
EXPERIMENTÁLNA TECHNIKA

**NÁVRH FOTOELEKTRICKEJ ÚPRAVY PULFRICHOVHO VIZUÁLNEHO
FOTOMETRA PRE MIKROSTANOVENIA**

ALFRÉD GRÉSER

Biochemická katedra Veterinárskej fakulty Vysokej školy poľnohospodárskej
v Košiciach

Úvod

Presnosť stanovenia extinkčných hodnôt vizuálnym fotometrom je obmedzená relatívnou svetelnou citlivosťou ľudského oka, danou tzv. Weber—Fechnerovým zákonom [1]. U skúseného pozorovateľa relatívna svetelná citlivosť oka dosahuje maximálnu hodnotu 3—2 %, ktorá sa únavou oka priebehom pozorovania znižuje a je príčinou aj značných chýb merania. Presnosť kolorimetrických stanovení vizuálnym prístrojom obmedzuje aj vada clonových prístrojov, tzv. Stiles—Grawfordov efekt [2]. Tento sa prejavuje pri meraní roztokov o väčších extinkčných hodnotách nerovnakým zafarbením obidvoch polí okulára pri tej istej nastavenej intenzite prechádzajúceho svetla.

Vzniku spomenutých chýb možno čeliť meraním pri malých extinkčných hodnotách a malých svetelných intenzitách, čo však pri vizuálnom fotometri vzhľadom na malú relatívnu svetelnú citlivosť ľudského oka značne sťažuje presné odčítanie extinkčných hodnôt. Pre zvýšenie presnosti merania pri malých extinkciách a malých zmenách intenzity svetla treba použiť fotočlánky, ktoré majú konštantnú absolútnu svetelnú citlivosť a dovoľujú plne využiť veľkú precíznosť kvadratickej clony fotometra. Opisovaná fotoelektrická úprava zvyšuje presnosť kolorimetrických meraní pomocou Pulfrichovho fotometra a rozširuje oblasť použitia prístroja na stanovenie mikromnožstiev s dostatočnou presnosťou a reprodukovateľnosťou, čo je vítané najmä pri stanoveniach v biologickom materiáli.

Zariadenie

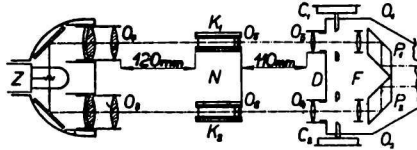
Podstatou úpravy je nahradenie oka pozorovateľa dvoma hradlovými fotočládkami, postavenými do ohniskových rovín optických sústav obidvoch svetelných dráh fotometra. Fotočlánky sú zapojené za sebou (kompenzačne) a ich spoločné svorky sú pripojené cez reduktor citlivosti (resp. cez vhodný prispôbovací obvod) na zrkadlový galvanometer.

Mechanická a optická úprava

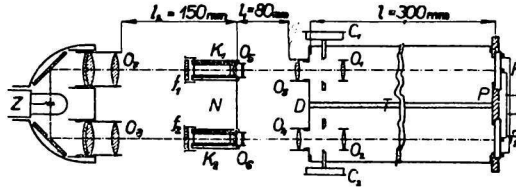
Úprava sa urobila na variante Pulfrichovho fotometra pre meranie s tzv. malými kvetami (obr. 1a).

K úprave sa prikróčí odňatím čelnej dosky D fotometra F spolu s pripevnenými kvadratickými clonami C_1 a C_2 a so spojkami O_1 a O_2 . Na tej istej čelnej doske upevnené hranoly P_1 a P_2 sa uvoľnia a vhodne uložia, keďže v ďalšom nie sú potrebné. Čelná

doska D s clonami C_1 a C_2 a spojkami O_1 a O_2 sa upevní do čela dutého telesa T (obr. 1b) zhotoveného z vhodného materiálu (železný alebo mosadzný plech). Teleso T , rozdelené pozdĺžnou priecškou na dve samostatné svetelne izolované komory, nesie na druhom konci fotočlánky F_1 a F_2 upevnené v puzdre P (obr. 1b). Dĺžka telesa T závisí od výslednej ohniskovej vzdialenosti optickej sústavy šošoviek O_1, O_3, O_7 , resp. O_2, O_4, O_8 (obr. 2).

