren Träger an den Öffnungen des Photometers befestigt und die Vorsatzlinsen f = 154 mm in die Kondensorstutzen der Leuchte eingesteckt. Der Abstand zwischen der Vorsatzlinse und dem Rand des Trägers muß 12 cm betragen.

Die Mikroküvetten werden mit destilliertem Wasser gefüllt und in die Träger so eingesetzt, daß das als Plankonvexlinse ausgebildete Fenster der Küvetten dem Photometer zugewandt ist. Bei Benutzung der 2- und 1-cm-Küvetten ist außerdem zu beachten, daß die längere Schraubkappe nach der Leuchte hin zeigt.

Die beiden Lichtwege des Photometers prüft man nun nacheinander, indem man die eine Meßtrommel auf 0 und die andere auf 100 der schwarzen Teilung stellt und das Blendenbild mit der Okularvorschlaglupe betrachtet. Ist das quadratische Bild teilweise von der runden Wandung der Küvette verdeckt, so werden die dem Photometer abgewandten Justierschrauben des Trägers so lange verstellt, bis das Blendenbild ein gleichmäßig ausgeleuchtetes Quadrat ist. Wenn nach beiseite gedrehter Vorschlaglupe eine Abschattung der Sehfeldhälften aufgetreten ist, wird bis zum Verschwinden derselben an den dem Photometer zugewandten Justierschrauben gedreht. In gleicher Weise richtet man die Küvette im anderen Lichtweg aus, indem die zuerst geschlossene Meßblende ganz geöffnet, die andere ganz geschlossen wird.

4.4 Mikro-Absorptionsrohre für Messungen an kleinen Mengen schwachgefärbter Flüssigkeiten

Für Messungen an schwachgefärbten Flüssigkeiten, die nur in kleinen Mengen vorliegen, sind Mikro-Absorptionsrohre zu empfehlen (s. Bild 16). Die Länge dieser Untersuchungsgefäße ist ebenfalls nach Normzahlen abgestuft: 10 cm und 20 cm bei einem Flüssigkeitsbedarf von 8 bzw. 15 ml. Die Mikro-Absorptionsrohre sind in ihrer Bauart den 5-cm-Mikroküvetten (s. Abschnitt 4.3) sehr ähnlich; sie werden wie diese durch Fensterplatten — eine davon ist als Plankonvexlinse[1]) ausgebildet — und mit Schraubkappen abgeschlossen. Zur luftblasenfreien Füllung sind die Rohre mit zwei Einfüllstutzen versehen. Jeder Rohrlänge (10 oder 20 cm) entsprechen Vorsatzobjektive passender Brennweite zum Befestigen an den Photometeröffnungen.

Als Halterung für die Mikro-Absorptionsrohre dient ein Reiter mit Trägern, deren Abstand auf die Länge der benutzten Rohre einstellbar ist. Einer der beiden Träger ist in Höhenrichtung justierbar; er wird beim Aufstellen des Halters dem Photometer zugewandt.

Zusammenstellung

2 Mikro-Absorptionsrohre, 10 cm Schichtdicke
2 Vorsatzobjektive f = 197 mm
2 Mikro-Absorptionsrohre, 20 cm Schichtdicke
2 Vorsatzobjektive f = 280 mm
1 Reiter mit Trägern

[1]) Zur Unterscheidung beim Zusammenbau ist der Rand dieser Linsen für das 10-cm-Rohr mit einer Kerbe und für das 20-cm-Rohr mit zwei Kerben versehen.

Der Gebrauch der beiden Vorsatzobjektiv-Paare und ihre Abstände, die zwischen den Rohren bzw. der Photometerleuchte einzuhalten sind, ergeben sich aus nachstehender Tabelle:

Vorsatzobjektive am Photometer	für Rohrlänge	Abstand zwischen Vorsatzobjektiv und	
		vord. Rohrfenster (Plankonvexlinse)	Stirnwand der Leuchte
f = 197 mm	10 cm	19 cm	37 cm
f = 280 mm	20 cm	26 cm	49 cm

Für die 20-cm-Rohre sind die Abstände so berechnet, daß die Außenflächen der Reiter des Photometers und der Leuchte mit den Stirnseiten der normalen Dreikantschiene 710 beiderseits abschließen.

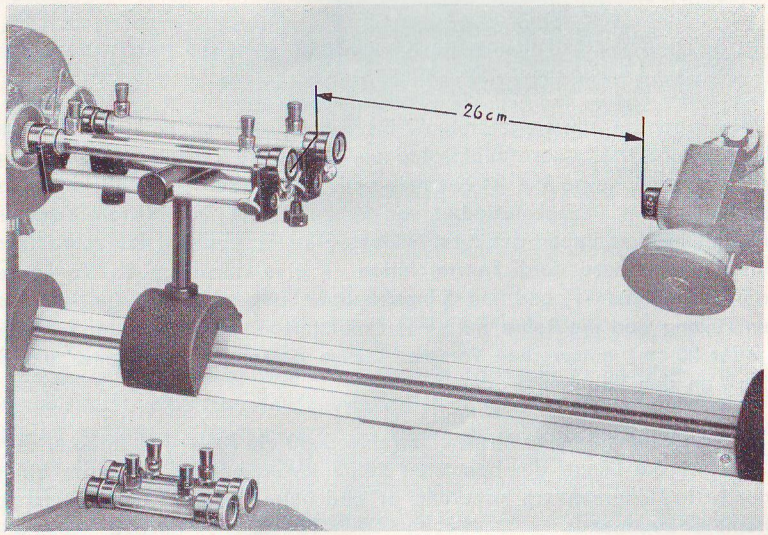

Bild 16. Ergänzungsausrüstung für Messungen an kleinen Mengen schwachgefärbter Flüssigkeiten

Das Auflegen und Ausrichten der Rohre zu den optischen Achsen des Photometers und der Leuchte geschieht folgenderweise:

Zunächst verschiebt man beide Träger auf den Führungsstangen in gleichen Abständen von der Mitte aus so weit, daß die mit destilliertem Wasser gefüllten Rohre auf den Zylinder der angekitteten Gewindestücke lagern können, also weder auf den Schraubkappen noch auf ihrem Glasteil ruhen. Beim Auflegen müssen stets die mit Plankonvexlinsen abgeschlossenen Enden der Rohre nach dem Photometer hin zeigen.

Die beiden Lichtwege des Photometers werden nun, wie in Abschnitt 4.3 für die Mikroküvetten beschrieben, überprüft. Man braucht jedoch nur nachzusehen, ob beide Sehfeldhälften vollständig und gleichmäßig ausgeleuchtet sind. Falls eine der Hälften oder beide unvollständig erscheinen, wird an den am Träger schräg herausragenden Justierschrauben entsprechend nachgestellt.

