

muß nach Möglichkeit vermieden oder durch entsprechende Zusätze in der Vergleichslösung kompensiert werden. Der Einfluß von Al-Ionen und von löslicher Kieselsäure ist nicht größer als der anderer Neutralsalze. Phosphationen dürfen nicht anwesend sein. Über Einzelheiten bei der Wahl der Versuchsbedingungen sowie über die Leistungsfähigkeit der Methode (Empfindlichkeit und Genauigkeit, pH-Einstellung, Einfluß von Fremdzusätzen, Temperatureinfluß) sei auf die frühere Arbeit verwiesen<sup>6)</sup>.

**Meßvorschrift:** Zur Aufstellung der Eichkurve werden in einen 250 cm<sup>3</sup>-Meßkolben 2 — 50 cm<sup>3</sup> einer 2 · 10<sup>-3</sup> norm. HF-Lösung gegeben, mit Wasser auf etwa 50 cm<sup>3</sup> verdünnt und mit 5 Tropfen einer 0,04 % Bromphenolblau-Lösung (in Alkohol) versetzt. Dann wird verdünnte Salzsäure zugegeben, bis die Lösung schwach blau ist (Vergleich mit einem Standard). Darauf werden 25 cm<sup>3</sup> einer 2 · 10<sup>-3</sup> norm. Natriumsalicylat-Lösung und 25 cm<sup>3</sup> einer 2 · 10<sup>-3</sup> molaren Eisen(III)-chlorid-Lösung in 0,1 norm. HCl zugegeben und auf 250 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Danach wird sofort gemessen. Die Extinktion dieser Lösungen bleibt tagelang konstant. Ebenso werden Lösungen unbekannten Fluorid-Gehaltes behandelt.

Als Vergleichslösung kann an Stelle von Wasser auch eine Eisensalicylat-Lösung ohne Fluorid-Zusatz verwendet werden. Man mißt auf diese Weise direkt den Extinktionsunterschied, der durch den Fluorid-Gehalt bedingt ist und erhält eine entsprechende Eichkurve.

**Standardlösungen:** Die 2 · 10<sup>-3</sup> molare Eisen(III)-chlorid-Lösung in 0,1 norm. HCl wird am besten durch Verdünnen einer 10mal konzentrierteren Lösung hergestellt, die man durch Auflösen von 5,406 g FeCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O, Merck pro anal. im Liter norm. HCl erhält. Nach Neuherstellung der konzentrierten Lösung kann ihr Eisengehalt durch eine Messung ohne Fluorid-Zusatz kontrolliert werden. Eisenchlorid-Lösung soll, um Hydrolyse zu vermeiden, in Salzsäure aufbewahrt werden. Einmal eingetretene Hydrolyse wird durch späteren Säurezusatz nur langsam rückgängig gemacht und gibt daher Anlaß zu fehlerhaften Meßergebnissen. In 0,1 norm. HCl halten sich 2 · 10<sup>-3</sup> molare Eisenchlorid-Lösungen monatelang unverändert.

2 · 10<sup>-3</sup> norm. Natriumsalicylat-Lösung = 0,3200 g pro Liter. — Die Flusssäure-Lösung wird durch Verdünnen reiner Flusssäure pro anal. hergestellt u. der Gehalt durch Titration mit Phenolphthalein als Indikator festgestellt. Die Lösungen werden in paraffinierten Flaschen aufgehoben.

Eingeg. 8. Mai 1947.

[A 40]

## Die Genauigkeit visueller Extinktions-Messungen an den Grenzen des sichtbaren Spektralbereiches

Von G. KORTÜM\*)

Aus dem Physikalisch-chemischen Institut der Universität Tübingen

Die Genauigkeit visueller colorimetrischer und photometrischer Messungen ist bekanntlich grundsätzlich in allen Fällen durch das *Weber-Fechnersche* Gesetz begrenzt, nach welchem in einem gewissen Helligkeitsbereich die vom Auge eben noch wahrnehmbare Änderung der relativen Leuchtdichte  $dJ/J$  beim Vergleich zweier beleuchteter Flächen konstant ist. Sieht man von systematischen Fehlern ab, wie sie etwa bei photometrischen Messungen durch den immer unvermeidlichen Anteil an Mischlicht oder bei Blendenphotometern durch die *Stiles-Crawford*-Effekte bedingt sind, so kann man auf Grund zahlreicher Untersuchungen annehmen, daß  $dJ/J$  unter optimalen Bedingungen für weißes Licht ein Minimum von etwa 1 % besitzt. Damit ist die Einstellstreuung visueller Messungen allgemein festgelegt. Aus ihr ergibt sich die relative Streuung der gemessenen Extinktion nach der bekannten Gleichung