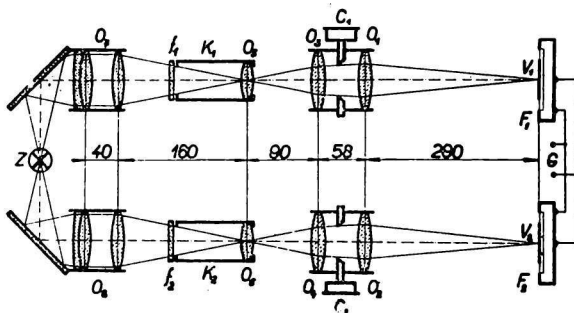


Obr. 1a. Schéma Pulfrichovho vizuálneho fotometra pre meranie s malými kvietami. Označenie pozri pod obr. 1b.



Obr. 1b. Schéma usporiadania fotoelektrickej úpravy vizuálneho fotometra.

Označenie: C_1, C_2 — ciachované kvadratické clony, D — čelná doska fotometra, f_1, f_2 — farebné filtre, F — fotometer, F_1, F_2 — fotočlánky, K_1, K_2 — kvietky 50 mm, N — nosič malých kviet, O_1, O_2 — objektívy fotometra, O_3, O_4 — predsádkové objektívy, O_5, O_6 — objektívy nosiča kviet, O_7, O_8 — kondenzory svetla, P — puzdro fotočlánkov s pozdĺžnou priecškou, P_1, P_2 — hranoly fotometra, T — teleso upraveného fotometra, Z — zdroj svetla.

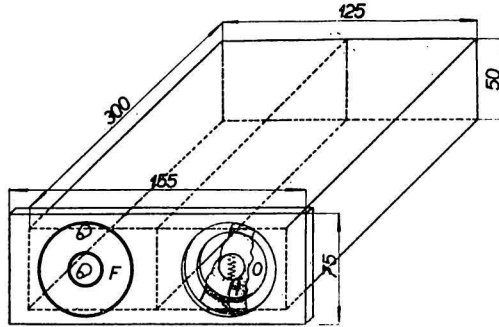


Obr. 2. Optická schéma fotoelektrického fotometra.

Označenie: C_1, C_2 — clony, F_1, F_2 — fotočlánky, G — svorky galvanometra, K_1, K_2 — kvietky, V_1, V_2 — obrazy vlákna na fotočlánkoch, Z — zdroj svetla. Orientačné hodnoty šošoviek: O_1, O_2 — 5,55 D (dioptrií), O_3, O_4 — 8 D, O_5, O_6 — 25 D, O_7, O_8 — 14,3 + 6,5 D.

Najľahšie sa určí experimentálne. Jej hodnota musí byť taká, aby fotočlánky prišli pri určitej pevnej vzájomnej vzdialenosti šošoviek O_1 — O_3 — O_7 , resp. O_2 — O_4 — O_8 presne do obrazovej roviny, aby sa na nich objavili aj pri úplne otvorených clonách C_1 a C_2 zaostrené obrazy V_1 a V_2 vlákna svetelného zdroja Z (obr. 2).

Keďže sa obrazy vlákna premietajú pomerne zložitou optikou, nesmie sa zabudnúť na súčasné zaostrenie obrazov okraja šošoviek O_5 a O_6 , ktorý sa na fotočlánkoch tak isto zobrazuje. Pri pevných vzdialenostiach $l_1 = 80$ mm, $l_2 = 150$ mm (obr. 1b) a pri použití predsádkových šošoviek O_3 a O_4 o ohniskovej vzdialenosti $f = 125$ mm (t. j. 8 dioptrií) dĺžka telesa T je asi 300 mm (obr. 3).



Obr. 3. Teleso upraveného fotometra s puzdrom fotočlánkov.

Označenie: F — fotočlánok, M — prúžok masťného papiera so zaostrenými obrazmi O okraja šošovky O_5 a vlákna svetelného zdroja.

