

Ein kleiner Universalspektralapparat.

Von

Prof. Dr. **K. Bürker**, Tübingen.

Mit zwei Abbildungen im Text und einer Tafel in Lichtdruck.

(Der Redaktion zugegangen am 16. September 1909.)

Bei einer eingehenden spektroskopischen Untersuchung des Hämoglobins und seiner Derivate¹⁾ hat Verfasser den Mangel eines einfachen, jederzeit verwendungsbereiten und dabei nicht zu teuren Vergleichsspektroskops unangenehm empfunden, um so mehr, als es nicht weniger denn sechs Derivate des Hämoglobins gibt, welche ungefähr in derselben Region des sichtbaren Spektrums zwei leicht zu verwechselnde Absorptionsstreifen aufweisen wie Oxyhämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin, Stickoxydhämoglobin, Kohlenoxydhämochromogen, Stickoxydhämochromogen und Cyanhämochromogen, drei Derivate mit einstreifigem Spektrum wie reduziertes Hämoglobin, Cyanhämoglobin und Cyanhämatin und drei Derivate mit vierstreifigem Spektrum wie neutrales Methämoglobin, saures Hämatin in alkoholischer oder ätherischer Lösung und Hämatoporphyrin in alkalischer Lösung.

In einigen dieser Fälle ist eine genauere qualitative Bestimmung überhaupt nur mit Hilfe der Spektrographie oder Spektrophotometrie möglich, in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle könnte eine Entscheidung mit Hilfe eines Vergleichsspektroskops herbeigeführt werden. Zwar existiert schon ein diesbezüglicher spezieller, von C. Pulfrich²⁾ auf Veranlassung

¹⁾ Die Resultate dieser Untersuchung sind in dem im Tigerstedt'schen Handbuche der physiologischen Methodik, Bd. II, Abt. 1, erscheinenden Beitrage des Verfassers «Gewinnung, qualitative und quantitative Bestimmung des Hämoglobins», berücksichtigt.

²⁾ C. Pulfrich, Über ein Vergleichsspektroskop für Laboratoriumszwecke. Zeitschr. f. Instrumentenkunde, Jahrg. XVIII, S. 381, 1898.

von H. Quincke konstruierter und von der optischen Werkstätte C. Zeiss in Jena hergestellter, recht brauchbarer Apparat, bei welchem die Fresnelschen Prismen zur Anwendung kommen, der Apparat hat aber den Nachteil, daß mit Hilfe zweier Spiegel immer wieder für gleiche Helligkeit der beiden Spektren gesorgt werden muß und daß er sehr teuer ist. Verfasser hat daher die Konstruktion eines neuen einfachen Vergleichsspektroskops mit Hilfe des Albrechtschen Glaskörpers, der bisher in Hoppe-Seylers kolorimetrischer Doppelpipette und in Hüfners Spektrophotometer, nicht aber zu vergleichend spektroskopischen Zwecken Verwendung gefunden hat,¹⁾ versucht. Als der Apparat konstruiert war und sich recht gut bewährt hatte, zeigte es sich, daß er auch zur speziellen spektroskopischen Untersuchung im schwer sichtbaren violetten Teile des Spektrums, wo Hämoglobin und seine Derivate noch viel intensivere Absorptionsstreifen als im gut sichtbaren Teile aufweisen, dienen kann und nicht nur dazu, sondern auch zur Spektrographie und Spektrophotometrie der Absorptionsspektren. Über den Apparat und seine verschiedenen Verwendungsmöglichkeiten soll im folgenden kurz berichtet werden.

An eines der bekannten geradsichtigen Handspektroskope, wie sie die Firma F. Schmidt und Haensch in Berlin in gutem Zustande zu billigem Preise liefert, ist vor dem Kollimator-

¹⁾ In dieser Zeitschrift, Bd. LIX, S. 54, 1909, hat O. Schumm-Hamburg-Eppendorf «Ein neues Bunsen-Spektroskop für die genauere Untersuchung der Absorptionsspektren von Flüssigkeiten» beschrieben, das Manuskript wurde am 21. Januar 1909 eingereicht. Das Wesentliche am Apparate ist die Benutzung des Albrechtschen Glaskörpers zu vergleichend spektroskopischen Zwecken. Herr Schumm hat es nicht für nötig befunden, zu erwähnen, daß er bezüglich der Benutzung des Glaskörpers zu diesen Zwecken in mir einen Vorgänger gehabt hat, was um so auffallender ist, als Herr Schumm sich schon am 22. November 1908 eine kurze Mitteilung von mir über mein Vergleichsspektroskop von Herrn Universitätsmechaniker Albrecht, dem Verfertiger meines Apparates, hat schicken lassen. Diese Mitteilung ist in der Münchener medizinischen Wochenschrift vom 29. September 1908, S. 2043 enthalten und bezieht sich auf eine am 27. Juli 1908 stattgefundene Demonstration des Apparates im Tübinger medizinisch-naturwissenschaftlichen Vereine.