$$\frac{dE}{E} = - \frac{0,4343}{E} \cdot \frac{dJ}{J} \quad (1)$$

Die Abhängigkeit der Größe  $dJ/J$  von der Gesichtsfeldhelligkeit wurde vor kurzem eingehend untersucht<sup>1)</sup>. Es blieb dabei die Frage offen, inwieweit  $dJ/J$  in dem physiologisch günstigen Leuchtdichtebereich von etwa 20 bis 10000 asb noch von dem zur Messung verwendeten Spektralbereich abhängt<sup>2)</sup>. Die Frage ist gleichbedeutend mit einer Diskussion der Gültigkeit des *Weber-Fechnerschen* Gesetzes in Abhängigkeit von der Wellenlänge des verwendeten Lichtes. Zur endgültigen Klärung dieser Frage wurden von uns jetzt Meßreihen durchgeführt, deren Ergebnisse im Folgenden mitgeteilt werden.

Es bestand die Möglichkeit, daß das in der Praxis häufig beobachtete Ansteigen der relativen Streuung der gemessenen Extinktionen nach den beiden Enden des sichtbaren Spektrums nicht im direkten Zusammenhang mit der Wellenlänge des verwendeten Lichtes steht, sondern der geringeren Leuchtdichte zuzuschreiben ist, die sich in diesen Spektralbereichen durch die geringere Emission der normaler Weise verwendeten Glühlampen sowie den Verlauf der Augenempfindlichkeitskurve ergibt. Es wurden deshalb Serienmessungen mit dem *Pulfrich*-Photometer unter Benutzung der S-Filter bei angenähert gleicher Gesichtsfeldhelligkeit gemacht. Da im hiesigen Laboratorium eine Apparatur zur genauen vergleichenden Messung heterochromer Lichtquellen (wie Flimmerphotometer u. ä.) nicht zur Verfügung stand, wurden unseren Messungen die Werte zu Grunde gelegt, die in der oben genannten Veröffentlichung von *Keck*<sup>3)</sup> für die mit den einzelnen Filtern erreichbaren Helligkeiten angegeben sind:

Filter	asb m. Nitra-Lampe	asb m. HQE (Quecksilberlampe)
S 75	19	—
S 72	121	—
S 61	59	—
S 57	223	455
S 53	1100	1250
S 50	166	—
S 47	240	—
S 43	5	210

Tabelle 1

Es kann mit Sicherheit angenommen werden, daß diese Werte jedenfalls größenordnungsmäßig gültig sind, wenn mit neuer Glühlampe (zur Ausschaltung des recht erheblichen Alterungseinflusses) bei genau eingestellter und konstant gehaltener Lampenspannung sowie exakter Zentrierung gearbeitet wird. Die teilweise erheblichen Helligkeitsunterschiede zwischen den einzelnen Filtern (Faktor 250) wurden mit Hilfe eines für diesen Zweck hergestellten Satzes geschwärzter Photoplatten ausgeglichen, die in den Strahlengang eingeführt wurden. Die Extinktion dieser Platten wurde für jedes Filter gesondert mit dem Stufenphotometer bestimmt, wobei ein merklicher Gang festzustellen war. Außerdem wurde bei jeder Platte die Gleichmäßigkeit der Extinktion über die ganze Schicht kontrolliert. Die Notwendigkeit, die Helligkeiten dem „dunkelsten“ Filter anzupassen, führte dazu, daß sämtliche Messungen in einem an sich physiologisch ungünstigen Bereich der Leuchtdichte durchgeführt werden mußten. Die dadurch bedingte Erhöhung der Einstellstreuung stört jedoch beim Vergleich der einzelnen Filter untereinander nicht, läßt vielmehr eventuelle Unterschiede zahlenmäßig um so deutlicher hervortreten.