Pri zachovaní spomenutých údajov dajú sa obrazy V_1 a V_2 vlákna svetelného zdroja Z zaostriť na fotočlánkoch pomocou kondenzorov O_7 a O_8 . Okraje šošoviek O_5 a O_6 možno zaostriť posúvaním jazdca s nosičom malých kyviet N . Treba spomenúť, že uvedená vzdialenosť l_2 pri pevných vzdialenostiach l a l_1 závisí od dĺžky použitej kyvety a je uvedená pre malé kyvety o dĺžke 50 mm. Pre malé kyvety iných dĺžok (20 mm a 10 mm) treba nastaviť l_2 dodatočne, t. j. treba znovu nastaviť ostrosť obrazu vlákna na fotočlánkoch pomocou kondenzorov O_7 a O_8 . Na vysvetlenie je potrebné uvážiť vplyv indexu lomu vloženého prostredia a jeho hrúbky (dĺžka kyvety s vodou) na optickú dráhu nerovnoobežných svetelných lúčov. Zaostrené obrazy okraja O šošoviek O_5 a O_6 aj pri rozličných kyvetách ostávajú nezmenené. Keďže sa šošovky O_5 a O_6 nosiča malých kyviet N pri opisovanej úprave nachádzajú v spoločnej obrazovej rovine sústav O_1, O_3 a O_7 , resp. O_2, O_4 a O_8 (obr. 2), priemety vlákna V_1 a V_2 neovplyvňujú a môžu sa vynechať. Táto skutočnosť dovoľuje pri zachovaní vzdialenosti $l_1 + l_2 = \text{konšt.} (= 230$ mm) (obr. 1b) využiť prístroj na meranie aj pomocou iných kyviet.

Farebné filtre sú vhodným spôsobom upevnené na objímkach šošoviek O_5 a O_6 .

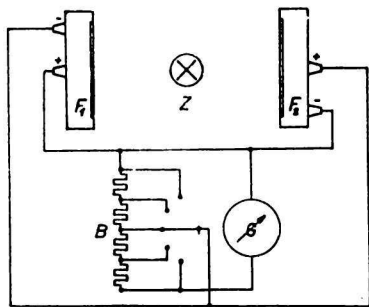
Ako zdroj svetla možno použiť zdroj vizuálneho fotometra v pôvodnej úprave. Pre merania s filtermi o väčších optických hustotách treba zvýšiť výkon svetelného zdroja. Po príslušnej úprave objímky a krytu zdroja možno namiesto žiaroviek 6 V/35 W použiť projekčné žiarovky 12 V/100 W fy Tungstram, napájané transformátorom 220/12 V 100 VA cez stabilizátor sieťového napätia.

Elektrické zapojenie

Fotočlánky

Ako indikačné fotočlánky sa použili fotočlánky zn. „Original Dr. B. Lange“ o vonkajšom priemere $\varnothing 60$ mm a o priemere fotoelektricky účinnej plochy $\varnothing 40$ mm. V opisovanej úprave jediným možným variantom zapojenia fotočlánkov je zapojenie kompenzačné (obr. 4).

Fotočlánky F_1 a F_2 sú spojené opačne pólovanými svorkami a v diagonále svoriek je zapojený zrkadlový galvanometer o určitých charakteristických konštantách (udaných na štítku prístroja) ako indikátor prúdu. Fotočlánky slúžia tu iba na indikáciu svetla, resp. jeho zmeny a vlastným meracím elementom je precízne ciachovaná kvadratická clona fotometra. Galvanometrom indikujeme fotoprúd vzniknutý rozdielnym osvetlením fotočlánkov.



Obr. 4. Zapojenie fotočlánkov.

Označenie: B — bočník Ayrtonov, F_1, F_2 — fotočlánky, G — zrkadlový galvanometer, Z — svetelný zdroj.