4.5 Absorptionsrohre für Messungen an größeren Mengen schwachgefärbter Flüssigkeiten

Wenn man bei schwachgefärbten Flüssigkeiten nicht an bestimmte Mengen gebunden ist (z. B. bei Farbmessungen an Wässern, Kohlenwasserstoff-Derivaten od. ä.), benutzt man die in den Bildern 17 und 18 dargestellten Absorptionsrohre. Die Schichtdicke der Rohre richtet sich nach der sehr geringen Lichtextinktion oder der Konzentration der zu untersuchenden Lösungen. In den meisten Fällen kommt man mit den 10- und 20-cm-Rohren aus; die 50-cm-Rohre sind nur für besonders hohe Reintransmissionsgrade erforderlich.

Die Absorptionsrohre bestehen aus Glasrohren mit plangeschliffenen Enden. Jedes Ende trägt ein Gewindestück, auf das eine Kappe zum Befestigen der Fensterplatten aufgeschraubt wird. Die Gewindestücke sind aufgekittet. Der hierfür verwendete Kitt ist beständig gegen Säuren und Fettlösungsmittel, jedoch nicht gegen Alkalien. Die zwischen Schraubkappe und Fensterplatten einzulegenden Ringe dienen zur gleichmäßigen Verteilung des auf die Fenster ausgeübten Druckes und nicht zum Abdichten der Rohre. Diese halten bereits dicht, wenn die Fensterplatten mit gelindem Druck auf den Rohrenden aufliegen. Die Untersuchungsflüssigkeit wird durch zwei mit Glasstopfen verschließbare Stutzen eingefüllt.

Infolge der stark unterschiedlichen Länge der Absorptionsrohre ist auch ihre Aufstellungsart verschieden: ein Reiter mit verschiebbaren Trägern für die 10- und 20-cm-Rohre, zwei Reiter mit festen Trägern für die Rohre von 50 cm Schichtdicke. Für beide Aufstellungsarten ist gemeinsam, daß nach dem Auflegen der Rohre die Außenflächen der Träger die Ränder der Schraubkappen fast berühren. Die Rohre lagern also nicht auf ihrem Glasteil, sondern auf den Zylindern der aufgekitteten Gewindestücke. Damit fallen auch die Längsachsen der Rohre mit den Achsen der von der Photometerleuchte kommenden Lichtbündel zusammen.

4.51 Absorptionsrohre von 10 und 20 cm Schichtdicke

Zusammenstellung

2 Absorptionsrohre, 10 cm Schichtdicke
2 Absorptionsrohre, 20 cm Schichtdicke
1 Reiter mit Trägern und Blendschirm

Zum Gebrauch verschiebt man die Träger auf den beiden Führungsstangen je nach Länge der benutzten Rohre (10 oder 20 cm) und klemmt sie in richtigem Abstand voneinander (vgl. Abschnitt 4.5, letzter Absatz) mit ihren Griffschrauben fest. Der Blendschirm muß bei einem Zwischenraum von etwa 5 cm der Photometerleuchte zugewendet sein.

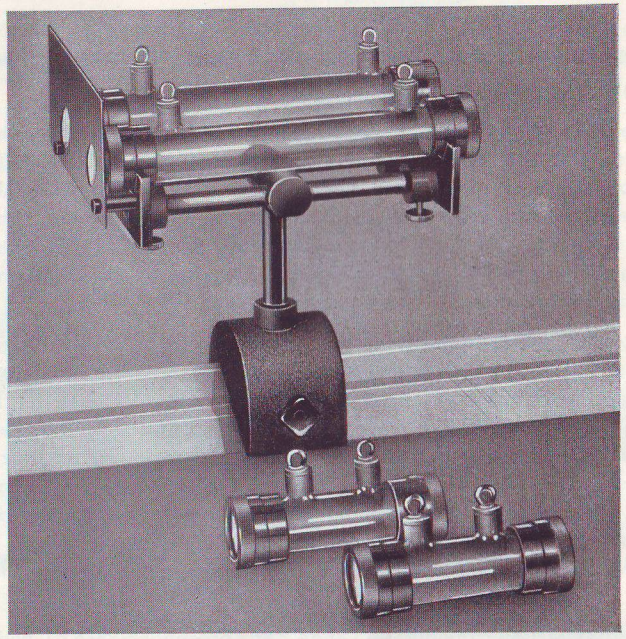

Bild 17. Ergänzungsausrüstung für Messungen an schwachgefärbten Flüssigkeiten bei 10 und 20 cm Schichtdicke

4.52 Absorptionsrohre von 50 cm Schichtdicke

Für die besonders große Länge dieser Rohre reicht die Länge der normalen Dreikantschiene von 710 mm nicht mehr aus. Zum Arbeiten am Gerät ist deshalb bei Nachbestellung der 50-cm-Rohre eine Dreikantschiene von 1000 mm Länge hinzuzunehmen, sofern das Pulfrich-Photometer nicht schon früher mit dieser Schiene bestellt worden ist.

Zusammenstellung

2 Absorptionsrohre, 50 cm Schichtdicke
2 Reiter mit Trägern und Blendschirm
1 Dreikantschiene 1000

Der Blendschirm des ersten Reiters zeigt bei einem Abstand von etwa 5 cm nach der Photometerleuchte hin. Der zweite Reiter wird in bestimmter, durch die Länge der Absorptionsrohre gegebener Entfernung aufgestellt und das Photometer auf seinem Reiter so weit herangerückt, daß die Rohre bequem abgenommen werden können. Das Justieren des Gerätes (Abschnitt 3.4) kann vor dem Auflegen der Rohre geschehen.

