

3,4-Dimethoxyloluol lieferte beim Nitrieren das schon bekannte 6-Nitroderivat vom Schmp. 117—118°. Die weitere Nitrierung des Mononitroderivats zur Dinitroverbindung gelang nicht, wenigstens wird es, in derselben Weise wie 5-Nitro-2,3-dimethoxytoluol nitriert, zu stark angegriffen und zersetzt sich vollkommen.

Sendac (Japan), 15. April 1916.

158. Fritz Weigert: Über Absorptionsspektren und über eine einfache Methode zu ihrer quantitativen Bestimmung.

[Vorgetragen in der Sitzung vom 13. März 1916 vom Verfasser.]

(Eingegangen am 6. Mai 1916.

Quantitative und qualitative Absorptionsspektren.

Die Methoden der quantitativen Spektrophotometrie sind seit vielen Jahren entwickelt, und man kann heute sagen, daß es wohl kein Problem auf diesem Gebiete gibt, das nicht durch irgend eine experimentelle Anordnung exakt gelöst werden kann. Es sind ausgezeichnete Methoden vorhanden, um im sichtbaren, ultravioletten und ultraroten Teil des Spektrums die Intensität einzelner Wellenlängen-gebiete zu messen, und vielleicht ist nur die quantitative Durchmessung der Feinstruktur der Spektrallinien noch nicht bis in die äußersten Grenzen möglich.

Den Chemiker interessieren quantitative energetische Beziehungen der einzelnen Spektralgebiete besonders in den Absorptionsspektren. Hier kommt es nicht auf den absoluten Betrag an, sondern die Frage lautet allgemein: Bis zu welchem Bruchteil wird die auffallende Strahlung eines bestimmten, möglichst engen Spektralbezirks durch eine absorbierende Substanz unter bestimmten Bedingungen geschwächt? Wenn für ein kleines Wellenlängen-Intervall $\lambda + d\lambda$ das Lambert-Beersche Gesetz gilt, das in der einfachen, von Bunsen angegebenen Form lautet:

$$\varepsilon_\lambda = \left(\log \frac{I_0}{I} \right)_\lambda = k c d,$$

kann man aus dem experimentell zu bestimmenden Wert von ε_λ , der Konzentration c und der Schichtdicke d die Absorptionskonstante k_λ berechnen und ihren Verlauf im gesamten Spektrum am besten graphisch darstellen. Die Form dieser Absorptions- oder Extinktionskurve ist nun bei Festlegung der Einheit der Konzentration und der Schichtdicke charakteristisch für jeden chemisch konstanten Stoff. Von Bunsen wurde der Zahlenwert von k anschaulich gemacht durch die leicht abzuleitende Angabe, daß er den reziproken Wert der

Schichtdicke einer Lösung von der Konzentration 1 darstellt, durch welche die einfallende Strahlung auf den zehnten Teil geschwächt wird. Der Zahlenwert von k hat also einen direkten physikalischen Sinn. Dasselbe gilt von dem ganzen obigen Ausdruck $\log \frac{I_0}{I}$, der immer der Menge und Dicke der absorbierenden Substanz proportional ist und gewöhnlich mit »Extinktion« (ϵ), »Dichte« (D) oder in dem speziellen Falle der photographischen Sensitometrie mit »Schwärzung« (S) bezeichnet wird.

Man kann wohl mit Recht annehmen, daß die Konstanz des Extinktionsspektrums eines chemisch konstanten Stoffes über das ganze Spektrum scharf gilt, wenn auch die Prüfungen bis jetzt nur in engen Spektralbezirken vorgenommen worden sind. Die Veränderungen und Verschiebungen der Kurven durch die Temperatur, den Aggregatzustand, den Druck, durch die Natur des Lösungsmittels und andere Faktoren ist in allen Fällen auf eine Veränderung im feinsten Bau des Moleküls und auf gröbere chemische Umwandlungen zurückzuführen¹⁾. Besonders der positive Ausfall der Prüfung des Beerschen Gesetzes ist ein Kriterium für die Abwesenheit chemischer Einflüsse, und nur in diesem Fall hat die Berechnung der Absorptionskonstante einen Sinn, während in anderen Fällen nur das unter bestimmten Bedingungen aufgenommene Extinktionsspektrum angegeben werden dürfte. Während die eindeutige Zugehörigkeit eines Extinktionsspektrums zu einem chemisch und physikalisch definierten Stoffe nur für das gesamte Spektrum Gültigkeit hat, gilt dies für bestimmte Gruppen auch für einzelne mehr oder weniger ausgedehnte Teile des Spektrums, und hierauf beruht der ungeheure Wert gerade dieser optischen Bestimmungsstücke für chemische Konstitutionsfragen.

Im sichtbaren Strahlengebiet, das für die Farbe eines Stoffes maßgebend ist, sind photometrische Messungen am einfachsten und wohl auch am genauesten auszuführen. Dieses Gebiet umfaßt aber kaum eine Oktave, mit Einschluß des bequem meßbaren Ultravioletts nur 2 Oktaven des bis jetzt erforschten Gesamtspektrums von ca. $10^{-8}—10^{-2}$ cm Wellenlänge, so daß Konstitutionsfragen auf Grund von Extinktionsmessungen nur mit einem gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit als gelöst betrachtet werden können.

Es ist nun auffallend, daß trotz der allgemeinen Anerkennung der Wichtigkeit quantitativer Absorptionsmessungen die chemische For-

¹⁾ Vergl. hierzu Kayser, Handbuch der Spektroskopie Bd. III, 1905; Ley, Farbe u. Konstitution, Leipzig 1911; S. E. Sheppard, Photochemie, Leipzig 1915; sowie die neueren Einzeluntersuchungen von Hantzsch, Schäfer, Baly u. a.

schung sich im allgemeinen meistens nur qualitativer Angaben bedient, um das Absorptionsspektrum eines Stoffes zu definieren. Wie Kayser und viele andere betont haben, ist die graphische Darstellung eines Absorptionsspektrums mit mehr oder weniger spitzen, bergförmigen Erhebungen nur als eine ganz rohe Annäherung an die wirklichen Verhältnisse zu betrachten, die in hohem Grade von der verwendeten Apparatur (Dispersion und Reinheit des Spektrums, Lichtquelle), der Farbentüchtigkeit des Auges des Beobachters und anderen Bedingungen abhängig ist, und auch die Lage der Maxima und Minima der Kurven nach Wellenlängen, die häufig bis auf Bruchteile von Angstrom-Einheiten genau angegeben wird, ist ohne quantitativ photometrische Hilfsmittel meistens recht ungenau. Auch die Verwendung der photographischen Platte liefert nach der bequemen und vielseitig verwendbaren Methode von Hartley-Baly nur qualitative Resultate¹⁾. Sie sollte in Zukunft durch die ebenso leicht durchzuführende quantitative Methode von Henri²⁾ ersetzt werden. Quantitative spektrophotometrische Messungen werden nur von wenigen Forschern zur Lösung ganz bestimmter Probleme, wie zum Nachweis chemischer Konstanz bestimmter Komplexe usw. durchgeführt, und es ist vielleicht nicht ganz unnötig, auch an dieser Stelle noch einmal auf die ungeheure Wichtigkeit der quantitativen Bestimmung möglichst aller Absorptionsspektren hinzuweisen, denn nur dann ist die zur Darstellung und Reinigung der Präparate von dem Beobachter aufgewandte Mühe nicht verloren.

Für eine später mitzuteilende photochemische Untersuchung war die quantitative Durchmessung einer größeren Anzahl von Farbstoffen notwendig. Um die Arbeit schnell auszuführen, benutzte ich eine einfache Anordnung, die ich weiter unten beschreiben will, da sie erlaubt, relativ schnell das sichtbare Extinktionsspektrum mit den einfachsten Hilfsmitteln zu bestimmen, die sich in jedem chemischen Laboratorium befinden.

Empfindungsspektren.

Beim Vergleich der Extinktionskurven mit den besonders in dem grundlegenden Werk von Formanek³⁾ angegebenen Zeichnungen und Beschreibungen der Absorptionsspektren zeigte es sich nun, daß die Darstellungen sich sehr wenig ähnelten. Banden wurden durchaus richtig an Stellen beschrieben, wo die Extinktionskurve keine Banden zeigt. Zur Charakterisierung bestimmter Farbstoffe wird gewöhnlich

¹⁾ Vergl. S. 1509.

²⁾ V. Henri und J. Bielecky, B. 45, 2819 [1912].

³⁾ Formanek, Untersuchung und Nachweis organischer Farbstoffe auf spektroskopischem Wege. Berlin 1908.

das qualitative Absorptionsspektrum bei verschiedenen Verdünnungen untersucht und dazu bemerkt, daß bei der Verdünnung häufig bestimmte Streifen verschwinden, daß zwei neben einander liegende in einen verschmelzen, und daß das Maximum eines Streifens sich verschiebt. Bei Annahme des Gesetzes von der Konstanz der Spektren sind derartige Beobachtungen nicht zu deuten, und es liegt hier ein Widerspruch vor.

In der Figur 3 auf S. 1505 ist das quantitative und qualitative Spektrum des Rosanilins eingetragen. Das Maximum des Hauptstreifens bei $545.25 \mu\mu^1$) fällt mit dem Maximum der Extinktion zusammen. An Stelle des Nebenstreifens bei $487 \mu\mu$ ist aber nur eine Unstetigkeit der Extinktionskurve zu beobachten. Wenn wir im physikalischen Sinne eine Bande als ein Maximum der Absorption definieren, ist nur der Hauptstreifen als eine reelle Bande zu bezeichnen, der Nebenstreifen aber nur als eine scheinbare Bande. Derartige scheinbare Banden finden sich nun sehr häufig. Sie sind es gerade, die sich bei der Verdünnung verschieben oder verschwinden und die speziell bei Spektroskopen mit geringer Auflösung besonders ausgeprägt erscheinen. Man kann sie vielleicht als Kontrast- und physiologische Banden bezeichnen.

Es sei zu ihrer Deutung an das Aussehen erinnert, welches die photographischen Plattenstreifen zeigen, die mit dem Scheinerschen Sensitometer bei der Bestimmung der Empfindlichkeit photographischer Platten erhalten werden²⁾). Es werden dort dicht aneinander anschließende Felder mit wachsender Dauer belichtet, so daß man eine Stufenreihe neben einander liegender immer dunkler werdender Felder erhält, von denen aber jedes in sich gleichmäßig geschwärzt ist. Der Streifen macht aber bekanntlich einen kannelierten Eindruck. Er besteht scheinbar aus lauter Banden, die nach der dunkleren Seite des Streifens abschattiert sind. Jede Unstetigkeit der Helligkeitsverteilung läßt an der Grenze den belleren Teil zu hell, den dunkleren zu dunkel erscheinen. Die resultierende kannelierte Bande ist um so deutlicher, je ausgeprägter die Unstetigkeit und je schmäler jede einzelne Stufe ist.

Dieselben Verhältnisse liegen nun auch häufig in einem Absorptionsspektrum vor: Die Kurve zeigt Unstetigkeiten, ohne daß eigentliche Maxima oder Minima vorliegen. In der Nähe einer solcher Stelle erblickt man eine Kontrastbande. Man kann sie

¹⁾ Formanek, Untersuchung und Nachweis organischer Farbstoffe auf spektroskopischem Wege. Berlin 1908.

²⁾ Vergl. hierzu Eder, Ausführl. Handbuch der Photographie, III 206 [1903].

häufig dadurch direkt erkennen, daß man das betreffende Spektralgebiet durch einen Okularspalt oder durch Verschieben des Spektrums an den Blendenrand so abblendet, daß der benachbarte Teil der Bande verschwindet. Dadurch verschwindet häufig auch die Bande. Dieselben Erscheinungen liegen natürlich auch in der Photographie einer solchen Kontrastbande vor, so daß, wie auch Willstätter und Stoll¹⁾ betonen, die Spektrumphotographie nicht einen vollständig objektiven Wert besitzt²⁾.

Neben den Kontrasterscheinungen, durch welche Banden vorgetäuscht werden, ist aber noch eine andere Tatsache zu berücksichtigen, die eine Reihe von qualitativen Beobachtungen zu erklären scheint. Die Länge des sichtbaren Spektrums ist im Rot und Violett begrenzt. Wir können die Helligkeitsempfindung des normalen Auges für die verschiedenen Spektralfarben mit dem Absorptionsspektrum eines Farbstoffes vergleichen, der im Rot und Violett eine starke Endabsorption besitzt. Hierüber lagert sich aber noch eine andere Intensitätskurve, die durch das Energiespektrum der verwendeten Lichtquelle gegeben ist. Wenn für eine Wellenlänge λ E_λ die Energie der Strahlungsquelle, H_λ die relative Helligkeitsempfindung des Auges und T_λ die Durchlässigkeit oder Transparenz eines absorbierenden Stoffes bedeutet, dann setzt sich die Lichtempfindung L_λ aus diesen drei Faktoren zusammen.

$$L_\lambda = E_\lambda \cdot H_\lambda \cdot T_\lambda.$$

Auf diese Verhältnisse wurde vor kurzer Zeit von Pirani³⁾ und seinen Mitarbeitern aufmerksam gemacht und sie wurden verwertet, um den physiologischen Schwerpunkt von Farbfiltern und die physiologische Helligkeit der verschiedenen Lichtquellen von neuen Gesichtspunkten aus zu untersuchen⁴⁾. Sie sind aber auch geeignet, die unzweifelhaft richtigen, von einander häufig abweichenden Beobachtungen der qualitativen Absorptionsspektren zu deuten.

Wenn man berücksichtigt, daß das Auge nicht Lichtintensitäten in ihrem absoluten Wert erkennen kann, sondern nur auf bestimmte Intensitätsverhältnisse reagiert, kann man den Helligkeitseindruck,

¹⁾ Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, Berlin 1913, S. 417.

²⁾ Vergl. S. 1509.

³⁾ Pirani, Verh. d. Deutsch. Physikal. Ges. 15, 828 [1913]; 17, 47, 219 [1915]. A. R. Meyer, ebda. 17, 384 [1915].