spalte der Albrechtsche Glaskörper so angebracht, daß die dem Spalt zugekehrte und ihm möglichst genäherte Kante senkrecht zum Spalt steht und ihn halbiert. Dieser Glaskörper K (Fig. 1) sitzt in einer auf dem Spaltrohr befestigten Messinghülse, welche nach der Lichtquelle zu durch eine planparallele Glasplatte verschlossen ist. Der Glaskörper leitet die Lichtstrahlen, welche auf die obere Hälfte der Glasplatte auffallen, in die untere Hälfte des Spaltes und umgekehrt und sorgt dafür, daß das mit Hilfe des Amicischen Prismas entstehende Spektrum in zwei völlig über-

einstimmende, nur durch eine feine Linie getrennte Spektren zerlegt wird. Das ganze Spektroskop wird von einem Stativ getragen

(Fig. 2 der Tafel) und kann in einer Hülse sowohl um die optische Axe gedreht als auch in horizontaler Richtung verschoben werden.

Der planparallelen Glasplatte der Messinghülse gegenüber befindet sich das gläserne Absorptionströgchen, das aus zwei Abteilungen A_1 und A_2 (Fig. 1) besteht, mit Hilfe einer Deckplatte verschlossen und in einen Metallrahmen eingefügt ist (Fig. 2 der Tafel, das linke der beiden rechts unten dargestellten Trögchen); eine Feder drückt dabei die Deckplatte wasserdicht auf das Trögchen auf. Der Metallrahmen kann auf eine von einem wagrechten Fortsatz des Stativs getragene Grundplatte so aufgesteckt werden, daß die Zwischenwand des Absorptionströgchens horizontal oder vertikal steht.

Zur Füllung des Absorptionströgchens wird der Metallrahmen von der Grundplatte abgehoben, das Trögchen aus dem Rahmen herausgenommen und nach Abnahme der Deckplatte aufrecht hingestellt. Dann wird in die eine Abteilung die eine, in die andere die andere zu untersuchende Farbstofflösung oder auch nur das Lösungsmittel mit Kapillarpipetten so eingefüllt, daß beide Flüssigkeiten, ohne auf den oberen Glasrand herauzutreten, je einen ganz schwach konvexen, den Glasrand nach oben etwas überragenden Meniskus bilden. Darauf wird von der

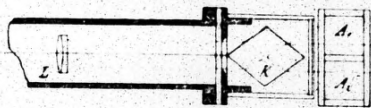


Fig. 1. — Der hintere Teil des Apparates nach einem senkrechten Schnitt, etwas schematisch. ($\frac{1}{2}$ nat. Größe.)

breiten Seite her die Deckplatte aufgeschoben, ohne die Lösungen zu mischen, was leicht gelingt, das Trögchen, während die Deckplatte mit den Fingern aufgedrückt wird, von etwa übergeflossener Lösung gereinigt und dann wieder in den Metallrahmen eingefügt.

Je nachdem nun die beiden zu vergleichenden Spektren über- oder nebeneinander gelegen sein sollen, muß der Metallrahmen auf die Grundplatte so aufgesteckt werden, daß die Scheidewand des Absorptionströgchens horizontal oder vertikal steht; im ersteren Falle muß dann der Kollimatorschlitz senkrecht resp. die hinter der planparallelen Glasplatte sichtbare Kante des Glaskörpers wagrecht, im letzteren Falle der Kollimatorschlitz wagrecht resp. die Kante senkrecht gestellt werden, in jedem Falle sieht man nach passender Einstellung des Spaltes und Prismas die beiden zu untersuchenden Spektren unmittelbar aneinander grenzen, wodurch eine sehr genaue Vergleichung ermöglicht wird.