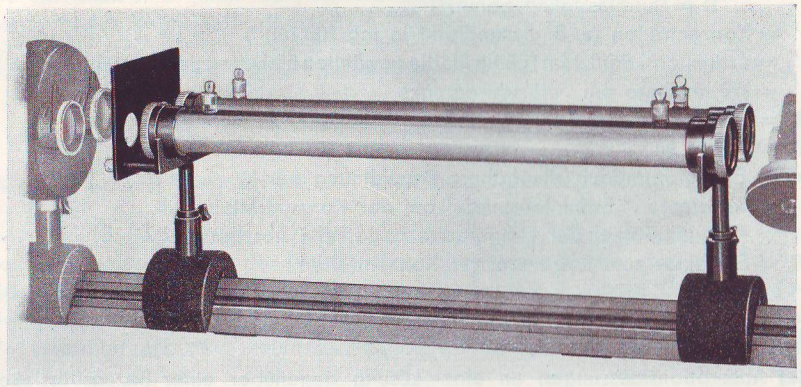

Bild 18. Ergänzungsausrüstung für Messungen an schwachgefärbten Flüssigkeiten bei 50 cm Schichtdicke

5. Anleitung zum Aufstellen neuer Arbeitsvorschriften

5.1 Einführung

In Abschnitt 3.6 dieser Druckschrift ist zur möglichst einfachen Darstellung des kolorimetrischen Untersuchungsverfahrens mit dem Pulfrich-Photometer eine bereits veröffentlichte Arbeitsvorschrift zugrunde gelegt worden. Handelt es sich jedoch um eine Lösung, deren Färbung kolorimetrisch noch nicht erfaßt wurde, also um die Ausarbeitung einer neuen Vorschrift, oder darum, ein schon bekanntes Bestimmungsverfahren zu überprüfen, so ist es unerläßlich, sich einige Kenntnisse von den Grundregeln der kolorimetrischen Arbeits- und Berechnungsweise anzueignen. Es ist dann leicht zu beurteilen, von welchen Bedingungen das Meßergebnis abhängig ist oder beeinflußt werden kann.

Zunächst müssen die gemäß DIN 1349 für die Lichtabsorption eingeführten Grundgrößen und Bezeichnungen, soweit sie die Bestimmung der Konzentration gelöster Stoffe oder deren Farbeindruck betreffen, in ihrer Anwendung geläufig sein.

5.2 Grundbegriffe

5.21 Zeichen und Benennungen

Φ_i = eindringender Lichtstrom
Φ_e = ausdringender Lichtstrom
ϑ = Reintransmissionsgrad (früher wurde in Veröffentlichungen die Bezeichnung D = Durchlässigkeit benutzt)
c' = Konzentration (z. B. ausgedrückt in mg/100 ml) [1])
ε'_λ = Extinktionskoeffizient (gültig für die gewählten Einheiten der Konzentration c' [1])
λ = Wellenlänge am Filterschwerpunkt
d = Schichtdicke in cm
E = Extinktion
m = Extinktionsmodul (die frühere Bezeichnung war k)
r = Konstante = Extinktionsmodul bei der Konzentration Null
φ = Neigungswinkel der Eichgeraden gegen die Abszissen-(c-)Achse
F = Eichfaktor zum Errechnen der Konzentration

5.22 Beziehungen der Grundgrößen

Bei Absorptionsmessungen an einer Lösung gegenüber einer Bezugsflüssigkeit wird der Reintransmissionsgrad ϑ oder die Extinktion E bestimmt. Es gelten die Beziehungen:

$$\vartheta = \frac{\Phi_e}{\Phi_i} \tag{1}$$

$$\vartheta\,\% = 100 \cdot \vartheta\,\% \tag{2}$$

Der Reintransmissionsgrad ϑ ist das Verhältnis des ausdringenden zum eindringenden Lichtstrom. Sofern das Lambert-Beersche Gesetz für eine Lösung gilt, d. h., falls der ausdringende Lichtstrom nur abhängig ist von der Menge der durchstrahlten, gelösten Substanz und unabhängig von Schichtdicke und Konzentration, ist der Reintransmissionsgrad

$$\vartheta = 10^{-\varepsilon_\lambda c d} \tag{3}$$

und die Extinktion

$$E = -\log \vartheta_\lambda = 2 - \log \vartheta\,\% \tag{4}$$

oder

$$E_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot d \tag{5}$$

Die Größe ε bedeutet den molaren Extinktionskoeffizienten und ist bezogen auf die Konzentration c in mol/l.

[1]) Spezielle Größen; s. auch Anmerkung auf S. 35.

Im praktischen Gebrauch benutzt man für die Konzentration verschiedene Einheiten (g/100 ml, mg/100 ml, µg/100 ml) [1]). Dann treten an Stelle der molaren die speziellen Größen ε' und c' [2]).

Der Index λ deutet darauf hin, daß die gekennzeichnete Größe von der Wellenlänge abhängig ist.

Die Extinktion E ist nach dem Lambert-Beerschen Gesetz der Schichtdicke und Konzentration direkt proportional.

Aus Gleichung (5) läßt sich der Extinktionsmodul

$$m = \frac{E_\lambda}{d} = \varepsilon_\lambda \cdot c \tag{6}$$

ableiten, der die Extinktion bei der Schichtdicke 1 cm darstellt.

Beim Pulfrich-Photometer wird die Extinktion an der roten Teilung der Meßtrommel abgelesen. Aus der Division des abgelesenen Wertes durch die Schichtdicke in Zentimetern ergibt sich der Extinktionsmodul m. Ältere Geräte tragen Meßtrommeln mit nur einer, der Reintransmissionsgrad-Teilung (ϑ %). Man kann die Extinktion aus dem Reintransmissionsgrad berechnen nach der Beziehung

$$E = 2 - \log \vartheta\,\% \tag{7}$$

oder bequemer der Tabelle (S. 50 bis 54) entnehmen.

Die Messung des Reintransmissionsgrades setzt die Benutzung einer Vergleichsküvette mit Bezugsflüssigkeit voraus.

5.3 Arbeitsweise

Zur photometrischen Bestimmung einer gefärbten Lösung sind zunächst die optischen Bedingungen festzulegen, unter denen die Messung stattfinden soll, d. h., Schichtdicke und Farbfilter müssen den Absorptionseigenschaften der Untersuchungslösung angepaßt sein. Außerdem ist bei Konzentrationsbestimmungen der Einfluß von Fremdstoffen auszuschalten bzw. die Ermittlung des Leerwertes vorzunehmen. In den folgenden Abschnitten werden diese Vorgänge im einzelnen dargestellt.

5.31 Wahl der Schichtdicke

Die Schichtdicke ist so zu wählen, daß das Meßergebnis einen möglichst geringen Fehler einschließt, d. h., man darf bei der Messung des Reintransmissionsgrades ϑ, z. B. bei pH-Messungen, ohne Hilfsmittel (vgl. Abschnitt 5.45)

[1]) 1 γ = 1 μg = 10^{-6} g. Die Einheit γ (Gamma) ist heute durch μg = Mikrogramm ersetzt.

[2]) Zur bequemeren Schreibweise werden diese speziellen Größen im folgenden mit ε bzw. c bezeichnet.

keine kleineren ϑ-Werte messen als 5 %. Bei Extinktionsmessungen wird der relative Fehler $\frac{\Delta E}{E}$ am geringsten im Bereich von $E = 0{,}3$ bis $E = 1{,}3$.