Zur Vermeidung von Farbtonunterschieden der Gesichtsfeldhälften wurden zur Messung keine absorbierenden Lösungen verwendet, sondern es wurde die Extinktion der einen, auf einen bestimmten Wert eingestellten Meßblende mit Hilfe der anderen Meßblende im zweiten Strahlengang bestimmt. Auf diese Weise sind auch die Öffnungen der beiden Meßblenden stets annähernd gleich, sodaß der *Stiles-Crawford*-Effekt ebenfalls wegfällt. Die jeweils eingestellte Extinktion betrug etwa 0,3 entsprechend einer Trommeleinstellung von 50 %. Diese verhältnismäßig kleine Extinktion mußte trotz der dadurch bedingten großen relativen Streuung gewählt werden, damit bei den geringen Leuchtdichten noch einigermaßen ausreichende Gesichtsfeldhelligkeit erzielt wurde. Die Messungen selbst wurden von vier verschiedenen Personen, an vier verschiedenen Tagen unter Beachtung der üblichen Voraussetzungen (ausgeruhte Augen und gute Adaption) ausgeführt, um möglichst unabhängig von zufallsbedingten Ergebnissen zu sein. Die sich so (bei je 10 Messungen für beide Trommeln an einem Tage) ergebenden 320 Einzelmessungen für jedes Filter wurden nach der bekannten Formel für die Streuung  $\sigma$  der Meß-

werte  $\sigma = \sqrt{\frac{\sum(\Delta^2)}{n-1}}$  ausgewertet. Bei S 43 wurde statt mit der

\*) Unter Mitarbeit von Dipl. chem. J. Grambow

1) Eine Fläche hat die Leuchtdichte 1 Apostilb (asb), wenn 1 cm<sup>2</sup> in senkrechter Richtung die gleiche Intensität ausstrahlt wie eine punktförmige Lichtquelle von der Lichtstärke 1 Kerze.

2) P. H. Keck, Optik 1, 449 [1946].

Glühlampe mit der kleinen Quecksilberlampe HQE gearbeitet, die seit einiger Zeit für das *Pulfrich*-Photometer geliefert wird. Die dadurch erzielte etwa 50fache Helligkeit konnte ausgenutzt werden, um sogar bei diesem Filter die Abhängigkeit der Streuung von der Leuchtdichte zu messen; somit war ein Vergleich möglich mit S 57, dessen Schwerpunkt etwa mit der Lage des Maximums der Augenempfindlichkeitskurve zusammenfällt und mit dem ebenfalls bei 3 um je eine Zehner-Potenz auseinanderliegenden Leuchtdichten gemessen wurde. Für S 75 ließ sich dies mangels einer geeigneten in diesem Spektralbereich ausreichend intensiven Lichtquelle nicht erreichen. Das Ergebnis der Meßreihen ist in nachfolgender Tabelle wiedergegeben.

Filter: S	43	43	43	47	50	53	57	57	57	61	72	75	
Leuchtdichte in Größenordnung v. asb	1	10	100	1	1	1	1	10	100	1	1	1	asb
Beobachter I	4,4	2,9	2,1	3,3	5,4	3,8	3,0	1,8	2,0	5,0	6,1	5,3	dE/E %
Beobachter II	3,4	2,5	2,2	2,9	3,7	2,4	2,4	1,7	1,5	3,8	2,7	2,3	„
Beobachter III	4,1	2,9	2,7	3,3	3,9	3,6	3,4	2,4	2,0	3,7	3,5	3,7	„
Beobachter IV	4,3	2,7	2,5	2,8	6,0	4,4	3,8	3,1	2,9	5,9	6,0	7,2	„
Mittel:	4,1	2,8	2,4	3,1	4,7	3,6	3,2	2,2	2,1	4,6	4,6	4,6	„

Tabelle 2

Streuung der Extinktionsmessung ( $E = 0,3$ ) in verschiedenen Spektralbereichen bei gleicher Leuchtdichte

Offensichtlich sind im Violett und Rot die Streuungen etwas größer, jedoch ist weder im Mittel noch auch bei den einzelnen Beobachtern ein ausgesprochener Gang über den ganzen Spektralbereich festzustellen. Besonders auffallend ist der bei allen Beobachtern auftretende große Fehler bei S 50, der auch in Meßreihen anderer Autoren zum Ausdruck kommt<sup>1)</sup>. Schon im Verlaufe der Messungen wurde von allen Beobachtern dieses Filter als „unangenehm“ bezeichnet; eine Erklärung für diesen Effekt ließ sich bisher nicht geben. Klarheit wäre darüber nur zu schaffen bei Wiederholung der Messungen unter Benutzung eines Monochromators und exakter Bestimmung der Gesichtsfeldhelligkeit mit Hilfe eines Flimmerphotometers o. ä. Es sei noch bemerkt, daß bei subjektivem Vergleich S 50 wesentlich dunkler und in seiner Brillanz schlechter erscheint als das benachbarte S 47, obwohl die beiden Filtern zugehörigen asb-Werte von derselben Größenordnung sind. (Siehe Tabelle 1). Diese Anomalie ändert aber nichts an dem grundsätzlichen Ergebnis der Messungen, daß die Einstellstreuung  $dJ/J$  sich nur sehr wenig mit der Wellenlänge ändert und daß demnach die häufig festgestellte Zunahme der relativen Streuung an den Grenzen des sichtbaren Spektralgebiets praktisch allein der geringen Gesichtsfeldhelligkeit der benutzten Filter zuzuschreiben ist, deren großer Einfluß auf die Meßgenauigkeit ja bekannt ist.