Wenn der obere Rand des Absorptionströgchens und die Deckplatte nicht mehr völlig plan sind, kann es vorkommen, daß auch nach dem Aufdrücken der Deckplatte etwas von der Farbstofflösung der einen Abteilung in die andere gelangt. Um diesem Übelstande abzuweichen, wird das Absorptionströgchen, in seinen beiden Abteilungen nicht ganz bis zum oberen Rande gefüllt, so vor das Spektroskop gebracht, daß die Scheidewand des Trögchens vertikal steht und die zu vergleichenden Spektren neben- nicht übereinander gelegen sind, bei welcher Anordnung eine Vermischung der Farbstofflösungen unmöglich gemacht ist. Sollen aber die zu vergleichenden Spektren nicht nebeneinander, sondern übereinander gelegen sein und doch der eventuelle Fehler der Vermischung vermieden werden, so empfiehlt sich die Benutzung des in Figur 2 der Tafel rechts unten abgebildeten zweiten Absorptionströgchens, dessen beide verschieden große Abteilungen nicht ganz aufgefüllt werden und das, besser offen als bedeckt, so vor dem Spektroskope angebracht wird, daß der Boden der kleinen Abteilung horizontal der ebenso verlaufenden Kante des Glaskörpers gegenübersteht.

Alle einzelnen Teile des Apparates können am Stative so befestigt werden, daß der gesamte Apparat in gefülltem

Zustände zur Demonstration herumgereicht werden kann, wobei er bei Tageslicht nur auf ein Fenster, bei künstlicher Beleuchtung auf die betreffende Lichtquelle gerichtet zu werden braucht. Da die beiden zur Erzeugung der Spektren nötigen Lichtbündel nahe beieinander verlaufen, so sind die beiden Spektren, wenn das Licht nur von einer einigermaßen gleichmäßigen Lichtquelle bezogen wird, sehr leicht gleich lichtstark zu erhalten.

Der Apparat wird von Universitätsmechaniker Albrecht in Tübingen angefertigt.

Um mit diesem Apparate auch die spektroskopische Untersuchung im schwer sichtbaren violetten Teile des Spektrums, wo, wie erwähnt, Hämoglobin und die meisten seiner Derivate so starke Absorptionserscheinungen aufweisen, vornehmen zu können, muß an violetten Strahlen reiches Licht (direktes Sonnenlicht, Zirkonlicht,¹⁾ Nernstlampenlicht²⁾) benutzt und nach dem Vorgange von Potier³⁾ zwischen Auge und Spektroskop ein stark blauviolette Glas eingeschaltet werden, durch welches der lichtstarke Teil des Spektrums möglichst abgeblendet und dadurch der lichtschwache violette Teil stärker hervorgehoben werden soll.

Das dem Apparate beigegebene, passend zugeschliffene, stark blauviolette Glas wird in die am Okularende des Spektroskops angebrachte Blende eingefügt, zu welchem Zwecke die Blende abgeschraubt werden kann. Wird nach dem Einfügen des Glases und passender Einstellung des Spaltes und Prismas der Apparat direkt auf die Sonne oder eine der erwähnten starken Lichtquellen gerichtet, so sieht man den violetten Teil des Spektrums beträchtlich verlängert; im Sonnenspektrum bis etwas über die dicken Fraunhoferschen Linien H und K hinaus.

¹⁾ E. Linnemann, Über ein neues Leuchtgas-Sauerstoffgebläse und das Zirkonlicht. Sitzungsberichte der math.-naturwissensch. Klasse der Wiener Akademie d. Wissensch., Bd. XCII, Abt. 2, S. 1248, 1886.

²⁾ Eine Nernstlampe, welche in einem mit Spalt versehenen Gehäuse untergebracht ist, kann dem Apparate beigegeben werden.

³⁾ Siehe A. D'Arsonval, Photographie des spectres d'absorption de l'hémoglobine. Archives de physiol. norm. et pathol. 1890, Bd. I, S. 340.

Soll nach dieser Methode z. B. der im Violett gelegene, besonders charakteristische Streifen des Kohlenoxydhämoglobins sichtbar gemacht werden, so verdünnt man das eigene Blut oder auch irgend ein Tierblut ca. 1000fach mit 0,1%iger Soda-lösung, leitet Kohlenoxyd oder auch Leuchtgas zur Umwandlung des Oxyhämoglobins in Kohlenoxydhämoglobin hinein und füllt die Lösung in die eine Abteilung des Absorptionströghens, das Lösungsmittel in die andere Abteilung. Mit Hilfe der erwähnten Lichtquellen und des stark blauvioletten Glases sieht man dann einen, im Sonnenspektrum zwischen den Fraunhoferschen Linien G und h gelegenen, starken, auch nach

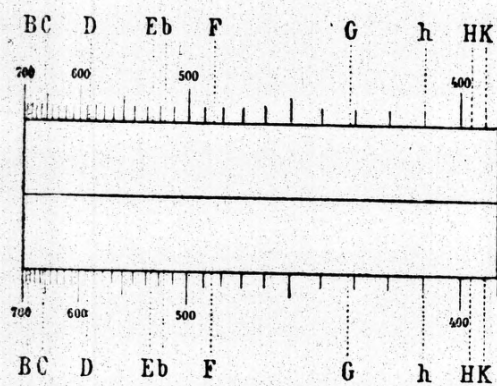


Fig. 3. — Schema zum Einzeichnen der Spektren.

