

K-7000

Vapor Pressure Osmometer

Dampfdruckosmometer

User Manual / Handbuch

V7109, 03/2007



Advanced Scientific Instruments
Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH
Hegauer Weg 38
D - 14163 Berlin, Germany
Tel.: +49 (0)30 809 727 0
Fax.: +49 (0)30 801 50 10
E-Mail: info@knauer.net
Internet: www.knauer.net

Table of contents

Design & Measurement Principle	5
Preparing the Vapor Pressure Osmometer K-7000 for Measurement.....	6
Front View of the Instrument	6
Electrical Connections & Rear Panel.....	6
Rear Panel Elements.....	6
Top View of the Instrument.....	7
Removing the Cell from the Instrument.....	8
Cleaning the Thermistor Probes.....	8
Insertion of Vapor Wicks.....	8
Insertion of the Measurement Cell.....	8
Operating your Vapor Pressure Osmometer K-7000.....	9
Switching the Vapor Pressure Osmometer K-7000 on.....	9
Using the Keys of the Vapor Pressure Osmometer K-7000	9
Displays of the Vapor Pressure Osmometer K-7000.....	10
Main Menu	10
Selecting an appropriate Measurement Temperature.....	10
Using the Time Display.....	11
Identifying the Serial Number	11
Using the Calibration Mode	11
Using the Mode Actual Temperature.....	12
Resetting the Bridge Voltage.....	12
Practical Choice of Solvents.....	12
Specifications of the required Syringes	14
Performing Measurements	14
Using the syringes	14
Finding the Zero Point	14
Dropping Techniques.....	14
Measuring new solvent and new sample droplets.....	15
Exchanging the sample droplet only.....	15
Thermistor Adjustment	16
Required Stabilization Time.....	16
Three Different Measurement Modes	16
Determination of the Total Osmolality of Physiological Fluids.....	16
Performing a Calibration with NaCl of 400 mOsmol/kg.....	18
Evaluation of calibration data	18
Evaluating Measurement Data	19
Molecular Mass Determination for $M < 500$ g/mol.....	19
Molecular Mass Determination for $M > 500$ g/mol.....	21
Calibration.....	21
Measurement:.....	21
Operating the K-7000 with EuroOsmo [®] 7000 Software.....	23
Hardware Requirements and Installation of EuroOsmo [®] 7000 Software...23	
Installation of the EuroOsmo [®] 7000 software from a CD ROM.....	23
Installation of the EuroOsmo [®] 7000 software from a floppy disk	23
Hardware installation	23
Explanation of the main screen	24
Software set up for the measurement	27
Performing measurements	27
Determination of the total osmolality	28
Determination of molecular mass < 500	28
Determination of molecular mass > 500	29
Data saving.....	30
Trouble Shooting Tips.....	32
Spare Parts & Accessories	33
Data Sheet of the Vapor Pressure Osmometer K-7000	34
Warranty statement.....	67
Declaration of conformity	68
KNAUER Software License Agreement.....	69

Inhaltsverzeichnis

Design & Messprinzip.....	35
Vorbereitung des K-7000 für die Messung.....	36
Frontansicht des Gerätes.....	36
Elektrische Anschlüsse und Rückansicht	36
Rückfrontelemente.....	36
Gerätedraufsicht.....	37
Entfernung der Zelle vom Gerät.....	38
Reinigung der Thermistoren	38
Einsetzen der Dochte.....	39
Einsetzen der Messzelle	39
Bedienung des Dampfdruckosmometers K-7000	40
Einschalten des K-7000	40
Tastenbedienung des K-7000	40
Displays des K-7000	41
Hauptmenü.....	41
Auswahl der geeigneten Messtemperatur	41
Nutzung des Zeitdisplays.....	41
Identifizierung der Seriennummer.....	42
Kalibrierungsmodus	42
Modus aktuelle Temperatur	43
Rücksetzung der Brückenspannung.....	43
Lösungsmittelauswahl.....	43
Spezifikation der erforderlichen Spritzen	45
Durchführung der Messung.....	45
Benutzung der Spritzen.....	45
Nullpunkteinstellung.....	45
Tropftechniken	46
Messung neuer Lösungsmittel- und Probentropfen.....	46
Alleiniger Wechsel des Probentropfens	47
Thermistorjustierung	47
Erforderliche Stabilisierungszeit.....	47
Drei verschiedene Messmethoden.....	48
Bestimmung der Totalosmolalität physiologischer Flüssigkeiten.....	48
Kalibrierung mit NaCl 400	49
Auswertung der Kalibrierungsdaten.....	50
Auswertung der Messdaten	51
Molmassenbestimmung für $M < 500$ g/mol	51
Molmassenbestimmung für $M > 500$ g/mol	53
Kalibrierung	53
Messung.....	54
Arbeit mit dem K-7000 und der EuroOsmo 7000 Software.....	55
Hardwareanforderungen und Installation der EuroOsmo 7000 Software	55
Installation von einer CDROM	55
Installation von einer Diskette	55
Hardware Installation	55
Erläuterung des Hauptbildschirms	56
Software Setup für die Messung.....	59
Durchführung der Messungen	59
Bestimmung der Totalosmolalität.....	60
Molmassenbestimmung < 500 g/mol.....	60
Molmassenbestimmung > 500 g/mol.....	62
Daten Speicherung	63
Tips zur Fehlersuche.....	64
Ersatzteile und Zubehör	65
Datenblatt des Dampfdruckosmometers K-7000	66
Gewährleistungsbedingungen.....	67
Konformitätserklärung	68
KNAUER Software License Agreement.....	69