Galvanometre

Citlivosť indikácie nerovnovážneho stavu alebo nulového stavu závisí od voľby galvanometra a od jeho prispôsobenia vonkajšiemu obvodu. Citlivosť galvanometra je plne využitá iba vtedy, keď galvanometer pracuje v optimálnom prispôsobení [3], t. j. keď jeho otočná cievka sa pohybuje aperiodicky [4]. Aperiodický pohyb cievky galvanometra sa dosiahne zapojením galvanometra do obvodu, ktorý z jeho strany javí odpor rovný práve aperiodickému odporu, udaného na štítku prístroja. Pre voľbu a prispôsobenie galvanometra je dôležité poznať vnútorný odpor použitých fotočlánkov, ktorý sa, pravda, zmenou osvetlenia mení a pri slabých osvetleniach má hodnotu rádovo desiatok $k\Omega$ [5].

Pri väčšine zrkadlových galvanometrov s prúdovou konštantou rádovo 10^{-6} až 10^{-9} A/mm/m možno vhodným prispôsobením [6] dosiahnuť aperiodický pohyb cievky pri postačujúcej citlivosti a dobu ustálenia výchylky, ktorá pri aperiodickom pohybe sa rovná dobe kyvu udanej na štítku prístroja [7].

Pre znižovanie citlivosti galvanometra alebo pre jeho prispôsobenie fotočlánkom možno použiť bočníky v Ayrtonovom zapojení [8]. Ale použitie bočníka nedovoľuje plne využiť citlivosť galvanometra, pretože aj pri citlivosti 1 : 1 je galvanometer spojený paralelne s celkovým odporom použitého bočníka. Tento sa musí rovnať aperiodickému odporu galvanometra, aby vplyv rádovo značne väčšieho vnútorného odporu fotočlánkov na aperiodický stav galvanometra bol zanedbateľný. Napríklad sa použil galvanometer fy Zbrojovka, typ Z9 s prúdovou konštantou $1,5 \cdot 10^{-9}$ A/mm/m s vonkajším (aperiodickým) odporom 3000Ω v spojení s bočníkom fy Zbrojovka s celkovým odporom tak isto 3000Ω . Tým sa dosiahol aperiodický pohyb galvanometra a doba kyvu asi 13 sekúnd. Rovnako dobre možno použiť galvanometre typu Interflex (Multiflex) s prúdovou konštantou 10^{-6} až 10^{-8} A/mm/m s aperiodickým odporom 1000 — 3000Ω a s menšou dobou kyvu asi 3—6 sekúnd. Tu vonkajší bočník odpadá, pretože spomenutý typ galvanometra je vybavený vlastným reduktorom citlivosti.

Meranie, výsledky a zhodnotenie

Meranie

Prístroj v uvedenej úprave meria metódou substitučnou. Do ľavej svetelnej dráhy postavíme kyvetu K_2 s destilovanou vodou (tzv. vodná hodnota). Do pravej svetelnej dráhy postavíme kyvetu K_1 s farebným roztokom. Pravú kalibrovanú clonu C_1 nastavíme na počiatočnú extinkčnú hodnotu E_p (napr. 0,3). Ľavou clonou C_2 vyrovnáme galvanometer na nulu. Po ustálení nulovej polohy zmenšíme citlivosť galvanometra a farebný roztok kyvety K_1 zameníme destilovanou vodou, resp. tzv. základným roztokom. Zvýšime citlivosť galvanometra a pravou clonou C_1 vyrovnáme galvanometer opäť na nulu a odčítame nameranú extinkciu E_k (napr. 0,672). Potom extinkcia farebného roztoku o hrúbke h a koncentrácii c je:

$$E_{h,c} = E_k - E_p \text{ (napr. } 0,672 - 0,3 = 0,372)$$

Meranie možno zopakovať, pričom sa vychádza od iných počiatočných extinkčných hodnôt nastavených na pravej kalibrovanej clone. Musia sa takto dosiahnuť tie isté hodnoty extinkcie meraného roztoku, čo je dôkazom a zároveň kontrolou správnej činnosti zariadenia [9].

Výsledky

Na demonštráciu presnosti zariadenia uvádzame príklad merania extinkčných hodnôt neutrálneho šedého filtra E 0,5 (doplnku vizuálneho fotometra); pozri tab. 1.