Ultraviolett zu begrenzten Absorptionsstreifen, während die im gelbgrünen Teil des Spektrums zwischen D und E gelegenen Streifen des Kohlenoxydhämoglobins nur eben angedeutet sind. Es empfiehlt sich, die im violetten Teil des Spektrums gelegenen Absorptionsstreifen der anderen Derivate des Hämoglobins bei der vergleichend spektroskopischen Untersuchung auf diesen Streifen des Kohlenoxydhämoglobins zu beziehen, falls eine Wellenlängenskala nicht zur Verfügung steht oder die Fraunhoferschen Linien nicht zur Orientierung dienen können.

Zur dauernden Fixierung des flüchtigen spektroskopischen Befundes benutzt Verfasser auf Zeichenpapier gedruckte Schemata, von denen eines in Figur 3 abgebildet ist. Das Schema enthält die Lage der wichtigsten Fraunhoferschen Linien im prismatischen Spektrum angedeutet, daneben eine Wellenlängenskala nach millionstel Millimeter. In die obere Abteilung des Schemas wird das eine, in die untere Abteilung das andere Spektrum eingezeichnet.

Derartigen spektroskopischen Befunden, welche sich auf

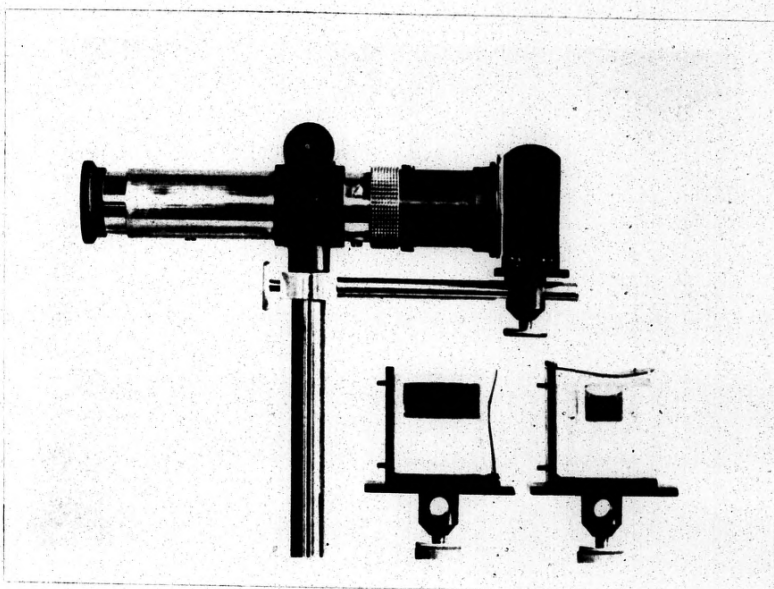


Fig. 2.

Das Vergleichsspektroskop mit zwei verschiedenen Absorptionströgehen.
($\frac{1}{2}$ nat. Größe.)