Die Teilung der Meßtrommel unter $\vartheta = 5\,\%$ bzw. über $E = 1{,}3$ ist nur als Finderteilung zur Orientierung über die angenäherte Größe der Lichtabsorption anzusehen. Man muß, um im günstigsten Arbeitsbereich zu bleiben, bei stark gefärbten Flüssigkeiten Küvetten kleinster Schichtdicke und bei schwachgefärbten Flüssigkeiten Absorptionsrohre benutzen (vgl. auch Erläuterungen und Übersicht in Abschnitt 2.3).

Will man sehr große Extinktionen genau messen, so kann man in den zweiten Strahlengang des Photometers ein oder mehrere Graufilter einschalten.

5.32 Wahl des Filters

Die Lösung wird nach dem in Abschnitt 3.63 beschriebenen Vorgang mit sämtlichen S-Filtern durchgemessen und der ermittelte Extinktionsmodul m in einem Koordinatensystem in Abhängigkeit von der Wellenlänge aufgetragen (vgl. Bild 24, S. 46). Durch Verbinden der einzelnen Punkte entsteht eine Extinktionskurve, aus der man die Wellenlänge desjenigen Filters entnimmt, für das sich die größte Extinktion ergibt. Im dargestellten Fall ist dies das Filter S 57. Sind mehrere Extinktionsmaxima vorhanden, so wählt man dasjenige Filter, bei dem Störungen durch Fremdfärbungen am geringsten sind.

Wenn die Absorptionskurve im Bereich der Durchlässigkeit des gewählten Filters steil abfällt, kann man zuweilen Unterschiede im Farbton der beiden Sehfeldhälften beobachten. In einem solchen Fall ist nach Möglichkeit ein anderes Filter zu benutzen. Gegebenenfalls führt man die Messung mit Quecksilberlicht durch. Besteht keine Möglichkeit, mit einer Quecksilberlinie zu messen, und muß Glühlampenlicht mit einem S-Filter angewendet werden, innerhalb dessen Durchlaßgebiet die Extinktion der Lösung eine beträchtliche Änderung aufweist, so tritt eine Verschiebung des wirksamen Filterschwerpunktes gegenüber den in der Tabelle auf S. 12 angegebenen Werten ein. Diese Verschiebung ist von der Größe der gemessenen Extinktion abhängig. Will man für eine Lösung bestimmter Konzentration den wahren Extinktionswert für den Filterschwerpunkt der Tabelle wissen, so mißt man die Extinktion dieser Lösung bei verschiedenen Schichtdicken. Der Extinktionsmodul wird sich als von der Schichtdicke abhängig erweisen. Man trägt ihn als Funktion der Schichtdicke auf und extrapoliert auf die Schichtdicke „Null". Auf diese Weise erhält man den wahren Extinktionsmodul für den Filterschwerpunkt der Tabelle.

Bei der Messung im Gebiet starker Durchlässigkeitsänderung in Abhängigkeit von der Wellenlänge ist auch darauf zu achten, daß die Farbtemperatur der Lichtquelle während der Messung konstant bleibt. Bei stark schwankender Wechselstromspannung benutzt man in diesem Fall zum Betrieb der Glühlampe einen Spannungsgleichhalter, oder man schließt die Lampe an einen Akkumulator an.

5.33 Bezugsflüssigkeit

Bei allen Messungen muß grundsätzlich in den zweiten Strahlengang ein Untersuchungsgefäß gleicher Schichtdicke mit einer Kompensations- oder richtiger Bezugsflüssigkeit gesetzt werden. Die Aufgabe der Bezugsflüssigkeit ist, den Nullpunkt für die Zählung des Extinktionswertes festzulegen, m. a. W. Lichtverluste,

die durch Reflexion an den Küvettenfenstern oder durch Streuung im Lösungsmittel verursacht sind, gelangen nicht in den Meßwert. Ebenso werden Lichtverluste ausgeglichen, die dadurch entstehen, daß die ursprüngliche Probenlösung bereits farbig oder trüb ist und daß die für die kolorimetrischen Bestimmungen benutzten Reagenzien farbig sind oder — was sich nicht immer vermeiden läßt — die zu bestimmende Substanz selbst als Verunreinigung enthalten.

Im allgemeinen dient als Bezugsflüssigkeit das Lösungsmittel, meistens also Wasser. Hat die Probenlösung eine bei der Messung störende Eigenfarbe oder Trübung, so werden zwei gleiche Anteile der Probe in gleicher Weise behandelt, wobei man zu dem einen Anteil statt des farberzeugenden Reagenz nur dessen Lösungsmittel gibt. Sind die Reagenzien selbst schon farbig oder enthalten sie den zu bestimmenden Stoff als Verunreinigung, so behandelt man ein dem benutzten Volumen der Probenlösung gleiches Volumen des Lösungsmittels der Probe unter Verwendung aller Reagenzien genauso wie die Probe selbst (Blindansatz, s. Abschnitt 5.34).

Bei Farbmessungen wird die Bezugsküvette mit destilliertem Wasser gefüllt.

Ist die zu untersuchende Flüssigkeit keine wäßrige Lösung, sondern zum Beispiel Öl, so tritt bei der Verwendung von Wasser als Bezugsflüssigkeit ein Fehler dadurch auf, daß das Wasser bereits am roten Ende des sichtbaren Spektrums absorbiert. Es ergeben sich also bei Messungen in diesem Spektralbereich zu hohe Durchlässigkeitswerte. Da jedoch den Messungen in diesem Bereich bei den im allgemeinen vorliegenden Aufgaben wegen der großen Durchlässigkeit solcher Stoffe für diese Wellenlänge keine Bedeutung zukommt, kann der an sich geringe Fehler unberücksichtigt bleiben. Man kann die Fehlerquelle ausschalten, indem man eine Küvette möglichst kleiner Schichtdicke, mit der zu messenden Flüssigkeit gefüllt, in den Bezugsstrahlengang bringt. Die wirksame Schichtdicke ergibt sich aus der Differenz der beiden benutzten Schichtdicken.

5.34 Ermittlung des Leerwertes

Statt den Blindansatz bei jeder Bestimmung neu herzustellen und als Bezugsflüssigkeit zu verwenden, kann man auch ein für allemal seinen Extinktionsmodu bestimmen und den so erhaltenen „Leerwert" von dem bei der eigentlichen Bestimmung ermittelten Extinktionsmodul abziehen. Die einmalige Bestimmung des Leerwertes sowie die Messungen an den Probenlösungen werden dann mit destilliertem Wasser als Bezugsflüssigkeit ausgeführt. Dieses Verfahren, das bei Serienanalysen große Vorteile bietet, setzt voraus, daß die Reagenzien sich im Lauf der Zeit nicht ändern. Es empfiehlt sich daher, den Leerwert von Zeit zu Zeit, besonders nach dem Ansetzen neuer Reagenzlösungen, nachzuprüfen.