Tabuľka 1

E_p	0,000	0,200	0,400	0,600	0,800	1,000	1,200	1,400
E_k	0,514	0,715	0,913	1,114	1,314	1,51	1,71	1,91
E	0,514	0,515	0,513	0,514	0,514	0,51	0,51	0,51
$E_s = 0,514 \pm 0,001$								

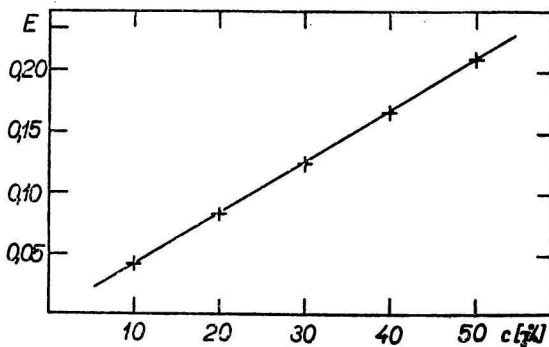
Ako vidieť z uvedenej tabuľky, presnosť merania je v medziach chyby $\pm 0,2\%$ E_s . Pri extinkciách E_k väčších než 1,4 odhad tretieho desatinného miesta vzhľadom na spôsob ciachovania clony nie je možný.

Ako príklad merania extinkcie farebných roztokov o veľmi nízkych koncentráciách uvádzame kalibračnú krivku pre stanovenie dusíka pomocou Nesslerovho reagenta. Kalibrovalo sa obvyklým spôsobom na roztoky síranu amónneho v koncentračnom rozsahu 10—50 γ N/100 ml (tab. 2).

Tabuľka 2

c [‰]	10	20	30	40	50
E_s [1]	0,041	0,083	0,127	0,166	0,211

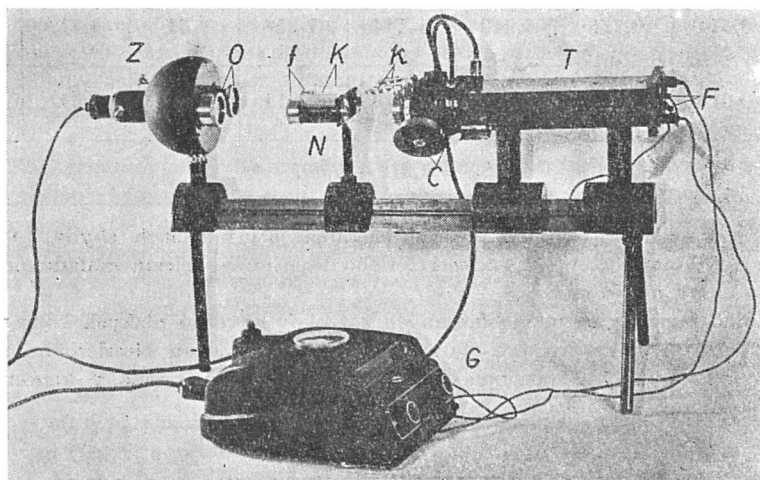
Roztoky sa pripravili dvojmo zo základného roztoku o koncentrácii 0,1 mg na 100 ml. Každá dvojica roztokov sa päťkrát premerala a do tabuľky, resp. do diagramu na obr. 5



Obr. 5. Kalibračná krivka síranu amónneho v koncentračnom rozsahu 10—50 γ dusíka na 100 ml.

sa naniesli stredné hodnoty jednotlivých meraní. Pri meraní sa použil interferenčný filter JF 467 fy Schott-Jena. Aj táto kalibračná krivka svedčí o vhodnosti navrhovanej fotoelektrickej úpravy.

Celkový pohľad na usporiadanie prístroja je na obr. 6. Klapky *k* slúžia na zamedzenie prístupu svetla do fotometra pri manipulácii s kvetami.



Obr. 6. Pohľad na fotoelektrický fotometer.