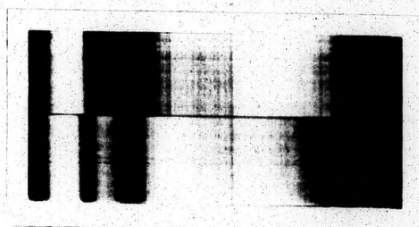
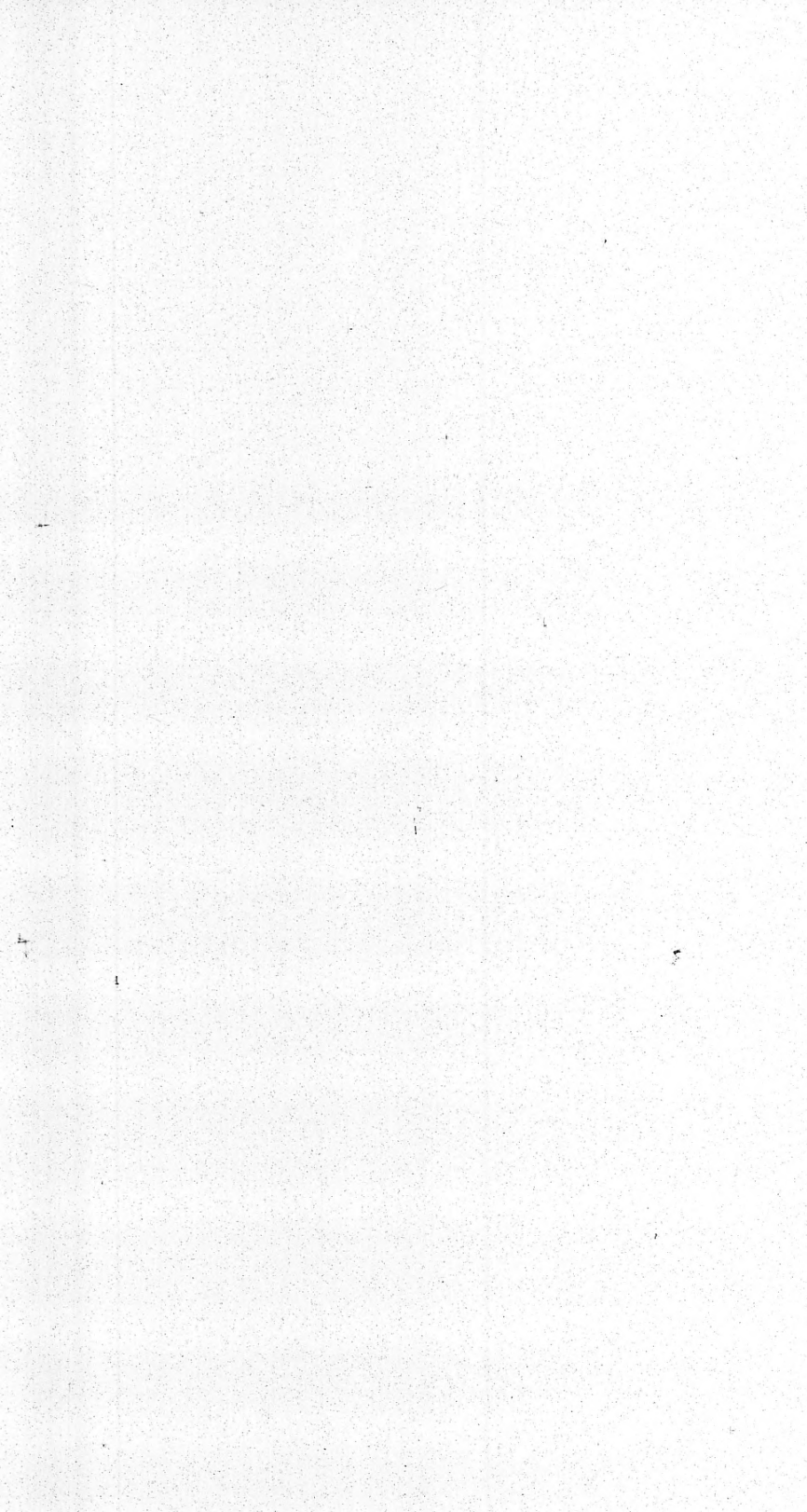


Fig. 4.

Oben: Spektrum des Kohlenoxydhämoglobins.

Unten: Spektrum des Oxyhämoglobins bei gleicher Konzentration des Farbstoffs.



die beschriebene Weise für viele Zwecke genügend genau erheben lassen, haftet aber immer etwas Subjektives an, da das Auge abgesehen davon, daß es für Licht verschiedener Wellenlänge verschieden empfindlich ist, insbesondere durch Kontrastwirkungen sehr leicht über die wahre Stärke der Absorption an einer bestimmten Stelle des Spektrums getäuscht wird. Ein deutliches Beispiel dafür liefert gerade das Spektrum des Oxyhämoglobins, dessen einer bei D gelegener Absorptionsstreifen dem Auge dunkler erscheint als der bei E gelegene, während es sich in Wahrheit umgekehrt verhält, wie wenigstens K. Vierordt¹⁾ bei Benutzung einer Petroleumlampe als Lichtquelle mit Hilfe der Spektrophotometrie nachweisen konnte. Die lichtstarke Umgebung des bei D gelegenen Streifens hebt diesen durch Kontrast hervor, während dies bei dem andern, in lichtschwächerer Region bei E gelegenen, an sich dunkleren Streifen nicht in dem Maße der Fall ist.