⁴⁾ Dasselbe Prinzip wurde auch von Hübl in seinem Koloriskop und von anderen Forschern für ähnliche Instrumente verwendet, die qualitativ die Zusammensetzung der herrschenden Lichtverhältnisse zu beurteilen gestatten.

welchen verschiedene Stellen des Spektrums auf das Auge machen, durch das Verhältnis der durch die drei oben erwähnten Faktoren entstandenen Lichteindrücke ausdrücken. Dieses Verhältnis ist in einer logarithmischen Kurve am übersichtlichsten darzustellen, in welcher dieselbe Differenz zweier Ordinatenhöhen dasselbe Verhältnis der zugehörigen Werte ausdrückt. Um also ein Absorptionsspektrum in seinen Helligkeitswerten so darzustellen, wie das Auge es wirklich sieht, muß man für jede Wellenlänge die Summe $\log E_\lambda + \log H_\lambda + \log T_\lambda$ berechnen und in einem rechtwinkligen Koordinatennetz als Ordinaten eintragen. Man erhält dann eine Kurve, deren Form sich mit der Konzentration der absorbierenden Substanz ändert.

Tabelle 1.

λ	$\log H$	$\log E$	$\log L = [\log H + \log E]$	$\log \frac{L_{550}}{L_\lambda}$	λ	$\log H$	$\log E$	$\log L = [\log H + \log E]$	$\log \frac{L_{550}}{L_\lambda}$
400	0.602-1	5.923	5.525	2.434	580	1.942	5.940	7.882	0.077
420	0.000	5.953	5.953	2.006	600	1.803	5.930	7.733	0.226
440	0.463	5.967	6.430	1.529	620	1.588	5.917	7.505	0.454
460	0.864	5.972	6.836	1.128	640	1.244	5.901	7.145	0.814
480	1.188	5.975	7.163	0.796	660	0.833	5.881	6.714	1.245
500	1.560	5.673	7.533	0.426	680	0.177	5.865	6.042	1.917
520	1.900	5.968	7.868	0.091	700	0.080-1	5.846	4.926	3.033
540	1.990	5.963	7.953	0.006	720	0.953-3	5.829	3.782	4.177
550	2.000	5.959	7.959	0.000	740	0.812-4	5.814	2.626	5.333
560	1.996	5.953	7.949	0.010					

Um die Berechnung der einzutragenden Werte aus dem vorher quantitativ zu bestimmenden Extinktionsspektrum der betreffenden Substanz zu erleichtern, hat es sich als praktisch erwiesen, ein Hilfskoordinatennetz zu konstruieren. Wenn man nämlich die Beobachtungen durch ein normales Auge mit einer bestimmten Lichtquelle ausführen läßt, ist die Abhängigkeit von $\log E$ und von $\log H$ über das ganze Spektrum als festgelegt anzunehmen. $\log E_\lambda$ ist das Energiespektrum der betreffenden Lichtquelle in logarithmischer Auftragung, während $\log H$ das Empfindungsspektrum für das normale Auge in derselben Darstellung ist. Wenn man im einfachsten Fall die Lichtquelle als einen schwarzen Körper von bekannter Temperatur annimmt, kann man im allgemeinen das Energiespektrum nach der Planckschen Strahlungsformel berechnen¹⁾), während das Empfin-

¹⁾ $E_\lambda = C_1 \lambda^{-5} \left(\frac{C_2}{C_2 + \lambda^3} - 1 \right)^{-1}$; $C_1 = 3.55 \cdot 10^{-14}$; $C_2 = 1.44$. Vergl. hierzu: Warburg, Leithäuser, Hupka und Müller, W. 10, 609 [1913].

dungsspektrum nicht so scharf festgelegt ist. Da nämlich auch normale trichromatische Augen deutlich verschiedene Helligkeitsempfindungen in den verschiedenen Spektralfarben zeigen, muß man irgend einen Mittelwert annehmen. Für die folgenden Betrachtungen wurde

ein von Ives¹⁾ bestimmtes mittleres Empfindungsspektrum verwendet, das Pirani²⁾ mit einigen Extrapolationen seinen Arbeiten zugrunde gelegt hat. In der Tabelle ist der Logarithmus der prozentualen Helligkeitsempfindung für die verschiedenen Spektralgebiete von 400—740 $\mu\mu$ eingetragen (Maximum bei 550 $\mu\mu$). Gleichzeitig ist der log der Energie des Tageslichts verzeichnet unter der vereinfachenden Annahme, daß die Sonne einen schwarzen Körper von 6000° darstellt.

Beide Werte kombiniert, ergeben eine Funktion, die ihr Maximum in der Gegend von 550 $\mu\mu$ hat. Für die hier beabsichtigten Zwecke, die Form und Lage der im Spektroskop empfundenen Banden durch Berücksichtigung der Helligkeitsempfindung und der Ener-

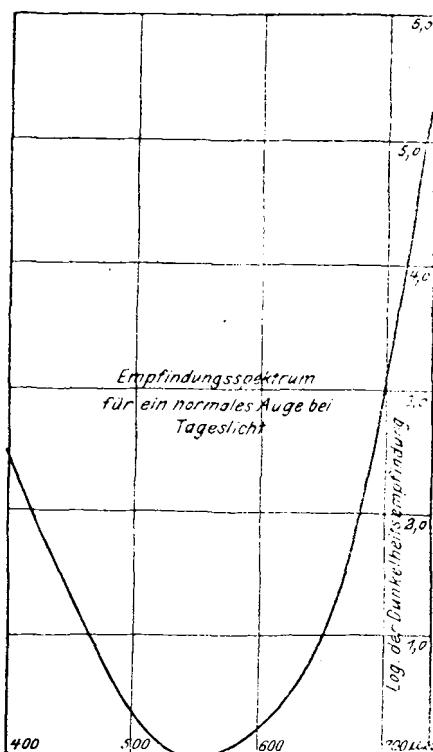


Fig. 1

giewerte zu erklären, ist die relative Dunkelheit wichtig, in der die verschiedenen Teile des Spektrums bei Abwesenheit von absorbierenden Stoffen erscheinen. Wenn wir die Dunkelheit bei 550 $\mu\mu$ gleich 1 sehen, ist der log der relativen Dunkelheit oder

$$[\log H + \log E]_{550} - [\log H + \log E]$$

in der letzten Spalte der Tabelle verzeichnet.

Es sollen nur für Tageslicht, das immer zur Verfügung steht, die Verhältnisse berechnet werden. Sie sind natürlich ohne weiteres auf Lichtquellen von einer anderen Temperatur zu übertragen. In dem

¹⁾ Ives, Phys. Review 35, 401 [1912].

²⁾ Pirani und Miethling, Verh. d. Deutsch. Physikal. Ges. 17, 223

vorhergenden Diagramm (Fig. 1) ist der log der relativen Dunkelheit graphisch eingetragen, und um die gesuchten Empfindungen nach Durchgang des Lichtes durch eine absorbierende Lösung von der Extinktion E zu erhalten, braucht man nur von einem beliebigen Punkt dieser Kurve die Länge E nach oben abzutragen. Dies ist besonders leicht möglich, wenn man sich eine Schar paralleler Kurven, wie die der Fig. 2 aufträgt, welche in einem konstanten Abstand von einander stehen. Man erhält dann ein gebogenes Koordinatennetz, in dem man die Extinktionen für die verschiedenen Wellenlängen leicht verzeichnen kann¹⁾.

Das eigentliche Empfindungsspektrum erkennt man nun in seinen relativen Dunkelheitswerten am besten, wenn man nach dem Einzeichnen der Kurve über das gebogene Koordinatennetz noch ein rechtwinkliges mit Tusche einträgt, das den Logarithmus der Dunkelheitsempfindung abzulesen gestattet. Nur dieses Netz ist für die Diskussionen von Wichtigkeit, und damit das gebogene Hillsnetz nicht die Übersichtlichkeit stört, unterdrückt man es am besten in dem definitiven Diagramm. Dies geschieht bei der photographischen Reproduktion der Kurven automatisch durch Verwendung blauer Netzlinien oder durch Behandeln der besprochenen Eisenblaukopien mit verdünntem Alkali.

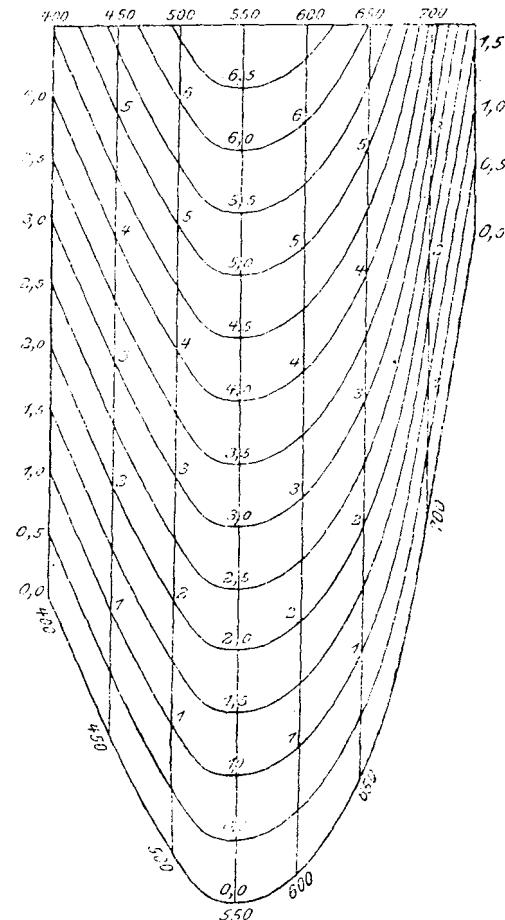


Fig. 2

¹⁾ Die Herstellung eines derartigen, für spezielle Zwecke zu verwendenden Koordinatennetzes ist leicht auszuführen, und da die Verwendung vielleicht auch für andere Zwecke möglich erscheint, soll hier ganz kurz beschrieben werden, wie man am einfachsten eine solche Schar paralleler Kurven

In den Fig. 3 und 4 ist das Extinktionsspektrum¹⁾ des Rosanilins und das Empfindungsspektrum, welches auf die beschriebene Weise konstruiert wurde, dargestellt. Der Wendepunkt der Extinktionskurve in der Gegend von $480 \mu\mu$ macht sich in der Empfindungskurve auf verschiedene Weise bemerklich, je nach der Konzentration der absorbierenden Lösung. Die obere Kurve, welche einer Verdünnung von 1 g in 30 l entspricht, zeigt bei ca. $500 \mu\mu$ einen scharfen Anstieg, dessen Maximum bei $545 \mu\mu$ liegt. An der Stelle dieses scharfen Anstieges erscheint dem Auge eine Kontrastbande, und zwar sieht die Stelle kurz vor dem Anstieg heller aus als ein kleines Stück weiter nach dem Violett zu. Bei einer kleineren Konzentration (1 g in 60 l) ist bei ca. $487 \mu\mu$ eine echte Empfindungsbande zu beobachten, d. h. neben dieser Stelle erscheint sowohl nach Rot wie nach Blau hin das Spektrum heller. Es ist dies der tatsächlich zu beobachtende Nebenstreifen des Rosanilins, während der Hauptstreifen bei $545 \mu\mu$ scharf, aber weniger dunkel

konstruiert. Die eigentliche Kurve, in unserm Fall Fig. 2, wird mit Tusche auf blauem Millimeterpapier aufgetragen und in einem großen photographischen Kopierrahmen auf einer Bromsilberplatte kopiert. Man erhält dann ein Negativ dieser Kurve, das nach Verstärkung mit irgend einem der gewöhnlichen photographischen Verstärker durchsichtig auf stark gedecktem schwarzem Grund erscheint. Diese Negativplatte wird dann durch Ankleben von schwazem Papier an den Rändern vergrößert und auf einem genügend großen Bogen Bromsilberpapier kopiert. Das Bromsilberpapier wird möglichst fest auf einem Reißbrett aufgespannt, an dessen Längskante ein Lineal angenagelt ist, an dem sich die Negativplatte sicher verschieben läßt. Auf die obere Kante des Lineals wird ein Papierstreifen aufgeklebt, mit deutlich sichtbaren Strichen in den Abständen, welche die einzelnen Kurven später haben sollen. Auf der Negativplatte ist ein entsprechender Zeiger angebracht, der für die verschiedenen Aufnahmen auf die einzelnen Striche des Streifens eingestellt wird. Nachdem man durch eine Probeaufnahme die Belichtungszeit festgestellt hat, kopiert man das Negativ nach jedesmaligem Verschieben der Platte so oft, als man Kurven braucht. Die Vergrößerung der Platte durch die angeklebten schwarzen Papierstreifen hat den Zweck, das Bromsilberpapier immer bedeckt zu halten, auch wenn die Negativplatte von einem Ende des Bogens nach dem andern Ende geschoben ist. Es ist dafür Sorge zu tragen, daß die Kante der Negativplatte genau parallel zu der Ordinatenrichtung der Originalkurve ist. Das entwickelte Bromsilberpapier zeigt nun das gesuchte Koordinatennetz, und man trägt nach dem Fertigmachen der photographischen Aufnahme die Abszissenteilung, in unserm Beispiel also die Wellenlängen in geraden Linien, in den notwendigen Abständen ein. Von diesem Original kann man durch eine Reproduktionsanstalt eine große Negativplatte herstellen lassen, die man durch irgend ein Druckverfahren vervielfältigen lassen, oder, falls man nur eine kleine Anzahl von Drucken braucht, durch Kopieren auf dem gewöhnlichen technischen Eisenblaupapier abziehen kann.

¹⁾ In logarithmischer Auftragung der Ordinaten, vergl. hierzu S. 1511.

erscheint. Bei noch größerer Verdünnung der Lösung (1 g in 100 l) ist der Nebenstreifen verschwunden, und man sieht nur den deutlichen Hauptstreifen. Es stimmt dies mit der Beschreibung des qualitativen Rosanilinspektrums überein, welches den Nebenstreifen nur bei einer bestimmten Verdünnung zeigen soll.