5.4 Bestimmung der Konzentration einer gelösten Substanz

Die nachstehend angegebenen Regeln zur Bestimmung der Konzentration sind nur unter der Voraussetzung allgemein anwendbar, daß die einmal gewählte Arbeitsweise zur Vorbereitung und Messung der Untersuchungslösung streng eingehalten wird, d. h., die Reaktionsansätze müssen, wie vorgesehen, durchgeführt werden und die benutzten Reagenzien die erforderliche Reinheit haben.

5.41 Aufstellung von Eichkurven oder -tabellen

Für eine Reihe von Lösungen bekannter, abgestufter Konzentrationen c werden die Extinktionen E ermittelt. Wird dabei stets mit der gleichen Schichtdicke d gemessen, so kann man im folgenden die Extinktionen unter Angabe der Schichtdicke direkt benutzen. Arbeitet man jedoch mit verschiedenen Schichtdicken, so errechnet man die Extinktionsmoduln m und trägt diese in Abhängigkeit von der Konzentration in ein rechtwinkliges Koordinatensystem ein.

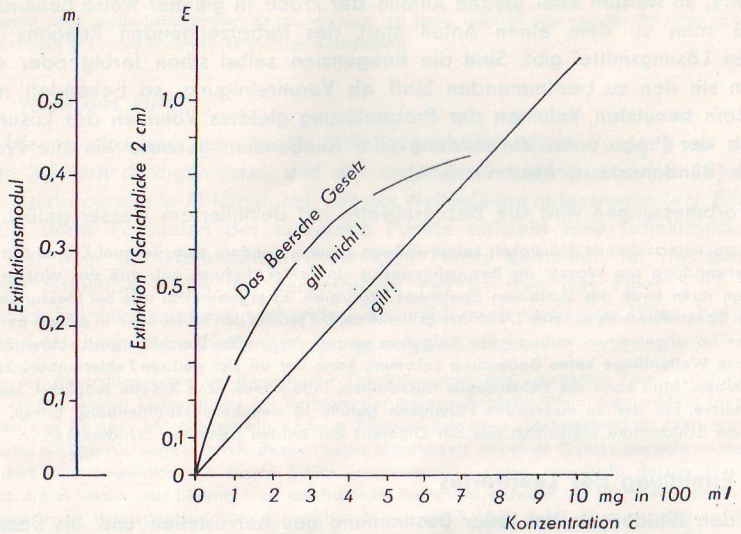

Bild 19

Die einzelnen Meßpunkte werden zu einer Kurve, der Eichkurve, verbunden, die nur für das bei der Messung benutzte Filter und auch nur für die zur Farbreaktion angewandte chemische Arbeitsweise gilt. Die Eichkurve ist von der zur Messung angewendeten Schichtdicke nur dann unabhängig, wenn das Lambertsche Gesetz (E proportional d) zutrifft. Ist für die untersuchte Lösung außerdem die Bedingung des Beerschen Gesetzes (E proportional c) erfüllt, so ist die Eichkurve eine Gerade (Bild 19).

Bei Aufstellung neuer Arbeitsvorschriften müssen die Lösungen erst auf Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes überprüft werden.

Die Werte der Eichkurve kann man auch in Form einer Eichtabelle niederschreiben, in der jedem E- bzw. m-Wert ein bestimmter c-Wert entspricht: Der

vorher aufgestellten Eichkurve entnimmt man die zu einer gleichabständigen Reihe von E- bzw. m-Werten gehörenden Konzentrationen c und ordnet alle diese Werte in übersichtlicher Form an.

5.42 Ermittlung des Eichfaktors

Unter Voraussetzung der Geradlinigkeit der Eichkurve (Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes) kann an Stelle der Eichkurve oder -tabelle die einfache Rechnung treten. Da die Eichgerade meist durch den Nullpunkt geht und nach Gleichungen (5) und (6) $E_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot d$ bzw. $m_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c$ oder $c = \frac{m_\lambda}{\varepsilon_\lambda}$ ist, so ergibt sich der Eichfaktor F_λ aus

$$c = m_\lambda \cdot F_\lambda = m_\lambda \cdot \cot \varphi_\lambda \qquad (8)$$

Der Eichfaktor ist durch die Neigung φ der Eichgeraden gegeben und wird als $F = \frac{c_1}{m_1}$ bestimmt. Bei Aufstellung einer neuen Arbeitsvorschrift ist F bei Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes aus einer Reihe von Messungen m (c) entweder graphisch oder rechnerisch zu ermitteln.

Im ersten Fall entnimmt man F der Eichgeraden, die durch die streuenden Einzelwerte gelegt wurde. Im zweiten Fall wird F als Mittelwert einer Reihe von Werten $F = \frac{c}{m}$ bestimmt.

Beispiel: Bestimmung von Kreatinin im Harn nach Lieb und Zacherl (aus Arbeitsvorschriften für das Pulfrich-Photometer, Sammlung I, Vorschrift I/K 5)

Der unter Berechnung angegebene Faktor 260 wurde wie folgt ermittelt:

Bekannte Kreatinin-Konzentration c mg/100 ml Harn	Extinktionsmodul m	$F = \frac{c}{m}$
80,62	0,312	258
59,46	0,229	260
40,31	0,159	254
23,45	0,0933	251
11,73	0,0469	255

Mittelwert $F = \frac{1278 : 5}{256}$

Zur bequemeren Berechnung wird eingesetzt: $c = 260 \cdot m$ mg Kreatinin in 100 ml Harn

Enthält die zu untersuchende Lösung außer der quantitativ zu bestimmenden eine weitere absorbierende Substanz, deren Extinktion durch die Konzentration der ersten nicht beeinflußt wird, z. B. das farbige Lösungsmittel, und läßt sich

diese Extinktion durch die Bezugsflüssigkeit nicht beseitigen, so gilt für die gemessene Extinktion