Um von diesen Subjektivitäten frei zu sein, hat Verfasser den Apparat auch zur Spektrographie in folgender Weise hergerichtet. Die in Figur 2 der Tafel sichtbare Okularblende wird abgeschraubt und dort das Spektroskop durch eine ausziehbare Hülse mit dem Objektiv eines photographischen Apparates verbunden. Das vom Verfasser benutzte Verbindungsstück besteht aus zwei ineinander verschiebbaren, innen geschwärzten Messinghülsen von je 10 cm Länge und ca. 4 cm lichtem Durchmesser. Die eine mit einer durchbohrten Verschlussplatte und einer Mutter versehenen Messinghülse wird auf das Spektroskop an Stelle der Okularblende aufgeschraubt, die andere am einen Ende mit Samt gefütterte Hülse auf das Objektiv des photographischen Apparates lichtdicht aufgeschoben. Der vom Verfasser benutzte Apparat des Tübinger physiologischen Institutes besitzt als Objektiv einen Zeiss-Anastigmat 1 : 8 F — 205 mm, die Länge des Balges beträgt bei der gewählten Vergrößerung ca. 40 cm.

Die zur photographischen Aufnahme nötigen, nicht allzu hoch

¹⁾ K. Vierordt, Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie der Absorptionsspektren und zur quantitativen chemischen Analyse, S. 117. Verlag von H. Laupp, Tübingen 1873.

empfindlichen, völlig klar arbeitenden Platten sensibilisiert man entweder selbst oder bezieht sie auch fertig. Bewährt hat sich Verfasser als Sensibilisator das Homocol¹⁾ der Elberfelder Farbwerke, mit dem man folgendermaßen verfährt. Zu 1—2 Volumenteilen der konzentrierten Homocollösung (1 g : 1000 ccm Wasser) werden 0,5 Volumenteile Ammoniak (Dichte 0,96) und 100 Volumenteile Wasser hinzugefügt. Diese Mischung wird in eine reine Glas- oder Porzellanschale gebracht und in ihr die Platte (Verfasser hat Agfaplatten benutzt) bei völliger Dunkelheit 2 Minuten gebadet, wobei für 100 qcm Platte 50 ccm fertige Badelösung verwendet werden. Eine mehrmalige Benutzung der Badelösung ist nicht zu empfehlen. Nach dem Baden werden die Platten 3 Minuten lang in fließendem Wasser sorgfältig gewaschen und nach kurzem Abtropfen mit Hilfe eines Ventilators oder eines gut ziehenden Trockenschrankes, dessen Temperatur aber 25° C. nicht übersteigen darf, getrocknet. Das Trocknen soll aber in keinem Falle länger als zwei Stunden dauern, da sonst schleierfreie Platten schwer zu erzielen sind. Selbstverständlich müssen alle diese Manipulationen bei völliger Dunkelheit vorgenommen werden.

Von fertigen Platten kann Verfasser die Perchromoplatte (panchromatische Platte von Prof. Dr. Miethe und Dr. Traube), welche die Trockenplattenfabrik von O. Perutz in München liefert, sehr empfehlen.

Zur photographischen Aufnahme der Spektren benutzt man am besten, der Stärke des Lichtes und der Orientierung mit Hilfe der Fraunhoferschen Linien wegen, Sonnenlicht, das mittels eines Heliostaten oder, wenn ein solcher nicht zur Verfügung steht, mittels eines einfachen Spiegels auf das Absorptionströgen gelenkt wird, zur Aufnahme bei künstlichem Licht die Seite 299 erwähnten starken Lichtquellen; im letzteren Falle nimmt man zur Orientierung im Spektrum das Linienspektrum des Heliums²⁾ auf. Die Expositionszeit hat Verfasser

¹⁾ Verfasser verdankt den Hinweis auf diesen Sensibilisator und die Vorschrift für die Sensibilisierung Herrn Chemiker Dr. O. Stephani von den Elberfelder Farbwerken.

²⁾ Mit Helium gefüllte Röhren, welche durch Induktionsströme leuch-

je nach der Stärke des meist benutzten Sonnenlichts von 1 bis 5 Sekunden variiert. Zur Entwicklung eignen sich die gewöhnlich gebrauchten Entwickler (Verfasser hat sich des Hydrochinons bedient), nur verdünnt man 3—5fach mit Wasser und fügt zu 100 ccm verdünntem Entwickler 5—10 Tropfen einer 10%igen Bromkaliumlösung hinzu. Die Entwicklung der Platte beginnt man bei völliger Dunkelheit, gegen Ende der Entwicklung kann die Platte ungestraft kurze Zeit dem roten Lichte der Dunkelkammerlampe zur Kontrolle ausgesetzt werden. Nach dem Abspülen geschieht die Fixierung in saurer Fixiersalzlösung.