Aus der Darstellung der Empfindungsspektren ersieht man aber noch mehr. Das Auge ist nämlich nur imstande, neben einander Intensitäten mit deutlichen Details wahrzunehmen, welche ungefähr im Verhältnis von 1 : 100 stehen. Wird das Verhältnis größer, so ist das Auge in den größeren Helligkeitsgebieten geblendet und kann keine Details mehr unterscheiden. Dann kann das Auge nur Gebiete deutlich erkennen, deren Logarithmen sich um weniger als 2 unter-

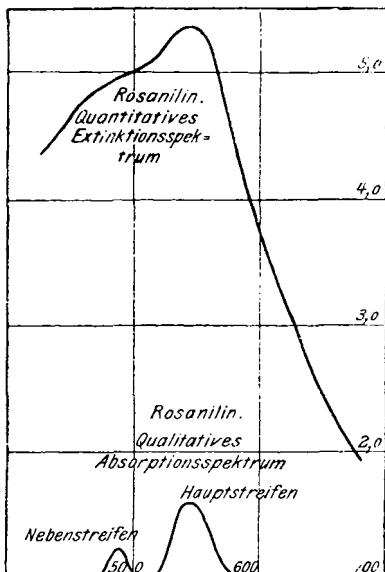


Fig. 3

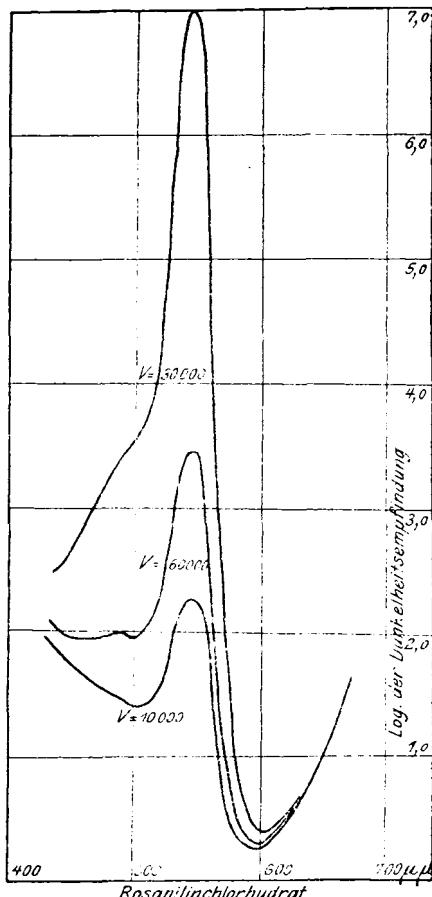


Fig. 4

scheiden. Die obere Kurve der Figur zeigt daher, daß bei der Verdünnung $V = 30\text{ l}$ nur rotes Licht von $570\text{ }μμ$ an durchgelassen wird, da die Absorption in allen andern Spektralgebieten mehr als 100-mal größer ist als das Minimum bei ca. $600\text{ }μμ$ ¹⁾. Bei der zweiten größeren

¹⁾ Die vorher erwähnte Kontrastbande ist nur bei sehr heller Beleuchtung (weiter Spalt) zu erkennen, wenn gleichzeitig das rote Spektralgebiet irgendwie abgeblendet wird.

Verdünnung $V = 60 l$ ist neben dem roten Absorptionsminimum oder Helligkeitsmaximum noch der Nebenstreifen bei 587 deutlich zu unterscheiden. Das eigentliche Maximum des Hauptstreifens bei 545 ist aber nicht deutlich zu sehen, da es 1000-mal dunkler ist als das Helligkeitsmaximum in Rot. Man kann direkt aus der Kurve ablesen, daß zwischen ca. 525 und $560 \mu\mu$ das Spektrum gleichmäßig dunkel erscheint¹⁾). Bei der größeren Verdünnung ist der ganze Hauptstreifen mit allen Helligkeitsunterschieden deutlich zu erkennen, und nur in diesem Fall ist es möglich, bei der Aufnahme des qualitativen Absorptionsspektrums die Wellenlänge des Absorptionsmaximums durch Einstellen auf das Fadenkreuz zu ermitteln.

In Fig. 5, obere Kurve, ist das logar. Extinktionspektrum und in Fig. 6 das Empfindungsspektrum eines natürlichen Gemisches von Chlorophyll a und b eingetragen, und man kann auch hier aus den verschiedenen Kurven eine

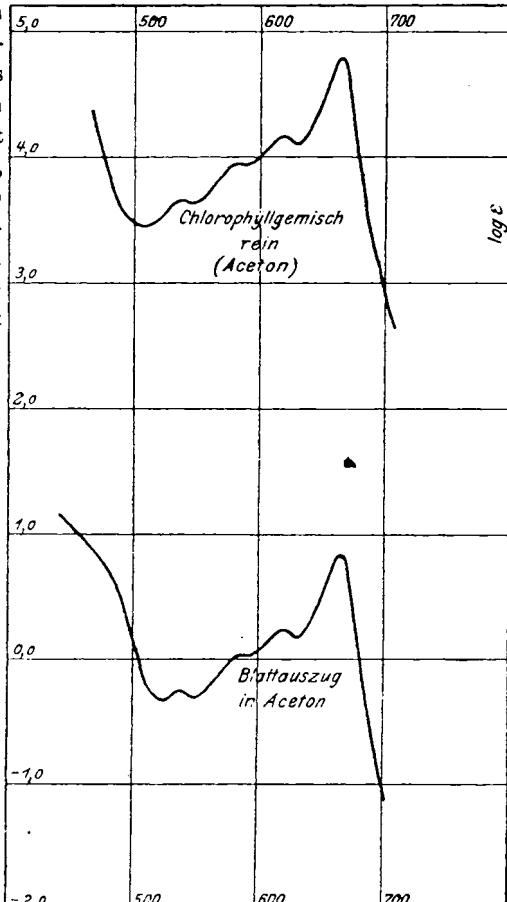


Fig. 5

Reihe von Erscheinungen direkt ablesen, welche sonst nur durch umständliche Erklärungen beschrieben werden können. Wenn wir auch hier zunächst die Kurve der größten Konzentration (0.2 %) betrachten, so sehen wir zunächst, daß die empfundene Dunkelheit auch im hellsten Gebiet im Rot so stark ist, als ob nur ein Zehntausendstel der maximalen Helligkeit vorhanden ist. (Die scheinbare Dichte ist 10000.) Das zweite Absorptionsminimum im Grün bei

¹⁾ Während eine konzentrierte Fuchsinlösung rein rot erscheint, erscheint sie bei größerer Verdünnung rotviolett, da dann auch das Blau merklich mitempfunden wird.

500 $\mu\mu$ liegt bei $\log \epsilon = 6$. Eine 0.2-prozentige Chlorophyll-Lösung in Aceton erscheint demnach gegen eine starke Lichtquelle rein rot, da das Grün zu dunkel ist, um neben dem Rot noch wahrgenommen zu werden. Bei einer

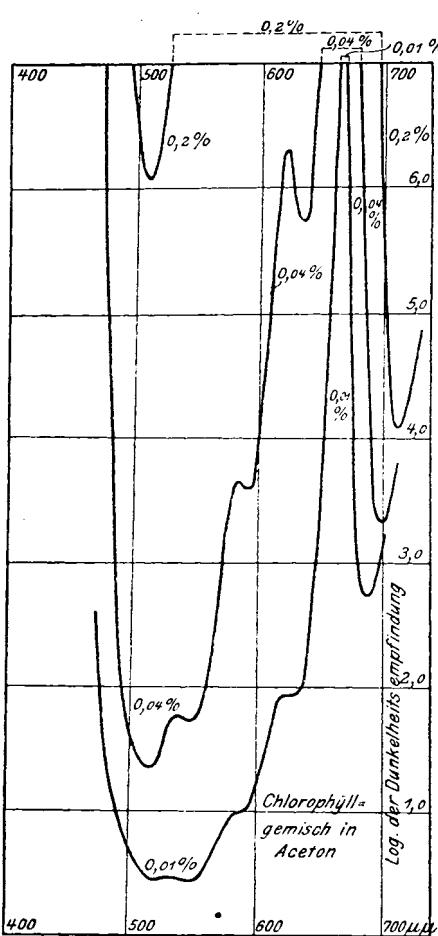


Fig. 6

5-mal geringeren Konzentration ist nach der Kurve für eine 0.04-prozentige Chlorophyll-Lösung in 1 cm Schichtdicke zu ersehen, daß das grüne Absorptionsminimum jetzt bei der Empfindungsdichte ca. 1.4, während das rote in der Nähe von 3.4 liegt. Die Verhältnisse haben sich also vollkommen umgekehrt, und die Lösung erscheint rein grün¹⁾. Diese Unterschiede wären beim Auftragen der Extinktionskurven in einem gewöhnlichen rechtwinkligen Koordinatensystem nicht zu erkennen, da dann bei allen Konzentrationen das Durchlässigkeitsgebiet im Rot tiefer liegen würde als das im Grün. Bei dieser zweiten Konzentration werden auch die Banden, welche nach dem Extinktionsspektrum in Fig. 5 bei 580 und bei 538 deutlich zu erkennen sind, an den entsprechenden Stellen sichtbar²⁾. Es sind dies wahre Absorptionsmaxima. Bei einer noch geringeren Konzentration der Chlorophyll-Lösung (0.01 %) erscheint auch die Bande bei 620 neben der sehr tiefen Absorptionsbande bei 670 $\mu\mu$ noch als reelle Empfindungsbande. Die Bande bei 580 $\mu\mu$ ist nur noch als Kontrastbande bemerklich, während das Absorp-

¹⁾ Diese Erscheinung läßt sich sehr einfach demonstrieren, wenn man einen alkoholischen oder acetonischen Blattauszug in einen Glastrog mit rechteckigem Querschnitt einfüllt. Man kann es dann durch Wahl geeigneter Konzentration erreichen, daß eine helle Lampe beim Betrachten durch die lange Schicht rot, durch die kurze grün erscheint. (Ein scheinbarer Dichroismus).

²⁾ Die Bande bei 620 $\mu\mu$ in dem dunklen Absorptionsgebiet im Orange und Rot bleibt bei gewöhnlicher Spektralbetrachtung unsichtbar. Sie ist nur bei Abblendung des Grüns und starker Beleuchtung zu erkennen.

tionsgebiet im Grün eine vollkommen neue Form angenommen hat, unter Verschiebung der Bande bei ca. $540 \mu\mu$ nach dem blauen Teile des Spektrums. Es ist also durch diese Diskussion zu ersehen, daß eine häufig beschriebene Verschiebung von Absorptionsbanden bei der Verdünnung, die nach dem immer geltenden Beerschen Gesetz durchaus unverständlich erscheint, mit der hier zugrunde gelegten physiologischen Betrachtungsweise leicht zu erklären ist.

Als drittes Beispiel sei das Kaliumpermanganat gewählt, dessen charakteristisches Spektrum stets mit mindestens fünf ausgeprägten Banden beschrieben wird. In der Fig. 7 ist das quantitative Extinktionspektrum eingetragen, und es ist zu ersehen, daß das Permanganat nur bei 547 und $525 \mu\mu$ reelle Absorptionsmaxima hat, zu denen sich vielleicht noch bei $488 \mu\mu$ ein schwaches Maximum gesellt. An den andern Stellen dagegen, wo sonst Banden beobachtet worden sind, und die in der Figur durch Striche bezeichnet sind, sind nur Unstetigkeiten der Kurve zu beobachten. Es sind also keine weiteren reellen Extinktionsmaxima vorhanden. An diesen Stellen werden daher wahrscheinlich Kontrastbanden erscheinen, und die Tatsache,

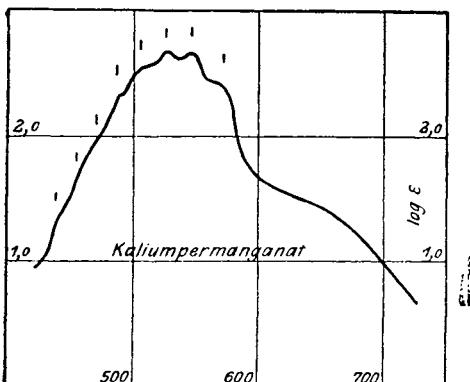


Fig. 7

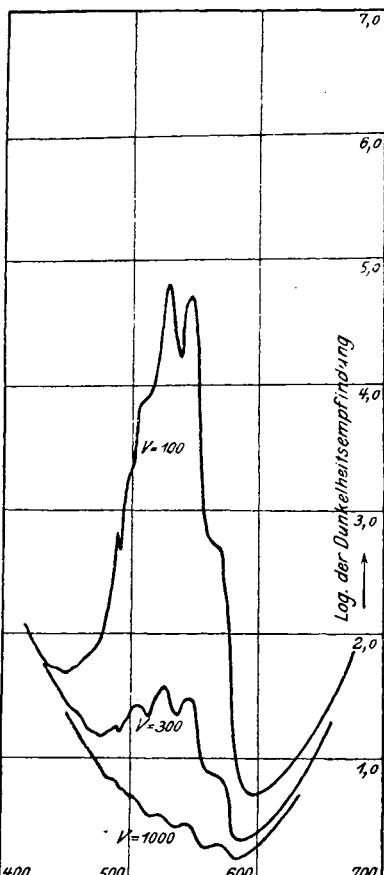


Fig. 8

dass diese Banden nicht nur bei der subjektiven Beobachtung im Spektroskop, sondern auch in der photographischen Abbildung des Absorptionsspektrums des Kaliumpermanganats deutlich zu sehen sind, ist durch diese Kontrasterscheinung, welche ja auf S. 1499 durch einen direkten photographischen Vergleich illustriert wurde, leicht verständlich.

Bei größeren Konzentrationen des Kaliumpermanganats ist die charakteristische erste Bande im Gelb auf die S. 1500 beschriebene Weise als Kontrastbande zu diagnostizieren. Wie aus der Fig. 8 zu ersehen ist, in der die

spektralen Empfindungskurven eingetragen sind, wandelt sie sich bei größerer Verdünnung in ein wirkliches Dunkelheitsmaximum um. Bei einer Konzentration von 1 Mol. in 300 l sind im Empfindungsspektrum des Kaliumpermanganats 7 Banden zu erkennen. Das Aussehen des Spektrums bei verschiedenen Verdünnungen ergibt sich nach dem oben Gesagten ohne weiteres aus Fig. 8.