Für die Praxis ergibt sich daraus im Falle hoher Ansprüche an die Meßgenauigkeit die Notwendigkeit, an den Grenzen des Sichtbaren oder ganz allgemein bei Filtern mit zu geringer Gesichtsfeldhelligkeit die Leuchtdichte soweit zu erhöhen, daß das Auge in seinem physiologisch günstigen Helligkeitsbereich arbeiten kann.

Im übrigen bestätigen die Zahlenwerte der Tabelle 2 erneut die mehrfach geäußerte Ansicht<sup>2)</sup>, daß eine Einstellstreuung  $dJ/J = 0,01$  ein Minimum darstellt, das nur unter besonders günstigen Bedingungen erreicht werden kann, denn die relativen Fehler sind trotz der Häufung der Messungen (je 320 Einzelwerte) wesentlich größer, als die nach Gleichung (1) für  $E = 0,3$  und  $dJ/J = 0,01$  berechnete Streuung (1,4 %), und zwar auch bei Leuchtdichten, die mit Sicherheit noch im physiologisch günstigen Bereich liegen. Da der Instrumentenfehler des *Pulfrich*-Photometers (Ablesestreuung der Meßtrommel) nach *Keck*<sup>1)</sup> bei  $E = 0,3$  etwa 0,4 % beträgt, ergibt sich aus dem kleinsten von uns beobachteten relativen Extinktionsfehler von 2,1 % (Tab.2) nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz eine Einstellstreuung von etwa 1,4 % die wesentlich größer ist, als von *Keck* angegeben wird (0,8 %). Daraus muß man schließen, daß die optimale Genauigkeit offenbar nur von besonders geübten Beobachtern und unter günstigsten Bedingungen erreicht werden kann, in der Praxis aber meistens wesentlich unterschritten wird.

Zur Erhöhung der Meßgenauigkeit bei visuellen Photometern ist in neuerer Zeit vorgeschlagen worden<sup>3)</sup>, im Vergleichsstrahlengang eine Hilfsschwächung bekannter, der zu messenden Extinktion möglichst gleicher Extinktion einzuführen. Nach den von *Keck* berechneten Fehlerkurven läßt sich auf diese Weise die relative Streuung  $dE/E$  bei Extinktionen von 4 bis 5 auf etwa 0,1 % herunterdrücken. Bei so hohen Extinktionen sind natürlich ausserordentlich hohe Leuchtdichten ( $10^6$  bis  $10^8$  asb) notwendig, die bei Verwendung von Filtern nur selten zur Verfügung stehen und höchstens mit Quecksilberhöchstdrucklampen, im roten Spektralgebiet aber überhaupt nicht erreichbar sein dürften.

Weiter ist in Betracht zu ziehen, daß eine Genauigkeitssteigerung mittels einer Hilfsschwächung nur dann möglich ist, wenn man als Hilfsschwächung eine Lösung des zu bestimmenden Stoffes bekannter Konzentration verwendet, weil sonst bei den hohen Extinktionen und den relativ breiten Filtern außerordentlich große Farbtonunterschiede auftreten würden, die ein starkes Anwachsen von  $dJ/J$  und damit des relativen Fehlers der Messung zur Folge haben<sup>4)</sup>. Andererseits dürfte es nur wenige Stoffe geben, die bei derartig hohen Leuchtdichten im Bereich einer Absorptionsbande nicht photochemische Veränderungen erleiden. Die von *Keck* geäußerte Ansicht, daß man „mit dem *Pulfrich*-Photometer bei Anwendung von Hilfsschwächungen eine Genauigkeit erreicht, die mit lichtelektrischen Geräten nur schwer erhältlich ist“, ist deshalb höchstens unter den von *Keck* vorausgesetzten idealisierten Bedingungen, aber keineswegs für die praktische Messung zutreffend. Man erreicht im Gegenteil, wie die Praxis zeigt, mit lichtelektrischen Geräten ohne großen instrumentellen Aufwand mühelos eine relative Streuung der Extinktion von 0,1 %, und zwar selbst noch bei Extinktionen von  $E \sim 0,1$  und entsprechend geringen Leuchtdichten<sup>5)</sup>, was als ein wesentlicher und bei visuellen Messungen grundsätzlich ausgeschlossener Vorteil der lichtelektrischen Messung anzusehen ist. Eingeg. 28. Mai 1947. [A 41]