Man kann auf diese Weise mit dem kleinen Apparate ohne besondere Mühe recht brauchbare Aufnahmen erzielen, wie Figur 4 der Tafel beweist, welche oben das Spektrum des Kohlenoxydhämoglobins, unten das des Oxyhämoglobins bei gleicher Konzentration des Farbstoffes zeigt.

Schließlich kann der Apparat auch noch zur Photometrie der Absorptionsspektren und damit zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Farbstoffen in relativ einfacher Weise nach folgendem Prinzip hergerichtet werden. Bei dieser Photometrie spielt der Extinktionskoeffizient eine Rolle, der sich als eine Funktion der nach dem Passieren der Farbstofflösung übrigbleibenden Lichtstärke darstellen läßt.

Sei J die Lichtstärke des in die Farbstofflösung eindringenden, möglichst monochromatischen Lichtes und $\frac{1}{n}$ der Koeffizient der Lichtschwächung nach dem Durchdringen der Schichtendicke 1, dann ist die übrigbleibende Lichtstärke, sie sei mit J' bezeichnet, gleich $\frac{J}{n}$. Durchläuft das Licht zwei solche Schichten der Farbstofflösung, dann bleibt nur noch Licht von der Intensität $\frac{J}{n^2}$ übrig und nach dem Passieren von m Schichten ist

$$J' = \frac{J}{n^m}$$

tend gemacht werden, können von der Firma F. O. R. Goetze in Leipzig bezogen werden.

Wird umgestellt und logarithmiert so erhält man

$$\log n = \frac{\log J - \log J'}{m}$$

Nun haben R. Bunsen und H. Roscoe den Extinktionskoeffizienten (ϵ) einer Farbstofflösung definiert als den reziproken Wert derjenigen Schichtdicke der Lösung, bei welcher das Licht auf $1/10$ seines ursprünglichen Wertes geschwächt wird. Setzt man daher $J = 1$, $J' = 1/10$ und $\epsilon = 1/m$ für $J' = 1/10$, so ist

$$\log n = \frac{0 + 1}{\frac{1}{\epsilon}} = \epsilon$$

$$\text{also auch } \epsilon = \frac{\log J - \log J'}{m}$$

Erteilt man auch hierin J den Wert 1, so ergibt sich der Extinktionskoeffizient

$$\epsilon = - \frac{\log J'}{m},$$

es ist also der Extinktionskoeffizient gleich dem negativen Logarithmus der übrigbleibenden Lichtstärke dividiert durch die Schichtdicke, diese gewöhnlich in Zentimetern ausgedrückt.

Zur Ermittlung des Extinktionskoeffizienten ist also nach dieser Darstellung die Ermittlung der übrigbleibenden Lichtstärke erforderlich, welche K. Vierordt¹⁾ bei seiner Doppelspaltmethode aus der Weite des Spaltes, G. Hüfner²⁾ bei seiner Polarisationsmethode aus der Drehung des analysierenden Nikols gegenüber dem polarisierenden erschlossen hat. Bei beiden Methoden blieb die Schichtdicke der Farbstofflösung während der Untersuchung konstant, meist gleich 1 cm, wodurch sich ϵ zu $-\log J'$ ergab.

Unmittelbarer gelangt man aber zum Extinktionskoeffizienten, wenn man von der ursprünglichen

¹⁾ Siehe die auf S. 81 zitierte Arbeit von K. Vierordt, S. 1.

²⁾ G. Hüfner, Über ein neues Spektrophotometer. Ostwalds und van't Hoff's Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. III. S. 562, 1889.

Bunsen-Roscoeschen Definition ausgeht und die Schichtendicke der Farbstofflösung ermittelt, bei welcher die Schwächung des Lichtes auf $\frac{1}{10}$ der ursprünglichen Lichtstärke erfolgt. Mit Hilfe des beschriebenen Vergleichsspektroskops und einiger Zusatzvorrichtungen verfährt man dabei in folgender Weise.