Diese drei Beispiele mögen genügen, um zu zeigen, daß bei der subjektiven Aufnahme eines qualitativen Absorptionsspektrums sich Verhältnisse ergeben können, die mit dem eigentlichen Extinktionspektrum nur wenig Ähnlichkeit haben. Es ist klar, daß bei der Verwendung eines andern Koordinatennetzes, in dem nicht das Tageslicht, sondern irgend eine andre Lichtquelle zugrunde gelegt ist, sich ganz andre Kurvenformen ergeben können. Ein anomales Auge würde wieder andre Kurven wahrnehmen, und bei der graphischen Wiedergabe der qualitativen Spektren sind weitere Täuschungen möglich.

Photographische Spektren.

Wir haben im Vorstehenden gesehen, daß das Auge nicht imstande ist, die für einen Stoff charakteristische Lichtabsorption zu erkennen. Dasselbe gilt aber auch für die photographische Platte. Man könnte einfach ein Koordinatensystem konstruieren, bei dem anstatt $\log H$ das Empfindlichkeitsspektrum der gewählten photographischen Platte eingeführt wird. Es ist bekannt, daß die Empfindlichkeit einer photographischen Platte über das ganze Spektralgebiet variiert, und daß diese Veränderlichkeit von den verschiedensten Faktoren abhängig ist, am meisten von dem Farbstoff, der zugesetzt wurde, um die photographische Platte für bestimmte langwellige Gebiete zu sensibilisieren. Auch bei den so häufig gebrauchten panchromatischen Platten von Wratten und Wainright ist das Sensibilisierungsspektrum durchaus keine mit der Abszissenachse parallele Linie¹⁾.

Die photographischen Absorptionsspektren können nach den obigen Betrachtungen sehr starke Täuschungen ergeben. Dies gilt nicht nur für die eigentliche photographische Abbildung des Spektrums in Form eines Streifens, der in den verschiedenen Gebieten verschieden stark geschwärzt ist, sondern auch für die besonders in

¹⁾ Auf diese Verhältnisse ist schon häufig hingewiesen worden, und es wurden schon eine Reihe von Vorschlägen gemacht (Mees u. a.), diesen Fehler der photographischen Platte durch geeignete Farbfilter zu kompensieren. Vergl. hierzu die gute Literaturübersicht in der unter Luthers Leitung ausgeführten Dissertation von Ewest, Berlin 1913. In dieser Arbeit werden auch eine Reihe älterer und neuer Methoden mitgeteilt, die qualitativen Schattengrenzkurven zu quantitativen Extinktionsbestimmungen zu verwerten.

der letzten Zeit häufig angewendete Art der Darstellung von Absorptionsspektrum in Form einer wellenförmigen Schattenkurve (vergl. die Literatur bei Ewest¹⁾). Das Prinzip dieser automatischen photographischen Wiedergabe von Absorptionsspektren besteht darin, daß ein breites Spektralband in schmale Teilspektren zerlegt wird, für welche entweder die Belichtung oder die Absorption durch den betreffenden Farbstoff in bestimmter Weise variiert wird. Dies wird in der bekannten Wiedergabe der Absorption nach den Methoden von Hartley und Baly durch dicht untereinander liegende Serienaufnahmen erreicht, bei denen die Farbstoffmenge, welche das Licht absorbiert, in bestimmter Weise zunimmt, wodurch sich dann die bekannten wellenförmigen Schattengrenzen auf den photographischen Platten ergeben. Mit einer einzigen Aufnahme kann man dieselben Effekte erreichen, wenn man vor dem Eintrittsspalt des Spektrographen ein keilförmiges Gefäß mit dem betreffenden Farbstoff befestigt oder bei Verwendung einer Farbstoffcuvette mit parallelen Wänden die Belichtung an den einzelnen Stellen des Spaltes durch irgend eine Vorrichtung — einen rotierenden Sektor oder einen Graukeil — kontinuierlich ändert. Mittels dieser Anordnungen haben Wood, und Mees ihre Atlanten der Absorptionsspektren hergestellt, und in neuester Zeit ist diese Methode durch Ewest noch weiter verbessert worden.

Da aber, wie aus den obigen Betrachtungen hervorgeht, auch bei diesen Arten der Darstellung, welche meistens sehr gut aussehende Kurven liefern, Täuschungen durch das Energiespektrum der verwendeten Lichtquelle und das Empfindlichkeitsspektrum der photographischen Platte niemals mit Sicherheit zu vermeiden sein werden, erscheint es unumgänglich notwendig, für exakte Messungen und Identifikationen absorbierender Stoffe diese qualitativen Darstellungen durch die quantitativen Extinktionsspektren zu ersetzen¹⁾.

Typische Farbkurven.

Die Wiedergabe der Extinktionsspektren geschieht am vorteilhaftesten graphisch, und zwar werden auf der Abszisse entweder die Wellenlängen in gleichen Abständen aufgetragen, so daß die Darstellung einem normalen Gitterspektrum entsprechen würde. Diese Art der Auftragung der Wellenlinie soll im Folgenden beibehalten werden, da vorwiegend die Absorption im sichtbaren Spektren betrachtet wird, bei der man gewöhnt ist, mit Wellenlängen zu rechnen. Die Einteilung der Abszisse in Schwingungszahlen ν an Stelle der Wellen-

¹⁾ Siehe Fußnote zu vorhergehender Seite.

länge λ ist durch eine einfache Umrechnung möglich; sie ist aus verschiedenen Gründen für ultraviolette Spektren bequemer¹⁾.

Die Extinktion wird in dem Diagramm häufig direkt eingetragen. Wie aus der Fig. 9 zu ersehen ist, werden dann bei starken Unterschieden der Extinktion sehr unübersichtliche, in der Höhenrichtung verzerrte Kurven erhalten, und es hat sich deshalb der Brauch eingebürgert, die Extinktion nicht als solche aufzutragen, sondern den Zahlenwert ihres Logarithmus²⁾ (Fig. 10). Diese Art der Dar-

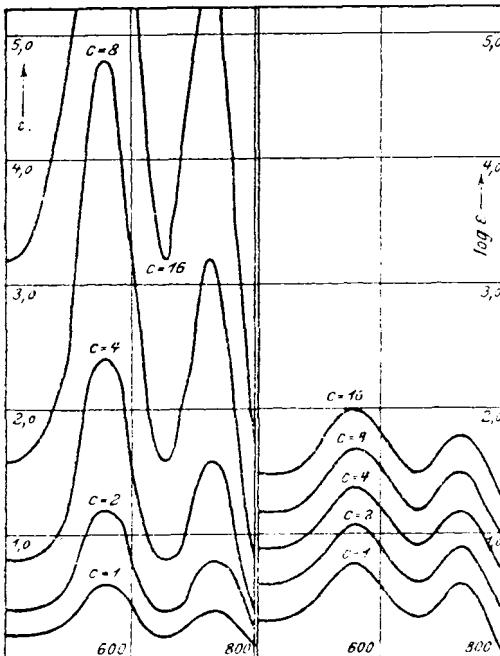


Fig. 9

Fig. 10

¹⁾ Bei einer für spätere Zeit beabsichtigten Durchführung der Messung einer möglichst großen Anzahl von Extinktionsspektren wird natürlich eine einheitliche Einteilung der Abszisse eingehalten werden.

²⁾ Von Baly wurde diese Art der Darstellung bei der graphischen Wiedergabe der Absorptionsspektren nach der Hartleyschen Methode deshalb besonders empfohlen, weil ein Absorptionsstreifen dieselbe Form behält, wenn er innerhalb einer bestimmten relativen Änderung der Konzentration erhalten bleibt. Baly hält diese »Beständigkeit« (persistance) für eine charakteristische Eigenschaft bestimmter Atomgruppen und verwendet die Diskussion der Absorptionsspektren von diesem Gesichtspunkt aus zu weitgehenden theoretischen Schlußfolgerungen. Die Anwendung des logarithmischen Maßstabes wird zunächst nur bei den qualitativen, auf photographischem Wege erhaltenen Kur-

stellung scheint noch einen anderen außerordentlich wichtigen Vorteil zu haben. Wie aus der Nebeneinanderstellung in den Figg. 9 u. 10 zu ersehen ist, haben bei der logarithmischen Darstellung der Extinktion sämtliche Kurven bei den verschiedensten Konzentrationen dieselbe Gestalt. Das gilt natürlich auch für die verschiedenen Schichtdicken und die verschiedenen gewählten Einheiten. Je nach der Wahl dieser verschiedenen Faktoren findet lediglich eine Parallelverschiebung in der Richtung der Ordinate statt.

Die Form dieser Kurve ist demnach bei festgelegtem Maßstab des Koordinatensystems für irgend einen absorbierenden Stoff als charakteristisch zu bezeichnen. Es ist viel leichter, durch diese Kurvenform einen unbekannten Stoff durch Vergleich mit einer Sammlung von Extinktionsspektren zu identifizieren, als nach der graphischen Darstellung seines wirklichen Extinktionsspektrums. Die Kurve stellt nicht die Extinktion des Farbstoffes in einem bestimmten Spektralgebiet selbst dar, sondern sie gibt durch den Unterschied ihrer Höhe nur das relative Verhältnis der einzelnen Extinktionen bei den verschiedenen Wellenlängen an. Sie hat also eine ganz feste physikalische Bedeutung, und ich möchte vorschlagen, sie als typische Farbkurve zu bezeichnen.

Es ist natürlich, daß man durch entsprechende Numerierung der Ordinaten eine bestimmte Einheit zugrunde legen kann, und im Folgenden ist meistens die Konzentration 1 g pro ccm in einer Schichtdicke von 1 cm gewählt. In der Fig. 5 oben ist die typische Farbkurve eines reinen Chlorophyllgemisches eingetragen. Der Zahlenwert auf der Ordinate besagt hier z. B., daß eine Lösung von 1 g in 1 ccm in 1 cm Schichtdicke bei $600 \mu\mu$ die Extinktion 10000 hat, oder die Absorptionskonstante ist 10000. Außerdem ist aber sofort abzulesen, wie groß bei jeder Konzentration die Extinktion ist. Wenn wir die typische Farbkurve für eine $\frac{1}{100}$ -proz. Lösung zeichnen würden, würde die Nulllinie der Ordinaten an der Stelle liegen, wo vorher die 4 stand, d. h. bei $600 \mu\mu$ würde die Extinktion = 1 sein, und man kann sagen, daß das Licht unter diesen Bedingungen auf $\frac{1}{10}$ geschwächt wird. Um die Berechnung der Extinktion, die für manche Zwecke nötig ist (z. B. um die Kurven der erwähnten Empfindungsspektren zu konstruieren), zu erleichtern, zeichnet man sich auf Pauspapier ein Liniensystem in logarithmischen Abständen,

ven empfohlen, Baly macht jedoch gleichzeitig den Vorschlag, diese Art der Darstellung auch auf andere graphische Wiedergaben spektroskopischer Messungen auszudehnen. Von Henri werden bei seinen zahlreichen spektralphotometrischen Untersuchungen die direkte und logarithmische Wiedergabe der quantitativ ermittelten Extinktion als gleichberechtigt betrachtet, und auch Baly bemerkt in seiner neuesten Untersuchung, in der er die Absorptionskonstanten verwertet, daß es sie „der Bequemlichkeit wegen“ in logarithmischem Maßstab in die Diagramme einträgt.

welches durch Überlegen über die typische Farbkurve direkt die Extinktion abzulesen gestattet. Wenn man andererseits eine unbekannte Konzentration eines beliebigen Farbstoffs photometriert und die typische Farbkurve nach diesen Messungen auf geteiltem Pauspapier aufträgt, so kann man, wenn man diese unbekannte Konzentration zunächst willkürlich = 1 gesetzt hat, ihren Wert feststellen, indem man diese Kurve über die für eine bekannte Einheit konstruierte Farbkurve legt und zur Deckung bringt. Die Nulllinie auf dem transparenten Diagramm liegt dann über einem bestimmten Ordinatenwert des unteren Diagramms, und dieser ist dann der Logarithmus der unbekannten Verdünnung.

Es liegt hier also eine Art graphischer Colorimetrie vor, die natürlich weniger einfach ist als die gewöhnlich gebräuchliche Colorimetrie durch Vergleich einer Lösung unbekannter Konzentration mit einer andern von bekannter Konzentration. Sie ist aber vielleicht von Vorteil in Fällen, wo die reine Substanz nicht zur Verfügung steht oder schwer zu erhalten ist. Die Fig. 5 bietet ein Beispiel hierfür. Die obere Farbkurve entspricht einem Gemisch von Chlorophyll a und b im natürlichen Verhältnis, das ich den H.Hrn. Willstätter und Stoll verdanke, und das von ihnen als rein bezeichnet worden ist. Die untere Kurve ist die Farbkurve für den Auszug des gesamten, in 10 g frischen Spinatblättern enthaltenen Blattfarbstoffes in 100 ccm 85-prozentigem Aceton. Beim Auflegen der unteren Kurve auf die obere fallen die beiden Farbkurven nur in dem Gebiet oberhalb $550 \mu\mu$ zusammen, da der Blattauszug in Blau durch die Gegenwart der gelben Carotine stärker absorbiert als das reine Chlorophyll. Man kann also auf diese Weise auch ohne Abtrennung der gelben Farbstoffe die Konzentration ermitteln, was bei der gewöhnlichen optischen Colorimetrie durch den verschiedenen Farbton nicht ganz leicht wäre. Es ergab sich in diesem Beispiel eine Chlorophyllkonzentration von 0.011 g in 10 g frischen Blättern.

Prinzip des verwendeten Photometers.

Die experimentelle Bestimmung der typischen Farbkurven ist natürlich nicht an eine bestimmte photometrische Methode gebunden. Jedes der bekannten Spektralphotometer für das sichtbare und unsichtbare Spektrum ist dafür geeignet. Wenn ich im Folgenden eine neue einfache Anordnung kurz beschreibe, so soll damit kein Ersatz für die früheren Vorrichtungen gegeben werden, es ist vielmehr beabsichtigt, die quantitative Bestimmung von Extinktionsspektren auch weiteren Kreisen von Chemikern zu ermöglichen. Die Anordnung ist bis jetzt nur für den sichtbaren Teil des Spektrums durchgearbeitet, eine Übertragung auf den unsichtbaren Teil ist durchaus möglich und soll später mitgeteilt werden.