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d + r \cdot d \qquad (9)$$

Hierdurch wird (Bild 20) $\qquad c = (m - r)\, F \qquad (10)$

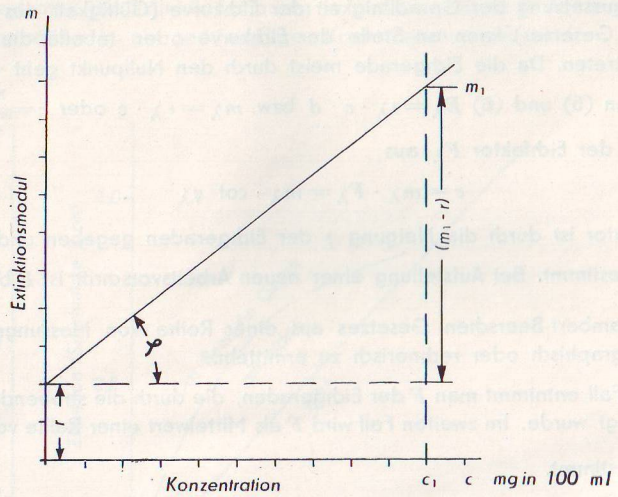

Bild 20

Die Größe r ist eine Konstante und hat die Bedeutung des Extinktionsmoduls bei der Konzentration Null. Da dieser Wert meist klein ist und sich direkt nur ungenau messen läßt, bekommt man ihn mit Hilfe von zwei Konzentrationen aus

$$r = \frac{c_1\, m_2 - c_2\, m_1}{c_1 - c_2} \qquad (11)$$

Der Eichkurve kann r unmittelbar als Ordinate bei $c = 0$ entnommen werden. Der Eichfaktor F wird in entsprechender Weise als Neigung der Eichgeraden oder als Mittelwert der Beziehung

$$F = \frac{c}{m - r} = \cot \varphi \qquad (12)$$

für eine Reihe von Wertepaaren m, c bestimmt.

Beispiel: Bestimmung von Phosphor in Roh- und Gußeisen

(vgl. Arbeitsvorschriften für das Pulfrich-Photometer, Sammlung III, Vorschrift III/P 2)

Der unter „Berechnung" eingesetzte Wert $r = 0{,}05$ wurde ermittelt aus:

Bekannte Phosphor-Konzentration c in %	Extinktionsmodul m	$m - r$	$F = \frac{c}{m - r}$
0,055	0,073	0,023	2,391
0,114	0,098	0,048	2,376
0,258	0,158	0,108	2,389
0,523	0,269	0,219	2,388
0,785	0,380	0,330	2,379

11,923 : 5

Mittelwert $F = 2{,}385$

Mit Hilfe des 1. und 5. Meßwertes wurde r bestimmt zu:

$$r = \frac{c_5\, m_1 - c_1\, m_5}{c_5 - c_1} = \frac{0{,}785 \cdot 0{,}073 - 0{,}055 \cdot 0{,}380}{0{,}785 - 0{,}055} = 0{,}0499$$

Somit wird $c = F\,(m - r) = \underline{2{,}385\,(m - 0{,}05)\ \%\ \text{Phosphor}}$

Obwohl man bei Messungen mit gleichen Schichtdicken anstatt m den an der Meßtrommel unmittelbar abgelesenen E-Wert benutzen kann, sollte man doch zur leichteren Verallgemeinerung alle einzusetzenden Werte auf m beziehen.

5.43 Bestimmung der Konzentration von zwei gleichzeitig in Lösung befindlichen Substanzen

Für diese Bestimmung wird als selbstverständlich angenommen, daß die beiden Lösungen sich nicht beeinflussen. Zunächst stellt man entsprechend den Ausführungen des Abschnittes 5.32, S. 36 mit sämtlichen S-Filtern die Absorptionskurven von zwei Lösungen auf, die jeweils eine der beiden in bekannter Konzentration rein dargestellten Substanzen enthalten. Aus diesen Absorptionskurven ermittelt man zwei Filter, bei denen sich die Absorption der einen der beiden Lösungen von der der anderen möglichst stark unterscheidet. In Bild 21 ist der Fall dargestellt, daß zur Messung das Blaufilter S 43 mit HQE-Lampe und das Rotfilter S 64 mit Glühlampe benutzt wurden.

Es werden nun die Extinktionskoeffizienten ε der gelösten, reinen Substanzen 1 und 2 bestimmt, indem man die für die beiden ausgewählten Filter gemessenen Extinktionsmoduln m durch die bekannte Konzentration c dividiert nach der Formel

$$\varepsilon^{*\,1)} = \frac{m'}{c} \text{ und } \varepsilon^{**} = \frac{m''}{c} \qquad (13)$$

Dabei ergeben sich für die Substanz 1 die Werte ε_1^*, ε_1^{**} und für die Substanz 2 die Werte ε_2^*, ε_2^{**}. Die Extinktionskoeffizienten sind Materialkonstanten und brauchen nur einmal bestimmt zu werden.

[1]) Zur Unterscheidung vom speziellen Extinktionskoeffizienten ε' (s. Abschnitt 5.21) wurde hier die Bezeichnung ε^* gewählt.

Für die Mischung der beiden Lösungen in unbekannter Konzentration werden nun die Extinktionsmoduln $\overline{m'}$ und $\overline{m''}$ ermittelt. Hierfür gilt

$$\overline{m'} = \varepsilon_1^* c_1 + \varepsilon_2^* c_2 \quad \text{mit Filter 1}$$
$$\overline{m''} = \varepsilon_1^{**} c_1 + \varepsilon_2^{**} c_2 \quad \text{mit Filter 2} \qquad (14)$$

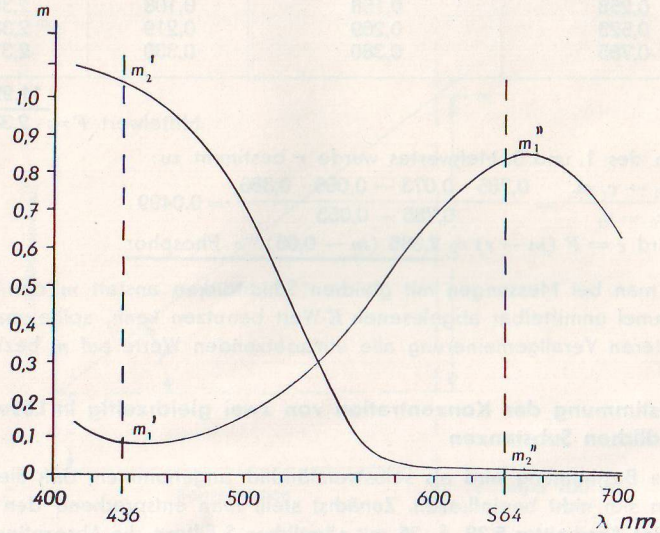

Bild 21

Daraus ergibt sich durch einfache Umformung:

$$c_1 = \frac{\overline{m'}\,\varepsilon_2^{**} - \overline{m''}\,\varepsilon_2^*}{\varepsilon_1^*\,\varepsilon_2^{**} - \varepsilon_1^{**}\,\varepsilon_2^*}$$
$$c_2 = \frac{\overline{m''}\,\varepsilon_1^* - \overline{m'}\,\varepsilon_2^{**}}{\varepsilon_1^*\,\varepsilon_2^{**} - \varepsilon_1^{**}\,\varepsilon_1^*} \qquad (15)$$

oder auch

$$c_2 = \frac{\overline{m'} - \varepsilon_1^*\,c_1}{\varepsilon_2^*} = \frac{\overline{m''} - \varepsilon_1^{**}\,c_1}{\varepsilon_2^{**}} \qquad (15a)$$

Nach dem oben Gesagten ergeben sich die Konzentrationen der Mischung in der gleichen Einheit, z. B. mol/l, in der die Konzentrationen der Lösungen der reinen Substanzen 1 und 2 angegeben waren.