Am Okularende des Apparates wird ein Linsensystem zur objektiven Erzeugung des Spektrums angebracht. Durch Vierordtsche Okularschieber wird aus dem ganzen Spektrum nur derjenige möglichst monochromatische Bezirk ausgeschnitten, in welchem die Lichtstärke bestimmt werden soll. Als Absorptionströgchen werden zwei völlig übereinstimmende, nach dem Prinzip des Hermannschen Hämatoskops¹⁾ hergestellte Trögchen benutzt, welche die Schichtendicke der zu untersuchenden Lösung meßbar zu verändern erlauben. Die beiden Trögchen werden so vor dem Apparat angeordnet, daß das Licht, welches das eine Trögchen durchdringt, das eine Spektrum erzeugt, das Licht, welches das andere Trögchen durchdringt, das andere Spektrum. Das eine Trögchen wird mit der Farbstofflösung, das andere mit dem farblosen Lösungsmittel beschickt und beide Trögchen gleich stark beleuchtet.

Jetzt wird dasjenige Lichtbündel, welches nur das Trögchen mit dem Lösungsmittel durchdringt, durch einen rotierenden Sektor²⁾ oder ein Rauchglas auf $\frac{1}{10}$ seiner ursprünglichen Lichtstärke geschwächt, wodurch der im Okularspalt sichtbare entsprechende Spektralbezirk dunkler erscheint und darauf die Schichtendicke der Farbstofflösung solange verändert, bis die Lichtstärke in dem zugehörigen Spektralbezirk nur noch so groß wie in dem vorhergenannten Bezirke ist, dann ist der reziproke Wert der Schichtendicke der Farbstofflösung direkt der Extinktionskoeffizient.

¹⁾ L. Hermann, Ein Hilfsapparat für Absorptionsversuche am Spektralapparat. Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. IV, S. 209, 1871.

²⁾ Siehe D. B. Brace, Neues Spektrophotometer und optische Methode seiner Kalibration. Zeitschrift f. Instrumentenkunde, Jahrg. XX, S. 210, 1900.

Hat man den Extinktionskoeffizienten ϵ in der einen Region des Spektrums bestimmt, so kann man ihn auch noch in einer andern Region ermitteln, er sei mit ϵ' bezeichnet, und nach G. Hüfner¹⁾ den Quotienten $\frac{\epsilon'}{\epsilon}$ aufstellen, der bei passender Wahl der Regionen und bei haltbarem Farbstoff einen bestimmten konstanten, auch bei verschiedener Konzentration gleichbleibenden Wert aufweist, worauf ja die qualitative Bestimmung von Farbstoffen auf spektrophotometrischem Wege beruht.

Abgesehen davon, daß diese beiden Extinktionskoeffizienten an sich schon relative Werte der Konzentration darstellen, kann mit ihrer Hilfe auch die absolute Konzentration c auf Grund der von K. Vierordt²⁾ ermittelten Beziehung

$$\frac{c}{\epsilon} = \frac{c'}{\epsilon'} = A$$

bestimmt werden, worin c und c' verschiedene Konzentrationen, ϵ und ϵ' die zugehörigen Extinktionskoeffizienten und A das Absorptionsverhältnis bedeutet, das für jeden Farbstoff einen bestimmten charakteristischen Wert annimmt. Hat man diesen Wert einmal für die gegebene Versuchsanordnung genau festgestellt, so ergibt sich als weitere Konsequenz der oben angeschriebenen Beziehung

$$c = A \cdot \epsilon \text{ resp. } c' = A \cdot \epsilon'$$

und damit die absolute Konzentration d. h. der Gehalt des Farbstoffes in Grammen in 1 ccm der Lösung.

Schließlich ist auch noch die quantitative Bestimmung zweier unverändert nebeneinander in Lösung befindlicher Farbstoffe nach der Methode von K. Vierordt³⁾ oder G. Hüfner⁴⁾ mit dem Apparate möglich.

¹⁾ Siehe insbesondere die Arbeit von G. Hüfner, Neue Versuche zur Bestimmung der Sauerstoffkapazität des Blutfarbstoffs. Du Bois-Reymonds Archiv f. Physiol., 1894, S. 134.

²⁾ Siehe die auf S. 81 zitierte Arbeit von K. Vierordt, S. 23.

³⁾ A. a. O., S. 51.

⁴⁾ G. Hüfner, Über die gleichzeitige quantitative Bestimmung zweier Farbstoffe im Blute mit Hilfe des Spektrophotometers. Du Bois-Reymonds Archiv f. Physiol., 1900, S. 39.

Trifft man alle die beschriebenen Anordnungen am Apparat, dann kann er als einfaches Spektroskop, als allgemeines Vergleichsspektroskop, als spezielles Vergleichsspektroskop zur Untersuchung im schwer sichtbaren violetten Teile des Spektrums, als Spektrograph und als Spektrophotometer, also in ziemlich universeller Weise Verwendung finden.