Die photometrischen Anordnungen, bei denen die Messung mit dem Auge ausgeführt wird, beruhen ganz allgemein darauf, daß zwei beleuchtete Felder mit einander verglichen werden, von denen das eine Licht empfängt, das durch die zu untersuchende Substanz gegangen ist, während das andre durch meßbar geschwächtes Licht beleuchtet wird. Diese Schwächung wird meistens durch irgend eine Vorrichtung so lange geändert, bis die Felder gleich hell erscheinen. Die Lichtschwächung kann auf verschiedene Weise bewirkt werden. Sie kann durch Verkleinern von Spaltöffnungen und Blenden geschehen, durch Entfernungänderungen konstant brennender Lampen, durch Intensitätsänderungen geeichter Glühlampen, durch absorbierende Graugläser oder endlich durch Veränderung des Winkels zweier sich kreuzender Polarisationsebenen. Nach diesen Prinzipien werden die Photometer in verschiedene Typen eingeteilt.

Eine andere allgemeinere Einteilung ergibt die Angabe des Ortes, an welchem das photometrische Vergleichsfeld liegt, und zwar kann dies der Spalt des verwendeten Spektroskops sein oder irgend eine Stelle außerhalb des Spaltes¹⁾. Zu der ersten Klasse von Photometern, bei denen der Spalt durch eine Trennungslinie in zwei Felder geteilt ist, deren Helligkeit mit einander verglichen wird, gehören die Photometer von Vierordt, Krüß, Goldberg, Glan, Crova, Hüfner, die Spektralcolorimeter von Martens, Krüß und andere Anordnungen. Diese apparativ einfachen Instrumente sind für die Messung deshalb unbequem, weil nur ein ganz schmaler Streifen, eben das für ein bestimmtes Spektralgebiet ausgeblendete Spaltbild beobachtet wird, wodurch die Messungen ziemlich ermüdend sind. Es ist eine photometrisch wohlbekannte Tatsache, daß der Vergleich der Helligkeit zweier sich berührender Felder um so genauer ist, je größer diese Felder und ihre Trennungslinie sind. Dieses Prinzip wird bei dem zweiten Photometertyp, in den Spektralphotometern von Lummer und Brodhun, das später von Krüß etwas modifiziert wurde, von Brace und in dem Spektralphotometer von König und Martens, Wanner und Nernst-Hildebrand verwertet. Bei diesen Apparaten werden möglichst große Vergleichsfelder entweder durch einen Lummer-Brodhunschen Photometerwürfel oder durch ein Zwillingsprisma in dem eigentlichen Spektroskop optisch geschaffen. Diese Vergleichsfelder werden durch einen engen Okularspalt betrachtet und

¹⁾ In einer der vielen anregenden Diskussionen über photometrische Fragen, die ich mit meinem Freund Hrn. E. Goldberg, Leipzig, zu meiner Freude führen konnte, wurde von ihm zur Unterscheidung dieser beiden Photometertypen die Abbildung des Eintrittsspalts auf der Retina oder in der Pupille des Auges vorgeschlagen.

erscheinen daher in einer von dessen Stellung abhängigen monochromatischen Beleuchtung. Für derartige Messungen ist also ein spezieller spektrophotometrischer Apparat notwendig. Man kann einen solchen nun vermeiden, und das ist in der im Folgenden zu beschreibenden Anordnung zu geschehen, wenn man das eigentliche photometrische Vergleichsfeld außerhalb des eigentlichen Spektroskopes verlegt.

Wenn man durch ein gewöhnliches gutes Spektroskop, dessen Okular man herausgenommen hat, und in dessen Fadenkreuzebene ein einfacher Okularspalt gesetzt worden ist, hindurchblickt, erscheinen die äußeren Gegenstände in ihrer natürlichen Gestalt, aber einfarbig. Die beiden in jedem Spektroskop enthaltenen Linsen, das Kollimator- und Fernrohrobjectiv entwerfen an irgend einer Stelle im Fernrohr ein reelles Bild der äußeren Gegenstände, das genau so monochromatisch anvisiert werden kann wie die Vergleichsfelder in den vorher erwähnten Apparaten. Falls die Entfernung dieses reellen Bildes kleiner ist als die deutliche Sehweite, kann es durch eine Lupe betrachtet werden, die entweder vor dem Okularspalt oder vor dem Eintrittsspalt des Spektroskops angebracht werden kann. Mit einer ähnlichen Einrichtung beobachtete Thovert¹⁾ das Vergleichsfeld eines gewöhnlichen Abstandsphotometers und konnte es dadurch ohne weiteres als Spektralphotometer verwenden.

Wenn man mit einer derartigen einfachen Anordnung zwei Gefäße, z. B. Reagensgläser, welche zwei verschieden gefärbte Flüssigkeiten enthalten, monochromatisch anvisiert, und durch irgend eine Meßeinrichtung (Wellenlängentrommel usw.) das ganze Spektrum abtastet, so findet man immer eine bestimmte Farbe, bei welcher die beiden Gläser gleich hell erscheinen. Wenn man nun das Absorptionsspektrum der einen gefärbten Lösung kennt, hat in der Spektralfarbe, wo Gleichheit beobachtet wurde, die unbekannte Lösung dieselbe Absorption. Falls das Beersche Gesetz gilt, was in jedem Fall zuerst geprüft werden muß, kann man durch Verdünnung der bekannten Lösung die Absorptionen der unbekannten Lösung in anderen Spektralgebieten feststellen und so in sehr kurzer Zeit das ganze Absorptionsspektrum aufnehmen. In der Fig. 11 ist unten das Extinktionsspektrum einer bekannten und unbekannten Lösung eingetragen. Beim Abtasten des Spektrums nach der obigen Methode wurde Gleichheit bei λ_1 und λ_2 gefunden, die unbekannte Lösung hat also bei diesen beiden Wellenlängen die Extinktion der bekannten

¹⁾ Thovert, J. de phys. (4) 8, 834 [1909]; (5) 2, 34 [1912]. — C. r. 148, 625 [1909].

Lösung. In der oberen Figur ist das Schema dargestellt, wie man durch Verdünnen der bekannten oder der unbekannten Lösung auf das doppelte Volumen vier weitere Extinktionen bei λ_2 , λ_3 , λ_4 , λ_5 und λ_6 ermitteln kann. Wenn beide Lösungen gleichzeitig verdünnt werden, muß, falls das Beersche Gesetz gültig ist, wieder Gleichheit der Helligkeit bei den Wellenlängen λ_3 und λ_2 beobachtet werden, und ein oder mehrere derartige Versuche bei verschiedenen Verdünnungen genügen meistens, um die Gültigkeit des Beerschen Gesetzes nachzuweisen.

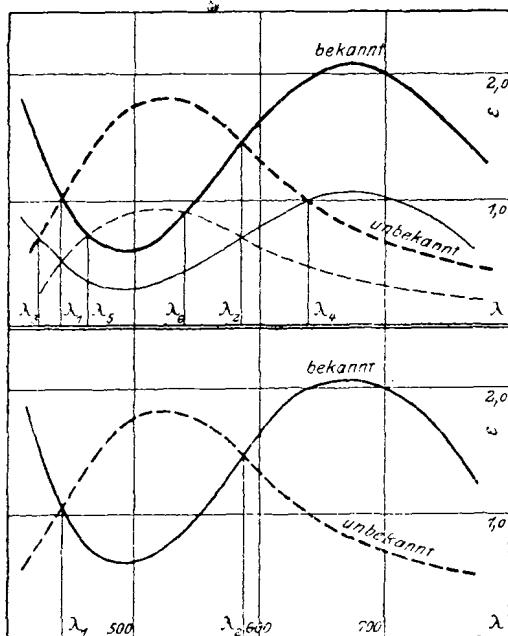


Fig. 11

Die Genauigkeit, mit der die Messungen ausgeführt werden können, ist dieselbe wie bei gewöhnlichen spektralphotometrischen Arbeiten. Sie wird erhöht, wenn die beiden zu vergleichenden Lichtintensitäten in einer scharfen Trennungslinie sich berühren. Doch ist, wie in zahlreichen Versuchen festgestellt werden konnte, die beschriebene einfache Anordnung unter Verwendung möglichst vergleichener Reagensgläser ausreichend, um die Extinktionskurve eines Farbstoffs mit genügender Genauigkeit aufzunehmen. Für exaktere quantitative spektralanalytische Arbeiten, für die im Folgenden noch einige Beispiele gegeben werden sollen, ist es besser, die zu vergleichenden Lösungen in ebene Glaströge einzufüllen (Leyboldsche Tröge). Durch Einführung eines Hüfner-Albrechtschen Glasrhombus in den Strahlengang kann man die beiden Vergleichsfelder unmittelbar an einander rücken, indem man die Kante des Rhombus durch das Spektroskop anvisiert.

Die Normalsubstanz.

Die im Prinzip beschriebene Methode schwächt also nicht, wie die meisten der vorher erwähnten, irgend eine Lichtintensität in bekannter Weise, sondern sie benutzt das Absorptionsspektrum irgend einer bekannten Substanz und sucht die Wellenlänge auf, bei welcher die unbekannte Substanz die gleiche Absorption hat. Hierdurch ist sie etwas einfacher als die beschriebenen, da keine Einrichtung zur Lichtschwächung vorhanden zu sein braucht, und es wird bei der eigentlichen Messung dadurch eine Ablesung vermieden. Dagegen ist die Methode an die Kenntnis der Extinktion einer bestimmten Substanz gebunden. Es ist eine relative und keine absolute Methode.

Die Normalsubstanz, mit deren Extinktionsspektrum alle andern Extinktionsspektren ermittelt werden sollen, muß eine Reihe von Bedingungen erfüllen. Sie muß vor allen Dingen in dem Spektralgebiete, für das sie verwendet werden soll, optisch konstant sein und dem Beerschen und Lambertschen Gesetze scharf folgen. Dann müssen die Lösungen bequem und genau herzustellen sein und dürfen sich nicht mit der Zeit verändern. Durch diese Bedingung ist schon die Verwendung organischer Farbstoffe ausgeschlossen. Diese zeigen erst bei sehr großen Verdünnungen die für die Messungen notwendige geringe Extinktion in der Nähe von 1, und derartig verdünnte Lösungen sind gegen Luftsauerstoff und Licht sehr empfindlich. Außerdem ist man bei Verwendung organischer Farbstoffe meistens auf Produkte irgend einer bestimmten Fabrik angewiesen, und die Reinigung ist mit Schwierigkeiten verknüpft. Anorganische gefärbte Stoffe sind dagegen weniger intensiv gefärbt. Ihre Reinigung ist einfacher, und die notwendigen relativ konzentrierteren Lösungen sind geringeren chemischen Veränderungen ausgesetzt. Als eine weitere Bedingung für die vorzuschlagende Normalsubstanz ist die bequeme Herstellung und Verwendung der Lösungen auch für einen Ungeübten zu bezeichnen, und sie wäre als ideal zu betrachten, wenn sie nur durch Auflösungen einer genau abgewogenen Substanzmenge im gewöhnlichen destillierten Wasser zu erhalten wäre. Die typische Farbkurve der Bezugssubstanz soll einfach sein. Am vorteilhaftesten wäre eine neutralgraue Substanz, deren typische Farbkurve eine mit der Abszissenachse parallele Linie ist.

Es ist bis jetzt noch nicht erreicht, eine Normalsubstanz aufzufinden, welche allen erwähnten Bedingungen entspricht. Ein äquimolekulares Gemisch von Kupfersulfat und Kaliumchromat in ammonikalischer Lösung hat eine grüne Farbe, und das Extinktionspektrum dieses Gemisches ist in der Fig. 12 eingetragen. Die Ex-

tinktion ändert sich jedoch schon mit dem Ammoniakgehalt, und die Kurve entspricht einer 2.0-normalen NH_3 -Lösung¹⁾.

Die an und für sich einfach zu erfüllende Bedingung, die Lösung 2.0-fachnormal an NH_3 zu halten, ist praktisch nicht so leicht einzuhalten; denn schon ein zu langes Stehenlassen der Lösungen in den nicht dicht zu verschließenden Cuvetten veranlaßt eine Verdunstung des Ammoniaks und damit eine optische Veränderung der Lösung. Auch ein zu langes Offenhalten der Vorratsflasche kann eine Ver-

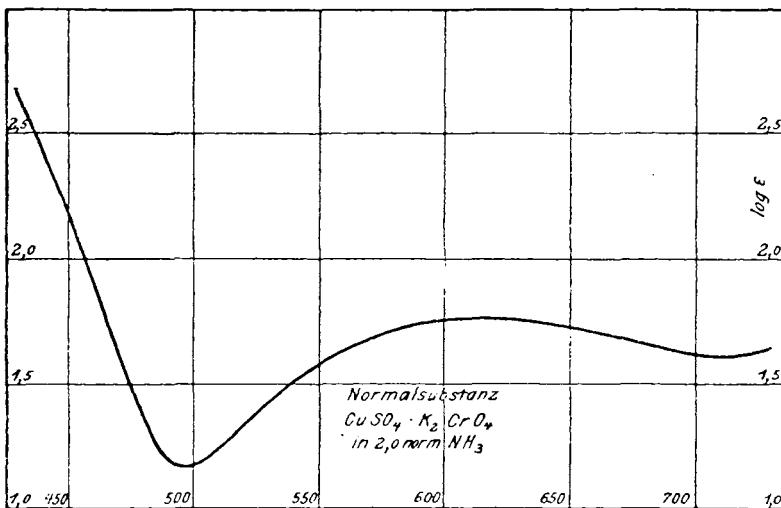


Fig. 12

änderung hervorrufen. Die Veränderung der Extinktion bei geringen Ammoniakveränderungen liegt häufig innerhalb der Beobachtungsfehler; die Bezugslösung kann aber vorläufig noch nicht als optisch

¹⁾ Der Teil der Kurve vom Minimum nach dem roten Teile des Spektrums hin ist durch den Anteil der komplexen Kupfer-Ammoniak-Verbindung in dem Gemische bedingt. Der scharf ansteigende Ast auf der blauen Seite entspricht der alkalischen Chromatlösung. Während nun diese nach den Untersuchungen von Hantzsch (Ph. Ch. 72, 362 [1910]) unabhängig von dem Ammoniakgehalte der Lösung ist, falls nur die Reaktion deutlich alkalisch ist, ist dies für die Extinktion der ammoniakalischen Kupferlösungen nicht der Fall. Es hat sich nämlich bei der optischen Untersuchung von Kupfersulfatlösungen, die mit verschiedenen Mengen Ammoniak versetzt waren, gezeigt, daß nur bei Verdünnung der Lösungen mit einer Ammoniaklösung von konstanter Konzentration das Beersche Gesetz streng erfüllt ist. Dies geht auch schon aus der Tabelle 1 der Untersuchung von Hantzsch und Robertsen (B. 41, 4328 [1908]) hervor. Die optische Konstanz der Bezugslösung ist daher an eine Konstanz der Ammoniak-Konzentration gebunden.

sicher angesehen werden und soll deshalb zunächst mit dem obigen Vorbehalt empfohlen werden. Ich hoffe, sie in kurzer Zeit durch eine zuverlässigeren ersetzen zu können.

Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß schon früher Normallösungen für spektrophotometrische Messungen empfohlen worden sind¹⁾. Es waren dies Lösungen von Kaliumbichromat, von denen Hantzsch²⁾ gezeigt hat, daß sie als optisch nicht konstant zu betrachten sind, Lösungen von Kaliumpermanganat, das besonders in verdünnten Lösungen leicht durch organischen Staub verändert wird, und vor allen Dingen ein so äußerst kompliziertes Spektrum hat, daß die Messungen sehr unbequem werden (vergl. Fig. 7). Drittens wurde die ammonikalische Kupfersulfatlösung ohne weitere Angabe der Bedingungen vorgeschlagen, was nach dem Obigen unzulässig ist. Die Verwendung farbiger Gläser ist für die hier beabsichtigten Zwecke auszuschließen, weil bei Verlust eines geeichten Glases eine Reproduktion der früheren Werte unmöglich ist.

Über die Zahlenwerte der absoluten Extinktion der Bezugssubstanz ist Folgendes zu sagen: Die in der Fig. 12 wiedergegebene Kurve ist mit einem Spektralphotometer von König und Martens³⁾ aufgenommen worden und entspricht der mittleren Kurve einer großen Anzahl von Bestimmungen. Die Genauigkeit ihrer Festlegung entspricht der Genauigkeit der betreffenden Methode. Durch Vergleich einer unbekannten Substanz mit dieser Extinktionskurve ist die Extinktion derselben innerhalb der Genauigkeit gewöhnlicher photometrischer Messungen festzulegen. Es ist jedoch zu bedenken, daß die äußerste Genauigkeit bei der Bestimmung eines Extinktionskoeffizienten nur selten notwendig ist. Ein solcher Fall tritt z. B. ein, wenn die Schwächung der Strahlung durch ein Farbfilter auf einen ganz bestimmten Betrag verlangt wird. Meistens werden nur relative Absorptionsmessungen erforderlich sein, und hierfür ist eine geringere Genauigkeit des absoluten Wertes der Extinktion vollkommen ausreichend. So braucht z. B., um ein extremes Beispiel zu wählen, die absolute Extinktion der Bezugssubstanz überhaupt nicht bekannt zu sein, und man kann trotzdem sämtliche quantitativ spektralanalytischen Fragen unter der Bedingung lösen, daß alle Messungen auf diese Substanz bezogen werden. Zur Bequemlichkeit der Berechnung könnte man z. B. die Extinktion der Normalsubstanz im ganzen Spektrum = 1 setzen, die darauf bezogenen neuen Farbkurven hätten dann allerdings eine andre Gestalt als die gewöhnlichen. Doch ist dies für eine Anzahl in sich geschlossener spektrophotometrischer Probleme belang-

¹⁾ G. u. H. Krüss, Kolorimetrie u. quant. Spektralanalyse, Leipzig 1909.

²⁾ Hantzsch, Ph. Ch. **72**, 362 [1910].

³⁾ Martens und Grünbaum, W. **12**, 984 [1903].

los. Die Umrechnung der Resultate auf die typischen Farbkurven ist natürlich nachträglich jederzeit durch Ausphotometrieren der Bezugssubstanz möglich.

Bei den im Folgenden mitgeteilten Messungen wurden meistens zum Vergleich nicht die oben erwähnte Normalsubstanz verwendet, sondern eine Zwischenlösung, die etwas günstigere Eigenschaften hat. Es läßt sich nämlich bequemer mit der Anordnung messen, wenn die Maxima und Minima in den Farbkurven direkt bei der Messung als solche empfunden werden. Das ist nur dann der Fall, wenn die Vergleichssubstanz neutral grau ist. Starke Helligkeitsänderungen in der Normalsubstanz beim Beobachten der beiden Vergleichsfelder über das ganze Spektrum wirken etwas ermüdend und verwirrend bei längerem Arbeiten. Eine Lösung von gewöhnlicher schwarzer Ausziehtusche in Wasser hat brauchbare Eigenschaften. Wie durch besondere Versuche festgestellt wurde, ist das Beersche und Lambertsche Gesetz erfüllt, trotzdem keine wahre, sondern eine kolloidale Lösung vorliegt. Der bei der Schwärzungsmessung photographischer Platten nicht zu vernachlässigende sogen. Cailler-Effekt¹⁾ kommt nicht in Betracht, da die Beobachtung in praktisch parallelem Lichte erfolgte. Um mit dieser Zwischenlösung bequem arbeiten zu können, macht man sich zunächst eine genügende Menge einer Lösung von beliebiger Konzentration und bestimmt durch den Vergleich mit der Normallösung ihre Extinktion über das ganze Spektrum. Die Messungen sind leicht auszuführen, da ja ein Vergleich einer grauen mit einer gefärbten Lösung stattfindet. Dann stellt man sich durch Verdünnen eine Reihe von Vorratslösungen her, deren Extinktion zwischen 0.1 und 2 schwankt. Man kommt mit 20 derartig stufenweise verdünnten Lösungen für alle Fälle aus. Die Extinktion der von mir verwendeten Tuschelösung stellte eine gleichmäßig von Rot nach Blau ansteigende Kurve mit einem flachen Minimum im äußersten Rot dar, deren Wiedergabe hier unterbleiben soll, weil die Tusche keine eindeutig definierte Substanz ist. Zur bequemen Messung legt man sich eine Tabelle an, welche neben den Wellenlängen die betreffende Extinktion enthält, deren Wert multipliziert mit der Konzentration der betreffenden Tuschelösung die Extinktion der unbekannten Lösung bei der Wellenlänge angibt, bei der Gleichheit beobachtet worden ist.

Ausführung der Messungen.

Die eigentliche Messung kann man nun mit jedem guten Spektroskop ausführen, an dem ein Okularspalt angebracht ist, vor dem das Spektrum entweder durch eine geteilte Wellenlängentrommel oder durch eine mikrometrische Bewegung des Fernrohrs vorbeigeführt werden kann. Als besonders praktisch möchte ich einen Monochromator mit feststehenden Röhren empfehlen, dessen Prisma gedreht werden kann und bei dem der durch den Okularspalt tretende Teil des Spektrums immer im Minimum der Ablenkung ist. Vor dem Eintrittsspalt dieses Spektralapparates ist auf einer einfachen Schiene verschiebar ein Tischchen angebracht, auf dem die Cuvetten in einem einfachen Halter stehen und davor kann der Hüfner-Albrechtsche Rhombus und eine Linse

¹⁾ Cailler, J. f. wiss. Phot. 1909, 257.

verschoben werden, so daß man die senkrechte Rhombenkante scharf durch den Okularspalt sehen kann. Bei feststehendem Rhombus erscheint sein Bild durch den Okularspalt je nach der Stellung der Linse verschieden groß, und man kann sich die Vergrößerungen aussuchen, die für die Messungen am vorteilhaftesten erscheint. Es ist bequem, aber nicht unbedingt notwendig, den Rhombus und die Linse in ein Rohr einzubauen.

Ein wichtiger Punkt für die Messung ist die Beleuchtung der Cuvetten. Sie muß für beide gleich sein, und es ist deshalb gut, die Beleuchtung durch eine Milchglasscheibe zu bewirken, hinter der in geeigneter Entfernung eine genügend starke Lichtquelle angebracht ist. Um die Beleuchtung so hell zu machen, daß man auch bei stark absorbierenden Stoffen im blauen und roten dunkleren Teil des Spektrums genügend scharf messen kann, empfiehlt sich die Verwendung eines Kondensors, wie er für die photographischen Vergrößerungsapparate billig geliefert wird. Zur Ermittlung der richtigen Stellung des Kondensors im Strahlenweg muß man zunächst das Bild der Lichtquelle auf die Spaltbene des Spektroskops projizieren. Dann schiebt man vor den Kondensator eine möglichst fein mattierte Glasscheibe, wie sie für photographische Zwecke verwendet werden, und stellt dann die Cuvetten, den Rhombus und die Linse an die betreffenden Stellen. Wenn die Beleuchtungseinrichtung richtig zentriert war, erscheinen jetzt im Monochromator die beiden Vergleichsfelder in allen Spektralgebieten gleich hell beleuchtet. Sollte dies nicht der Fall sein, so kann man durch geringe Verschiebungen der Lampe die Helligkeiten ausgleichen. Die beiden Cuvetten, in denen die Lösungen mit einander verglichen werden sollen, müssen gleich weit sein. Durch Prüfen einer Anzahl solcher Gefäße, die mit derselben Lösung gefüllt sind, kann man leicht durch Vertauschen zwei gleiche herausfinden. Es ist nicht nötig, daß die Länge der durchstrahlten Schicht ganz genau 1 cm ist, da natürlich bei gleicher Absorption in zwei gleich weiten, anders dimensionierten Gefäßen dasselbe auch für 1 cm weite gilt. Falls man die Absorption in zwei verschiedenen weiten Gefäßen vergleicht, muß natürlich zur Umrechnung auf die Einheit der Schichtdicke das Verhältnis der Dicken der beiden verwendeten Cuvetten bekannt sein. Zur Erleichterung der Messungen in dem dunkleren roten und blauen Spektralgebiet verwendet man vorteilhaft ein rotes und ein blaues Glas vor dem Spalt, um die im Nebenlicht störenden hellen, gelben und grünen Farben herauszublenden. Diese Farbfilter kann man in Form eines Farbschiebers in das Kollimatorrohr einbauen lassen¹⁾.

Die Helligkeit des anvisierten Bildes ist bedeutend, und zwar ist sie nach bekannten optischen Regeln gleich der Flächenhelligkeit der beleuchteten Milch- oder Mattglasscheibe verkleinert entsprechend des vom Okularspalt freigelassenen Teiles der Augenpupille. Neben den

¹⁾ Die Anfertigung einer vollständigen Apparatur, bestehend aus einem Monochromator, der gleichzeitig ein gutes Spektroskop ist (mit Farbschieber), Kondensor, Cuvettenhalter, Rhomben-Liusenrohr, die Einzelteile auf einer optischen Bank verschiebbar, hat die Firma R. Fueß, Berlin-Steglitz, übernommen.

gewöhnlichen Spektroskoplinsen tritt in der Anordnung als absorbierender Teil nur der Rhombus hinzu, den man, wie oben angegeben, unter Umständen auch weglassen kann. Man kann durch beliebige Steigerung der Helligkeit der Lichtquelle das Extinktionsintervall, innerhalb dessen die Messungen ausgeführt werden können, ziemlich weit machen. So ist es unter Umständen möglich, die Extinktion 4 mit genügender Genauigkeit zu messen, welche einer Lichtschwächung auf den 10000. Teil entspricht. Auch scheint es ein Vorzug dieser Art der Messung zu sein, daß auf beiden Hälften des photometrischen Feldes die Lichtschwächung auf dieselbe Weise durch Absorption des Lichtes geschieht. Es ist ja bekannt, daß beispielsweise beim Vergleich zweier Felder, von denen das eine durch Absorption, das andere durch gekreuzte Nicols geschwächt wird, das Aussehen etwas verschieden ist, was eine genaue Einstellung erschwert.

Als ein gewisser Nachteil der Methode ist es zu bezeichnen, daß die Messung nur im kontinuierlichen Spektrum möglich ist. Denn wenn die Lichtquelle ein diskontinuierliches Linienspektrum aussendet, ist es möglich, daß die Wellenlänge gleicher Absorption zufällig gerade im Zwischenraum zwischen zwei Linien liegt, so daß keine vollständige Gleichheit der Felder eingestellt werden kann. An demselben Mangel leiden aber auch eine Anzahl anderer spektralphotometrischer Methoden, unter denen nur die Vierordtsche Doppelspaltmethode genannt sei. Durch eine kleine Modifikation ist es aber möglich, diesen Mangel zu beheben, wenn man mittels des Monochromators nicht die Rhombenkante, sondern das Vergleichsfeld eines gewöhnlichen Tauchcolorimeters anvisiert. Man kann dann auch in monochromatischem Lichte z. B. der einzelnen Spektrallinien des so bequemen Quecksilberlichtbogens arbeiten und auf gleiche Helligkeit durch Veränderung der Schichthöhe des Colorimeters einstellen. Es soll nur auf diese Verwendungsmöglichkeit hingewiesen werden, die für Spezialfälle vielleicht von Nutzen ist. Für die meisten den Chemiker interessierenden Arbeiten kommt man jedoch mit der vorher beschriebenen einfacheren Anordnung aus¹⁾.