Označenie: *T* — teleso fotometra s clonami *C*, klapkami *k* a fotočlánkami *F*, *N* — nosič malých kviet s kvetami *K* a filtermi *f*, *Z* — svetelný zdroj s kondenzormi *O*, *G* — galvanometer Multiflex.

Zhodnotenie

Predkladaný návrh úpravy fotometra vyhovuje pre náročné laboratórne kolorimetrické merania. Plne využíva možnosti, ktoré konštrukcia a doplnky vizuálneho fotometra poskytujú. Použitím fotočlánkov a tzv. malých kyviet dovoľuje stanovovať extinkčné hodnoty veľmi málo koncentrovaných roztokov s dobrou reprodukovateľnosťou. Tým sa upravený prístroj ukazuje vhodným najmä pre stanovenia v biologickom materiáli.

Súhrn

V práci sa podáva návrh fotoelektrickej úpravy Pulfrichovho vizuálneho fotometra pre meranie malých extinkčných hodnôt. Úprava sa realizovala na variante prístroja pre meranie s tzv. malými kyvetami. Sériou meraní sa preverila správna činnosť upraveného prístroja. Pomocou prístroja sa stanovila kalibračná krivka síranu amónneho v koncentračnom rozsahu 10—50 γ dusíka na 100 ml.

ПРЕДЛОЖЕНИЕ ДЛЯ ФОТОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО
ПЕРЕУСТРОЙСТВА ВИЗУАЛЬНОГО ФОТОМЕТРА ПУЛЬФРИХА
ДЛЯ МИКРООПРЕДЕЛЕНИЙ

АЛЬФРЕД ГРЕСЕР

Кафедра биохимии при Ветеринарном факультете Сельскохозяйственного института
в г. Кошице

Выводы

Было дано предложение фотоэлектрического переустройства визуального фотометра Пульфриха для измерения малых экстинкционных величин. Переустройство было проведено по варианту аппарата для измерения с т. н. малыми кюветами. Серией измерений было проверено правильное действие переустроенного аппарата. При помощи аппарата была определена калиброванная кривая сернокислого аммония в концентрическом объеме от 10 до 50 γ азота на 100 мл.

Поступило в редакцию 14. 6. 1956 г.

VORSCHLAG EINER PHOTOELEKTRISCHEN MODIFIKATION DES
PULFRICH'SCHEN VISUELLEN PHOTOMETERS FÜR MIKRO-
BESTIMMUNGEN

ALFRÉD GRÉSER

Lehrstuhl für Biochemie der Veterinär-medizinischen Fakultät an der
Landwirtschaftlichen Hochschule in Košice

Zusammenfassung

Es wurde ein Vorschlag zur Modifikation des Pulfrich'schen visuellen Photometers zum Messen kleiner Extinktionswerte vorgelegt. Diese Modifikation wurde nach Art einer Variante des Geräts für das Messen mit sog. kleinen Küvetten realisiert. Durch

eine Serie von Messungen wurde das richtige Funktionieren des modifizierten Geräts überprüft. Mit Hilfe dieses Geräts wurde eine Eichkurve für Ammoniumsulfat im Konzentrationsbereich von 10—50 γ Stickstoff in 100 ml bestimmt.

In die Redaktion eingelangt den 14. 6. 1956

LITERATÚRA

1. Skotnický J., Experimentelle Technik der Physik 3, 98 (1954). — 2. Zvoniček J., *Fyzikální přístroje v chemické laboratoři*, Praha 1948, 87. — 3. Horna O. A., *Elektronik* 9, 203 (1950). — 4. Popov V. S., *Elektrotechnická měřicí přístroje*, Praha 1955, 93. — 5. Kalendovský—Strnad, *Fotoelektrické články*, Praha 1949, 101. — 6. Fröhlich B., *Zrcadlové galvanometry*, Praha 1950, 23. — 7. Trnka Z., *Elektrické měřicí přístroje*, Praha 1951, 80. — 8. Fröhlich B., *Zrcadlové galvanometry*, Praha 1950, 25. — 9. Skotnický J., Experimentelle Technik der Physik 3, 104 (1954).

Došlo do redakcie 14. 6. 1956