Das Ergebnis weist einen um so geringeren Fehler auf, je mehr die Quotienten $\frac{\varepsilon_1^*}{\varepsilon_2^*}$ und $\frac{\varepsilon_1^{**}}{\varepsilon_2^{**}}$ voneinander verschieden sind.

Häufig wird es möglich sein, die Filter so zu wählen, daß eine der Größen ε^*_1, ε^*_2, oder ε^{**}_2 gleich Null wird. Die Berechnungsformeln vereinfachen sich dann wesentlich. Zum Beispiel wird für $\varepsilon^*_2 = 0$

$$c_1 = \frac{\overline{m'}}{\varepsilon_1^*} \quad \text{und} \quad c_2 = \frac{\overline{m''} - \varepsilon_1^{**}\,c_1}{\varepsilon_2^{**}} = \frac{\overline{m''}\,\varepsilon_1^* - \overline{m'}\,\varepsilon_1^{**}}{\varepsilon_1^*\,\varepsilon_2^{**}} \qquad (16)$$

5.44 Bestimmung des Mischungsverhältnisses zweier Substanzen

Falls es nur auf die Bestimmung des Mischungsverhältnisses zweier gegebener Lösungen oder zweier absorbierender Substanzen (z. B. verschieden gefärbter Öle) ankommt, so vereinfacht sich die im vorhergehenden Abschnitt gestellte

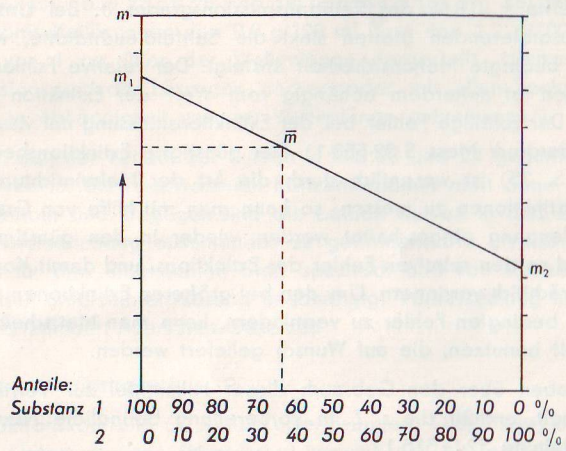

Bild 22

Aufgabe. Man kann das Mischungsverhältnis aus den Extinktionsmoduln der Mischung und aus denen der beiden Komponenten bestimmen; dabei wird vorausgesetzt, daß sich die Absorptionseigenschaften beider Komponenten während des Mischungsvorgangs nicht ändern und keine Volumenänderung eintritt.

Für die beiden reinen Komponenten seien die Extinktionsmoduln m_1 und m_2 gefunden worden und für das Gemisch der Extinktionsmodul $\overline{m}$. Dann ergibt sich der Prozentgehalt c_{100} der Mischung an der Komponente mit dem Extinktionsmodul m_1 aus

$$\overline{m} = m_1\,c_{100} + m_2\,(1 - c_{100}) \qquad (17)$$

zu

$$c_{100} = \frac{\overline{m} - m_2}{m_1 - m_2} \cdot 100\,\% \qquad (18)$$

Zur Auswertung mittels einer Kurve trägt man m_1 und m_2 in ein Koordinatensystem ein (Bild 22).

Auf der geraden Verbindungslinie der beiden durch m_1 bzw. m_2 bestimmten Punkte liegen alle Extinktionsmoduln $\overline{m}$ für die verschiedenen Mischungen von 100 bis 0 % des Stoffes 1 bzw. von 0 bis 100 % des Stoffes 2. Das Spektralfilter wählt man so aus, daß m_1 und m_2 möglichst verschieden sind. Unter Umständen empfiehlt es sich, mit mehreren Filtern zu messen, damit man eine unabhängige Kontrolle der einzelnen Bestimmungen durchführen kann.

5.45 Konzentrationsbestimmung unter Anwendung von Graufiltern

Die Meßunsicherheit bei einem visuellen Photometer ist durch die physiologischen Eigenschaften des Auges und durch die Ausführung der Meßeinrichtung bedingt. Bei der normalen Ausrüstung des Pulfrich-Photometers mit Lichtwurflamge 6 V 30 W als Lichtquelle und den S-Filtern beträgt die vom Auge herrührende Meßunsicherheit etwa ± 0,8 % des Reintransmissionsgrades ϑ. Bei Untersuchungen von stark absorbierenden Stoffen sinkt die Sehfeldleuchtdichte, während die physiologisch bedingte Meßunsicherheit ansteigt. Der relative Fehler bei Extinktionsmessungen ist außerdem abhängig vom Wert der Extinktion selbst (vgl. Hansen, G.: Der zufällige Fehler bei der Extinktionsmessung mit visuellen Photometern. Sonderdruck Mess S 32-553-1). Der günstigste Extinktionsbereich (s. Abschnitt 5.31, S. 35) ist wesentlich durch die Art der Meßeinrichtung bestimmt. Sind große Extinktionen zu messen, so kann man mit Hilfe von Graufiltern, die in den Strahlengang eingeschaltet werden, wieder in den günstigsten Bereich gelangen und so den relativen Fehler der Extinktions- und damit Konzentrationsmessung beträchtlich verringern. Um den bei größeren Extinktionen auftretenden physiologisch bedingten Fehler zu vermindern, kann man Mattscheiben höherer Durchlässigkeit benutzen, die auf Wunsch geliefert werden.

Nähere Angaben über den Gebrauch dieser Hilfsmittel zur Verringerung der Meßunsicherheit enthält die z. Z. in Vorbereitung befindliche Neuauflage der Gebrauchsanleitung 32-G 516-1.