Die Reinheit des Spektrums ist abhängig von der Dispersion des Prismas, von der Weite des Eintritts- und Austrittsspaltes. Man kann nun nicht den Spalt beliebig eng wählen und dadurch die Reinheit

¹⁾ Die hier vorgeschlagene Form eines Spektrocolorimeters unterscheidet sich von den früher beschriebenen Konstruktionen von Martens (Physikal. Zeitschr. 1, 182 [1900]) und Krüss (Colorimetrie und quant. Spektralanalyse) im Sinne der auf S. 1514 erwähnten allgemeinen Unterscheidung der Spektralphotometer nach der Lage des Vergleichsfeldes.

des betreffenden Spektralgebietes steigern¹⁾). Denn von einer bestimmten minimalen Weite an treten Beugungerscheinungen störend auf, die Trennungslinie wird unscharf und eine genaue Einstellung ist unmöglich. Dieser minimalen Grenzöffnung des Spaltes entspricht nun ein um so engeres Spektralgebiet, je größer die Brennweite der beiden Objektive ist, die vorteilhaft gleich lang genommen wird. Bei der von mir verwendeten Anordnung betrug die Brennweite 18 cm, und es konnte damit innerhalb eines Wellenlängenintervalls von ca. $2 \mu\mu$ genügend genau gemessen werden. An dem dunklen roten Ende des Spektrums ist bei der geringeren Dispersion der Prismen die Reinheit etwas geringer, besonders da man hier zur besseren Messung die Spaltöffnung etwas weiter nehmen muß. Für Blau und Violett gilt dasselbe, doch findet hier keine wesentliche Verschlechterung der Spektralreinheit statt, da die Dispersion in Blau und Violett bedeutend größer ist. Durch Verwendung von Gitterspektroskopen kann man hier unter Umständen günstigere Verhältnisse erhalten, wenn auch die Lichtstärke natürlich viel geringer ist als bei Prismenapparaten.

Die eigentliche Messung wird nach der Zentrierung der einzelnen Teile der Anordnung so ausgeführt, daß man in die beiden Cuvetten die zu vergleichenden Lösungen füllt und zuerst bei weit geöffnetem Okularspalt den Kollimatorspalt so weit verengert, bis gerade die Beugungerscheinungen sichtbar werden und dann mit dem Okularspalt in derselben Weise verfährt. Dann tastet man durch Verschieben des Spektrums vor dem Okularspalt das ganze Gebiet ab und notiert die Stellung der Wellenlängentrommel bei Gleichheit beider Felder. Es ist bei komplizierten Spektren möglich, daß diese Gleichheit im ganzen Spektrum 10-mal und öfters stattfindet. Bei der Messung im äußersten Rot und Blau schiebt man den Farbschieber ein und erweitert für diese Gebiete nötigenfalls die Spaltöffnungen. Nach einer solchen Messung vertauscht man die beiden Gefäße und wiederholt die ganze Messung. Zur Berechnung verwendet man dann den Mittelwert aus den beiden Ablesungen. Dann verändert man systematisch die Verdünnungen der unbekannten und der Bezugslösung, und zwar im Anfang so, daß das Verhältnis der beiden Verdünnungen das gleiche bleibt. Wenn die Einstellung der Wellenlängentrommel bei Gleichheit der Felder dann unverändert bleibt, ist das Beersche Gesetz für dieses Spektralgesetz gültig. Man wird bei diesen Messungen häufig einen größeren Unterschied der beiden korrespondierenden Ablesungen bei vertauschten Gefäßen finden, wenn die Lösungen verdünnter sind als bei konzentrierteren. Es hat dies seinen Grund darin, daß die beiden sich schneidenden Kurvenstücke flacher sind, die Unsicherheit der Ablesung also etwas größer ist.

Es gilt natürlich für diese photometrischen Messungen das allgemeine Gesetz, daß die Einstellung auf gleiche Helligkeit die gesuchte

¹⁾ Dies gilt für alle Spektrophotometer.

Extinktion mit einem um so größeren Fehler gibt, je kleiner sie ist. Da nämlich nach dem Weber-Fechnerschen Gesetz der Bruchteil, bis auf welchen zwei Lichtintensitäten auf Gleichheit eingestellt werden können, im allgemeinen konstant ist, so gilt dasselbe auch für die Differenz der Extinktionen, die man ja beim Vergleich der beiden photometrischen Felder bestimmt. Diese Differenz beträgt unter günstigsten Umständen für ein ausgerubtes Auge 0.005, kann aber beim längeren Arbeiten und in ungünstigen Spektralgebieten bis auf 0.01 und mehr wachsen. Wenn man also die Extinktion 1 mißt, liegt die Genauigkeit der Messung zwischen 0.5 und 1 %. Bei geringen Extinktionen, z. B. 0.1, beträgt der Fehler dagegen 5—10 %. Diese Unterschiede sind zu berücksichtigen, wenn man die gemessenen Extinktionen nachher zu weiteren Berechnungen verwendet¹⁾. Die Steigerung der Genauigkeit der Messungsresultate wächst übrigens nicht unbegrenzt mit dem absoluten Wert der Extinktion, da bei starken Extinktionen die geringe Helligkeit und falsches Licht im Instrument verschlechternd wirken. Die besten Resultate erhält man erfahrungsgemäß in dem Gebiete $\epsilon=0.5-1.5$.

Die Sprünge, in denen man vorteilhaft die Konzentration der beiden Lösungen verändert, lassen sich nicht von vornherein bestimmen. Sie richten sich nach der allgemeinen Form des Absorptionsspektrums. So kann man z. B. in einem steilen Gebiet der Farbkurve die Verdünnungen in Potenzen von 2 ansteigen lassen, während man bei flacherem Verlauf und besonders in der Nähe des Maximums der Banden die Konzentrationen in kleineren Stufen ändern muß. Das Verfahren bringt es mit sich, daß die Extinktionen in einzelnen Spektralgebieten mehrfach bestimmt werden, und man hat daher die Möglichkeit, die einzelnen Messungen mit einander zu vergleichen.

Die Berechnung der Resultate ist natürlich sehr einfach. Man notiert in einer Tabelle die Konzentrationen der Bezugslösung c_0 und der unbekannten Lösung c und daneben die Wellenlänge, bei der Gleichheit der Felder beobachtet wurde. Aus einer Tabelle oder der graphischen Auftragung der Extinktion ϵ_0 der Bezugslösung entnimmt man dann diese für die betreffende Wellenlänge und erhält die gesuchte Extinktion $\epsilon = \epsilon_0 c_0$.

Aus dem Zahlenwert wird dann in bekannter Weise durch Division durch c die Absorptionskonstante für die gewählte Einheit und ihr Logarithmus berechnet. Die Auftragung des Logarithmus in einem

¹⁾ Auf diese allgemein bekannte Tatsache sollte an dieser Stelle nur deshalb noch einmal hingewiesen werden, weil sie häufig nicht genügend berücksichtigt wird und den Messungen, die gern mit fünfstelligen Logarithmen berechnet werden, dann leicht eine größere Genauigkeit zugeschrieben wird als ihnen zukommt. Zur Ausführung aller Rechnungen genügt ein gewöhnlicher Rechenschieber.

gewöhnlichen rechtwinkligen Koordinatensystem ergibt dann die typische Farbkurve.

Spektrophotometrische Behandlung chemischer Fragen.

Die im Vorstehenden beschriebene einfache Ermittlung der typischen Farbkurve erleichtert die vielfach gebräuchlichen und bekannten Anwendungen spektralphotometrischer Messungen. Es sei nur an ihre Wichtigkeit zur optischen Identifikation gefärbter Stoffe erinnert und an die Möglichkeit, in der oben beschriebenen Weise aus ihnen die Form der Empfindungsspektren abzuleiten. Auch wurde schon auf die graphische Colorimetrie in einem speziellen Beispiel S. 1513 hingewiesen. Schon von Vierordt wurde in seinem klassischen Werk über die Anwendung spektralphotometrischer Methoden gezeigt, daß man nicht nur einen Stoff in Lösung quantitativ bestimmen kann, sondern daß dies auch für beliebig viele Stoffe möglich ist, wenn sie nicht chemisch auf einander einwirken und auch in dem Gemisch für jede einzelne Komponente das Beersche Gesetz gültig ist. Einige Beispiele derartiger Bestimmungen für 2 Stoffe wurden von Krüss (l. c.) mitgeteilt.

Wenn nämlich K_1 die Absorptionskonstante für einen Stoff mit der Konzentration c_1 ist und die entsprechenden Zeichen für einen zweiten, dritten ... Stoff eingeführt werden, hat die Extinktion eines Gemisches beliebig vieler Stoffe den Wert

$$\epsilon = K_1 c_1 + K_2 c_2 + K_3 c_3 + \dots$$

Man muß für soviel verschiedene Spektralgebiete, als verschiedene Stoffe in dem Gemisch zugegen sind, Gleichungen nach obigem Schema aufstellen und kann dann bei Kenntnis der betreffenden Absorptionskonstante die unbekannten Konzentrationen berechnen.

Diese quantitative Absorptionsanalyse von Gemischen wird nun in der Praxis recht selten ausgeführt, und es ist vielleicht die Hoffnung auszusprechen, daß sie durch die hier vorgeschlagene bequeme Anordnung für spektralphotometrische Messungen etwas erleichtert wird. Bei Verwendung der typischen Farbkurven kann auch die Berechnung der Resultate etwas vereinfacht werden.

In der Fig. 13 sind als Beispiel für zwei verschiedene Stoffe die typischen Farbkurven für Methylorange in saurer und alkalischer Lösung eingezeichnet. Die beiden Kurven schneiden sich bei $469 \mu\mu$. In diesem Spektralgebiet haben also die beiden Formen des Farbstoffes die gleiche Absorption. Wenn ein Gemisch beider Farbstoffe in einer Lösung von bestimmter Acidität vorliegt, und wenn wir die Farbkurve für diese Mischung bestimmt haben, können wir sie nach Auftragung auf Pauspapier so über die beiden eingezeichneten Kurven legen, daß auch sie durch den Schnittpunkt bei $469 \mu\mu$ geht. Es gilt

jetzt für die Summe der beiden Farbstoffe in diesem Punkte gleicher Absorption dasselbe, was für den langwelligen Teil der Kurve in dem S. 1513 gegebenen Beispiel beim Chlorophyll geschehen hat, d. h. die Null-Linie in dem oberen Diagramm gibt auf dem unteren den Logarithmus der Verdünnung an. Wenn x und y die Konzentrationen der

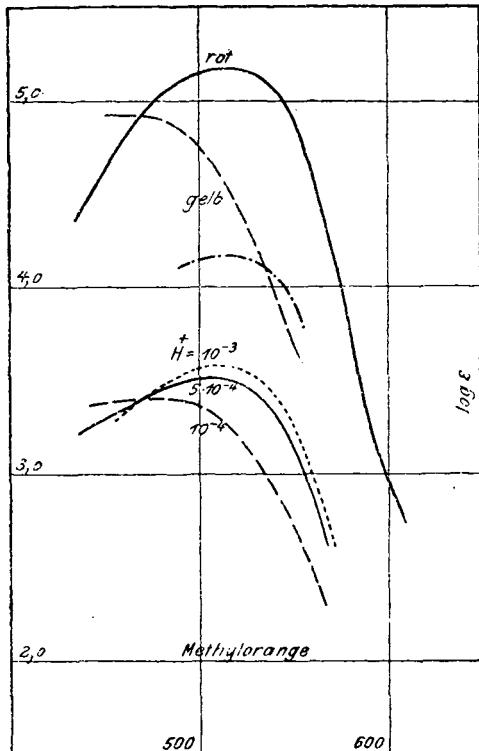


Fig. 13

gelben und roten Formen sind, so gilt für diese Wellenlänge die Gleichung

$$1. \quad x + y = \frac{1}{v},$$

wo v durch den Logarithmus [auf dem unteren] Diagramm gegeben ist. Um eine zweite Gleichung aufstellen zu können, denken wir uns die Kurve für den roten Farbstoff um 1 nach unten parallel mit sich selbst verschoben. Die neue, mit einem kleinen Stück in das Diagramm eingezeichnete Kurve stellt dann die typische Farbkurve eines Farbstoffes dar, dessen Extinktion über das ganze Gebiet 10-mal geringer ist als der wirkliche rote Farbstoff. Diese neue Kurve möge die ursprüngliche gelbe Kurve bei einer anderen Wellenlänge λ

($536 \mu\mu$) schneiden. Wenn wir jetzt die Farbkurve des Gemisches durch diesen Schnittpunkt legen, zeigt die Null-Linie des oberen Diagrammes auf dem unteren den Logarithmus einer anderen Verdünnung v_2 an, und wir können die Gleichung

$$2. \quad x + 10y = \frac{1}{v_2}$$

aufstellen.

Diese Hilfskonstruktion, die hier im wesentlichen zum Verständnis der Art der Berechnung erwähnt wurde, kann man in der Praxis vermeiden, wenn man die Farbkurven der reinen Komponenten und des Gemisches in demselben Diagramm aufträgt und die betreffenden Zahlenwerte durch Ablesen der Logarithmendifferenzen bei den verschiedenen Wellenlängen bestimmt.

Das hier gewählte Beispiel der quantitativen Spektralanalyse des Gemisches der beiden Formen von Methylorange wurde gewählt, um die Anwendung zur Untersuchung von Gleichgewichten zu zeigen. Das besondere Interesse des Schnittpunktes der beiden Kurven zeigt sich nämlich rein qualitativ schon dadurch, daß bei konstanter Summe zweier farbiger Komponenten sämtliche Kurven der Gemische sich bei derselben Wellenlänge schneiden müssen, wie die reinen Komponenten¹⁾. Bei konstanter Gesamtindicator-Konzentration ist diese Bedingung erfüllt, und wie aus der Figur zu ersehen ist, schneiden sich die drei Kurven bei verschiedener Wasserstoffionen-Konzentration alle in demselben Punkt. Dies ist aber nur dann der Fall, wenn wirklich nur zwei Komponenten zugegen sind, und der qualitative Nachweis des gleichen Schnittpunktes ist bei der obigen spektralphotometrischen Anordnung leicht dadurch zu erbringen, daß man in die beiden Cuvetten die zu vergleichenden Lösungen einfüllt. Gleichheit ist dann nur bei der betreffenden Wellenlänge zu beobachten. Falls mehr als zwei Komponenten zugegen sind, könnte nur in einem einzigen wohl recht unwahrscheinlichen Spezialfall dieselbe Bedingung erfüllt sein, wenn die Farbkurven aller Komponenten sich bei derselben Wellenlänge schneiden.

Die Berechnung der Konzentrationen der beiden farbigen Komponenten in dem angeführten Indicatorbeispiel²⁾ erlaubt nun sofort, die Gleichgewichtskonstante zu bestimmen, deren Zahlenwert in der Tabelle angegeben ist.

¹⁾ Über ein spezielles Beispiel für diese allgemeine Tatsache vergl Bjerrum, Zeitschr. f. anorg. Ch. **63**, 148 [1909].