<sup>1)</sup> G. Kortüm: Kolorimetrie und Spektralphotometrie, Berlin 1941.

<sup>2)</sup> B. Mader, Chem. Technik 16, 165 [1943]; G. Hansen, Zeitschr. f. Folge 117 [1944].

<sup>3)</sup> G. Kortüm u. J. Grambow, diese Ztschr. 53, 183 [1940].

## Versammlungsberichte

### Chemisches Colloquium der Universität Berlin

18. April 1947. Dr. F. JUST, Berlin: Biosynthese des Vitamins B<sub>1</sub>.

Vortr. und seine Mitarbeiter haben die Vitamin B<sub>1</sub>-Wirkung von abgeänderten Aneurin-Molekeln untersucht. Der Ersatz der CH<sub>2</sub>-Brücke zwischen dem Pyrimidin- und Thiazol-Ring durch die CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Gruppe veränderte die Vitaminwirkung kaum; bei Ersatz der CH<sub>2</sub>-Gruppe am Pyrimidin-Ring durch C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> oder C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> nahm die Wirkung ab; bei Substitution der Amino-Gruppe am Pyrimidin-Ring verschwand sie vollständig.

Bierhefe hat von allen Hefearten den höchsten B<sub>1</sub>-Gehalt: 250 γ/g. Bei ihrer aeroben Züchtung sank der B<sub>1</sub>-Gehalt auf 35 γ/g. Läßt man die Wuchshefe *Torula* in B<sub>1</sub>-freiem Medium gären, findet eine Steigerung des Vitamingehaltes statt von etwa 20 auf 30 γ/p. Wenn man Wuchshefe in den üblichen Substraten, z. B. Malzwürze, gären läßt, tritt eine starke Steigerung des B<sub>1</sub>-Gehaltes ein: Das in der Nährlösung enthaltene B<sub>1</sub> geht in die Hefe über. Diese Speicherung des Vitamins in der Hefe ist abhängig von der Konzentration des B<sub>1</sub> in der Nährlösung. Im Extremversuch konnte der Vitamin B<sub>1</sub>-Gehalt der Wuchshefen bis auf 3000 γ/g gebracht werden.

In der Aneurin-freien Melasse gezüchtete Hefe enthält Vitamin B<sub>1</sub>, woraus folgt, daß die Melasse die Vorprodukte der biogenen B<sub>1</sub>-Synthese enthalten muß. Versuche ergaben, daß *Torula*, ferner Back- und obergärige Bierhefe, auch einige Mikroorganismen, in denen das Vitamin zugrundeliegenden Pyrimidin- und Thiazol-Derivaten Aneurin (als Cocarboxylase) im Gärungsstoffwechsel mit 100 %iger Ausbeute zu synthetisieren. Diese Synthese ist unabhängig vom Zuckerumsatz. Beim Zusatz der Vitamin-Spaltprodukte im Atmungsstoffwechsel traten im Gegensatz zum Gärungsstoffwechsel Verluste ein. Bemerkenswert ist, daß die Vitamin B<sub>1</sub>-autotrophe *Torula* also Aneurin bzw. Cocarboxylase zu synthetisieren vermag.

Nach E. und R. Abderhalden können auch Tiere (Ratten, Tauben) am Leben erhalten werden, wenn in ihrer sonst Aneurin-freien Nahrung die Komponenten, aus denen sich das Vitamin aufbaut, enthalten sind. (Darmbakterien). Es ist noch nicht zu entscheiden, ob die Zelle eine Verknüpfung der Pyrimidin- und Thiazol-Komponente des Aneurins durchführt. Es sprechen aber dafür die glatte Reaktion, ihre Vollständigkeit und die hohe Ausbeute.

-Ni.

—VB 6—