5.5 Absorptionsmessung zur qualitativen Kennzeichnung

Ein Filterphotometer, wie das Pulfrich-Photometer, gestattet durch Benutzung einer genügend großen Zahl von Farbfiltern mit verhältnismäßig schmalem Durchlaßbereich im visuellen Spektralgebiet die Messung des wellenlängenabhängigen Verlaufs des Transmissionsgrades oder der Extinktion einer Flüssigkeit (vereinfachte oder abgekürzte Spektralphotometrie) durchzuführen. Während durch Messung der Extinktion bei fester Wellenlänge quantitativ die Konzentration einer in Lösung befindlichen Substanz bestimmt werden kann, erlaubt die Messung des wellenlängenabhängigen Verlaufs qualitativ die Identität eines Stoffes zu bestimmen (typische Farbkurve). Durch Messung bei einer oder zwei Wellenlängen läßt sich auch eine die Flüssigkeit charakterisierende Größe gewinnen, die man z. B. auf eine Standardlösung bezieht. — Weiterhin kann man die gewonnene Durchlässigkeitskurve zur valenzmetrischen Festlegung der Farbe auswerten.

5.51 Typische Farbkurve

Zunächst seien die hier geltenden Gleichungen (3 und 5) von Seite 34 wiederholt:

$$\vartheta = 10^{-\varepsilon_\lambda \, c \, d}$$

$$E_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot d$$

Logarithmiert man die letzte Gleichung, so erhält man

$$\log E_\lambda = \log \varepsilon_\lambda + \log c + \log d$$

$$\log E_\lambda = \log \varepsilon_\lambda + \text{const} \qquad (19)$$

In den Diagrammen Bild 23 bis 25 sind die Größen ϑ (3), E_λ (5) und $\log E_\lambda$ (19) für zwei Chromsulfatlösungen von 0,6 g/100 ml bzw. von 1,2 g/100 ml in einer Schichtdicke von 1 cm über der Wellenlänge dargestellt. Hierbei wurde der Reintransmissionsgrad der Lösungen nacheinander mit allen Spektralfiltern gemessen und in Abhängigkeit von der Wellenlänge aufgetragen[1]).

Man erkennt, daß der Verlauf der Kurven in Bild 23 und 24 gegenläufig ist, daß also die Kurven für die verschiedenen Konzentrationen nicht ohne weiteres voneinander ableitbar sind. Dagegen sind die beiden Kurven in Bild 25 durch einfache Parallelverschiebung auseinander zu gewinnen: Die „typische Farbkurve" $\log E(\lambda)$ ist für den untersuchten Stoff spezifisch und von Konzentration und Schichtdicke der untersuchten Lösung unabhängig. Voraussetzung hierfür ist die Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes.

5.52 Reintransmissionsgrad

In der Produktionskontrolle (z. B. für Zuckerlösungen, Öle, Biere) oder auch bei biologischen Untersuchungen (Harnfarbe) benutzt man zur zahlenmäßigen Kennzeichnung den Reintransmissionsgrad oder die Extinktion bei einer geeigneten Wellenlänge. Als Bezugsflüssigkeit dient meist destilliertes Wasser. Gemessen wird, wie in den Abschnitten 3.6 bis 3.63 beschrieben.

Die üblichen Farbskalen – „Stammer-Grade" bei Zuckerklären[2]), die durch Stammer-Farbgläser, oder „Jodfarbzahlen", die durch Jodlösungen bestimmter Konzentration und Schichtdicke charakterisiert sind (vgl. DIN 6162) und noch zur Kennzeichnung von Bieren und Harzlösungen dienen – können durch eine photometrische Messung bei festgelegter Wellenlänge ersetzt werden. So kann man z. B. Stammer-Grade durch Messung mit einem Gibson-Filter der Schwerpunktwellenlänge 560 nm (Filter S 56) bestimmen.

[1]) Wir empfehlen hierzu vorgedruckte Blätter, auf denen die Filterschwerpunkte bereits eingezeichnet sind (s. Muster S. 46/47). Diese Vordrucke können von uns geliefert werden. Bestellnummer: 32 56 80.

[2]) V.D.Z.-Ringbuch, 2. Aufl. Hannover 1955.

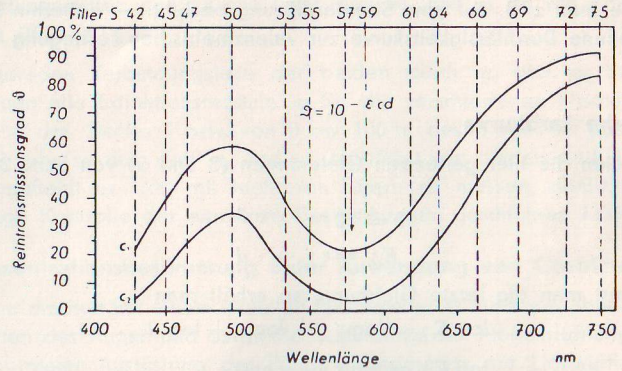

Bild 23

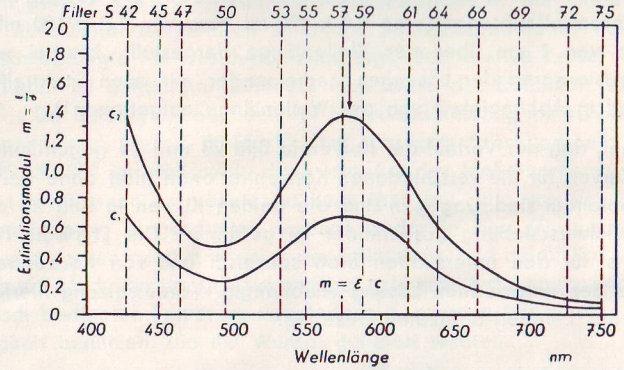

Bild 24

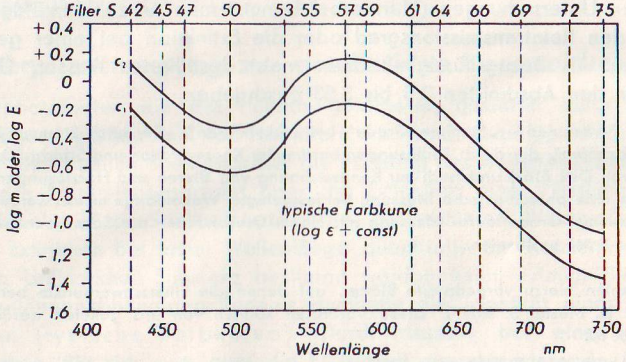

Bild 25

Gegenstand: .....

Schichtdicke d = ... cm

Messung mit dem Pulfrich-Photometer

Reintransmissionsgrad ϑ

100 % 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0

Filter S 42 43 45 47 50 53 55 56 57 59 61 64 66 69 72 75

400 450 500 550 600 650 700 750

Wellenlänge mμ

Datum: .....

Beobachter: .....