²⁾ Vergl. hierzu die ausgezeichnete Monographie von Bjerrum, Die Theorie der alkalimetrischen und acidimetrischen Titrierungen, Stuttgart 1914, in der die Verwendung spektralphotometrischer Methoden für die Indicatorlehre besprochen wird.

Gelbe Komponente: x ; Rote Komponente: y in $K = \frac{x}{y} \cdot \frac{C_H^+}{10^{-4}}$.

Indicatorexponent $p_I = -\log K$; Zimmertemperatur.

C_H^+	$\frac{x}{y}$	$K \cdot 10^4$	p_I
10^{-3}	0.46	4.6	3.34
$5 \cdot 10^{-4}$	0.85	4.25	3.37
10^{-4}	4.7	4.7	3.33

Die Methode scheint wichtig zu sein, um mehrere farbige Komplexe neben einander zu bestimmen und wird wohl geeignet sein, ihre Gleichgewichtsverhältnisse näher aufzuklären, auch wenn die reinen Komplexe zunächst nicht mit Sicherheit für sich bestimmt werden können. Es ist nämlich immer möglich, aus den Farbkurven der Komplexgemische, deren Gesamtsumme man natürlich kennen muß, und einer Anzahl von Gleichungen auf Grund des Massenwirkungsgesetzes die genügenden Bestimmungsstücke zu erhalten, um die typischen Farbkurven der reinen Komponenten zu berechnen. Zunächst muß man sich natürlich durch einen qualitativen Versuch, wie der oben beschriebene, davon überzeugen, daß tatsächlich nur zwei Komplexe zugegen sind. Auf diese Art der Anwendungen soll hier nur hingewiesen werden.

Die Tatsache, daß die Absorptionskurven beliebiger Mischungen zweier Stoffe, deren Gesamtsumme konstant ist, sich immer in demselben Spektralgebiete schneiden (es können auch mehrere Schnittpunkte vorkommen¹⁾), gibt in Verbindung mit der leichten experimentellen Prüfung die Grundlage einer neuartigen qualitativen spektralanalytischen Methode für gefärbte Stoffe, deren weitere Ausarbeitung beabsichtigt ist. Es gibt viele Substanzen, die, wie Methylorange, sich durch Zusatz eines Reagens in eine anders gefärbte umwandeln. Beim Vergleiche der nicht umgewandelten und umgewandelten Lösung mit der beschriebenen Anordnung tritt Gleichheit der beiden Vergleichsfelder in bestimmten, für den Stoff charakteristischen Spektralgebieten ein. Die betreffende Wellenlänge ist bedeutend schärfer einzustellen als beispielsweise das Absorptionsmaximum.

Ein Beispiel mit mehr als zwei farbigen Komplexen im Gleichgewichte sei hier nur kurz erwähnt, da dieser Fall zur Feststellung der Bedingungen geführt hat, unter denen die auf S. 1517 vorgeschlagene Normallösung verwendbar ist. In der Fig. 14 sind die Extinktionskurven²⁾ für eine Reihe von Gemischen von Kupfersulfat mit

¹⁾ Vergl. in Fig. 15 Eosin u. Methylorange.

²⁾ Also nicht die typischen Farbkurven. Die Kurven sind nicht vollständig durchgemessen. Sie zeigen aber in dem unterbrochenen Stück im Rot ein normales Maximum.

steigenden Mengen Ammoniak eingetragen, und es ist ersichtlich, wie die Absorption der im allgemeinen als konstant angenommenen blauen Lösung sich mit zunehmender Ammoniakmenge nach Rot verschiebt. Diese Erscheinung läßt sich sehr einfach auch ohne Spektralphotometer demonstrieren, wenn man eine 5-prozentige Kupfersulfatlösung

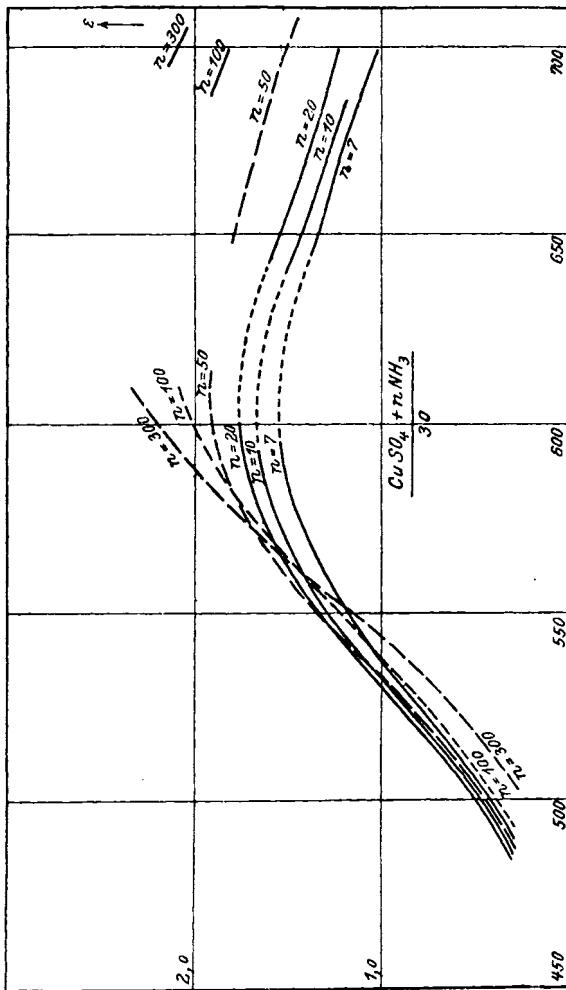


Fig. 14

mit den in jedem Laboratorium meistens vorhandenen verdünnten (2-fachnormalen) und konzentrierten (ca. 13-fachnormalen) Ammoniaklösungen auf das 10-fache verdünnt, so daß beide Lösungen ca. 0.02-fachnormal an Kupfer sind. In einer Cuvette von ca. 1 cm Dicke,

oder in einem gewöhnlichen Reagensglas, erscheint dann die verdünntere Ammoniaklösung dunkler blau als die konzentrierte, weil ihr Absorptionsgebiet weiter ins Blau hereinreicht. Bei Zwischen schaltung eines hellroten Glases dagegen erscheint die konzentriertere Lösung dunkler, weil sie eben im Rot stärker absorbiert.

Wie aus der Fig. 14 zu ersehen ist, schneiden sich die Kurven nicht alle bei derselben Wellenlänge, und es liegen demnach mehr als zwei Komplexe vor. Die Berechnung der typischen Farbkurven der reinen Komponenten und der Gleichgewichtskonstanten, welche die Konzentration der verschiedenen Komplexe in den Lösungen bestimmen, ist auch in diesem Falle durchzuführen, doch wird die nähere Untersuchung desselben von Hrn. Hantzsch erfolgen. Es sei nur hier gesagt, daß nach dem Massenwirkungs gesetze das Verhältnis beliebig vieler farbiger Kupferkomplexe, welche 1 Atom Kupfer enthalten, ungeändert bleibt, wenn die Gesamtammoniak-Konzentration in der Lösung konstant gehalten wird, und nach der Gleichung auf S. 1525 ist es klar, daß für ein Gemisch verschiedener farbiger Stoffe, deren Konzentrationsverhältnis konstant erhalten wird, das Beersche Gesetz gültig ist.

Die quantitative Bestimmung der Konzentration von mehr als zwei farbigen Komponenten in einer Lösung wurde noch nicht beschrieben. Da es für manche physiologische und pflanzenphysiologische Aufgaben häufig wichtig ist, aus der Farbe eines Gemisches die Menge der einzelnen Komponenten quantitativ zu bestimmen, wurden Gemische einiger Farbstoffe hergestellt und ihre Farbkurven aufgenommen. Es muß natürlich die Bedingung erfüllt sein, daß sich die einzelnen Komponenten in der Lösung nicht chemisch beeinflussen, und dies war z. B. bei einem Gemische von Methylorange, Eosin, Rose Bengale und Echtsäureviolett der Fall¹⁾. Die typischen Farbkurven der drei roten und des blauen Farbstoffes sowie zweier Gemische sind in der Fig. 15 eingetragen.

Die angesetzten und aus der Farbkurve des Gemisches gefundenen Konzentrationen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet:

	Gemisch I		Gemisch II	
	Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
Methylorange	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$0.4 \cdot 10^{-4}$	$0.39 \cdot 10^{-4}$
Eosin	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$1.01 \cdot 10^{-4}$	$0.8 \cdot 10^{-4}$	$0.79 \cdot 10^{-4}$
Rose bengale	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$1.19 \cdot 10^{-4}$	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$1.38 \cdot 10^{-4}$
Echtsäureviolett	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$0.95 \cdot 10^{-4}$	$1.6 \cdot 10^{-4}$	$1.42 \cdot 10^{-4}$

Da zur Messung nur 5 ccm des Gemisches verwendet wurden, handelt es sich um die Bestimmung von 0.2—0.8 mg Farbstoff.

Die Berechnung der Resultate wurde auf Grund von vier Gleichungen ausgeführt, die nach der auf S. 1526—27 angegebenen Methode erhalten wurden.

¹⁾ Ich möchte an dieser Stelle Hrn. B. Rassow für die freundliche Über lassung zahlreicher Farbstoffpräparate danken.

Der Fehler, mit dem die Konzentrationen berechnet werden können, ist natürlich abhängig von dem Unterschiede der typischen Farbkurven der Komponenten und von der Genauigkeit, mit der die Extinktionen des Gemisches ermittelt werden.

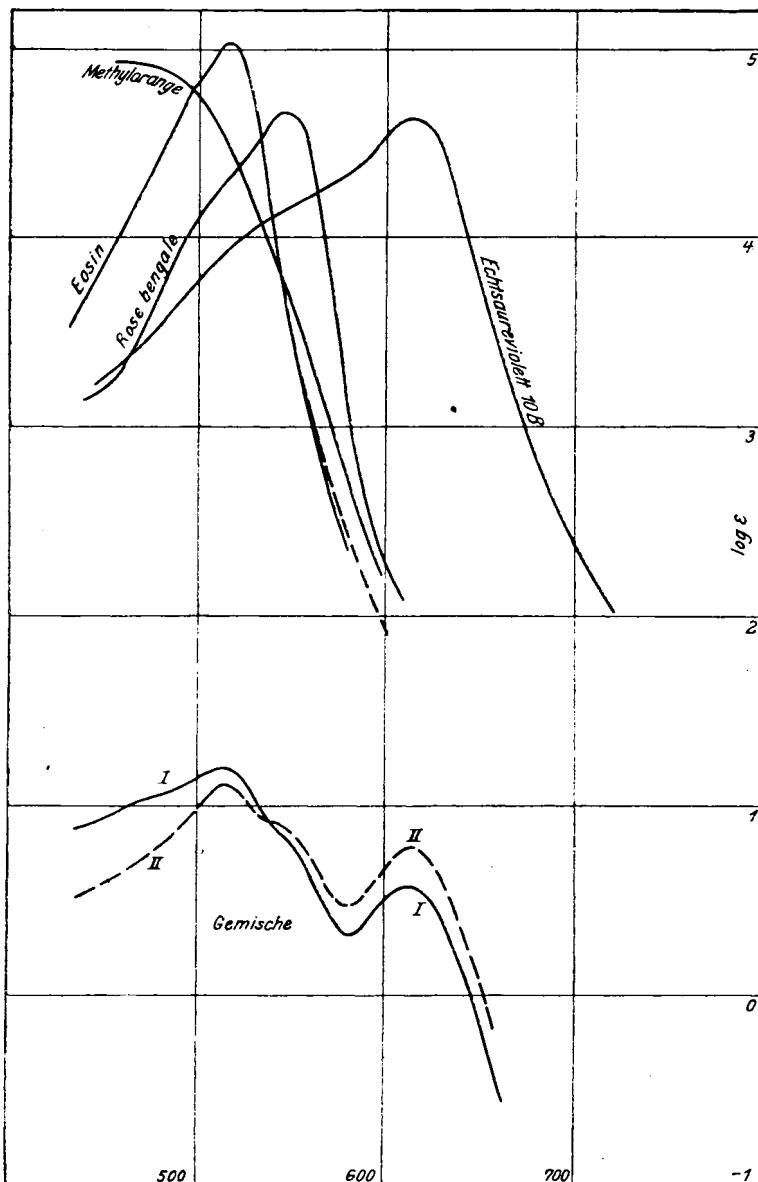


Fig. 15

Die Fig. 15 zeigt auch, wie die Form einzelner Farbkurven die typische Farbkurve von Gemischen beeinflußt. Es ist dies für die Frage des Zusammenhangs von Konstitution und Absorption von Interesse [vergl. hierzu Bielecki u. Henri¹]).

Für praktische Zwecke scheint es wichtig zu sein, aus dem Blattextrakte verschiedener Pflanzen das Verhältnis der vier Farbstoffe zu ermitteln, aus denen er zusammengesetzt ist. Wenn auch die chemischen Methoden für diese Bestimmungen durch die Untersuchungen von Willstätter und Stoll bis zur größten Vollkommenheit und Schnelligkeit ausgearbeitet worden sind, so erscheint es doch vielleicht für Botaniker wichtig, daß es möglich ist, durch einfache spektralphotometrische Aufnahme der Farbkurve des Blattauszuges die Konzentration der einzelnen Bestandteile zu berechnen. Hierzu muß allerdings die typische Farbkurve für alle vier Komponenten: Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll bekannt sein, und ich hoffe, binnen kurzem die nötigen Daten mitteilen zu können. Über ein andres Anwendungsgebiet der einfachen spektralphotometrischen Methode, die Kenntnis der Blutfarbstoffe, werde ich an anderer Stelle berichten.

Auf eine Erweiterung der im Vorstehenden mitgeteilten Untersuchungen kann ich in Anbetracht der durch den Krieg gestörten Arbeitsbedingungen erst später zurückkommen. Hierzu gehören die Aufnahme von Extinktionsspektren im Ultraviolet und vor allen Dingen die Ausdehnung der Methode auf die Untersuchung von Oberflächenfarben, die besonders einfach und aussichtsvoll erscheint.

Leipzig, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität.

¹) B. 47, 1690 [1914].