Design & Measurement Principle

The Vapor Pressure Osmometer K-7000 has been designed to exactly measure the total osmolality of physiological fluids and to determine the average molecular mass of polymers in aqueous or organic solutions.

Two thermistors are part of a Wheatstone bridge. Differential measurements of currents due to temperature differences at the thermistors are accomplished. The thermistors are located in a cell where the gas phase is saturated with solvent vapor. The cell temperature is electronically controlled and maintained with an accuracy of $\pm 1 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$. One drop of the same pure solvent located on either thermistor represents a zero temperature difference or equilibrium of the measurement system.

The vapor pressure of any solution containing solutes is lower than the vapor pressure of a pure solvent. Hence, replacing one drop of pure solvent with one drop of a solution leads to a vapor pressure difference between the two droplets. This difference however is compensated as follows: Some vapor of the pure solvent that saturates the gas phase condenses on the droplet of the solution until the vapor pressures are balanced. The increasing vapor pressure of the solution droplet leads to an increase of temperature. Once equilibrium is reached a constant measurement value is achieved.

This particular ΔT between the thermistors is always proportional to the number of particles or number of moles dissolved in the solution. Thus either concentrations or the molecular mass can be determined, in the latter case however only if sample concentrations are known.

The measuring cell is placed in a thermostat consisting of an anodized aluminum block. The two thermistors immerse into a glass beaker enriched with vapor. The operating temperature can be selected in the range between 20 and 130°C. The cell is sealed with a circular cell cover and a teflon gasket.

The head of the osmometer has 6 directional channels where the syringes can be introduced to attach droplets to the thermistors. The syringes are introduced by slightly moving them downwards into individual channels. The needles of the syringes are equipped with springs. Direct contact with the probes should be avoided. The syringe ports are numbered from 1 to 4 for the solutions, the 2 ports without numbers are to provide both thermistors with pure solvent drops.

The sample ports are aligned with the left thermistor. The head of the osmometer will also be thermostatted. To preheat the syringes it is recommended to set the head temperature 2°C higher than in the measuring cell. This value of experience provides an excellent screening against outside temperature variation and a minimum influence of cold syringes on the temperature in the cell.

Preparing the Vapor Pressure Osmometer K-7000 for Measurement

Front View of the Instrument

You can locate the functional elements of the front panel with Fig. 1

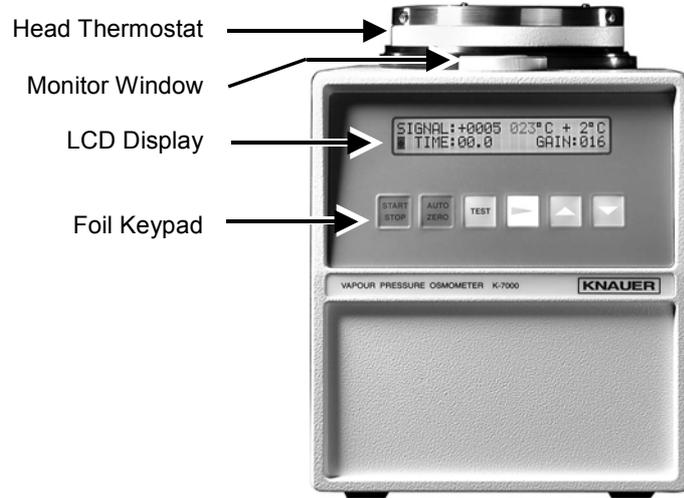


Fig. 1 Front View of the Vapor Pressure Osmometer K-7000

Electrical Connections & Rear Panel

The vapor pressure osmometer can be used within a wide range of input voltages from 85 – 264 V, 47 – 440 Hz. The time-lag fuse is located below the socket for the power cable.

For problem-free operation connect the instrument only to sockets with a ground contact by using the three-pronged power cable included with delivery!

Rear Panel Elements

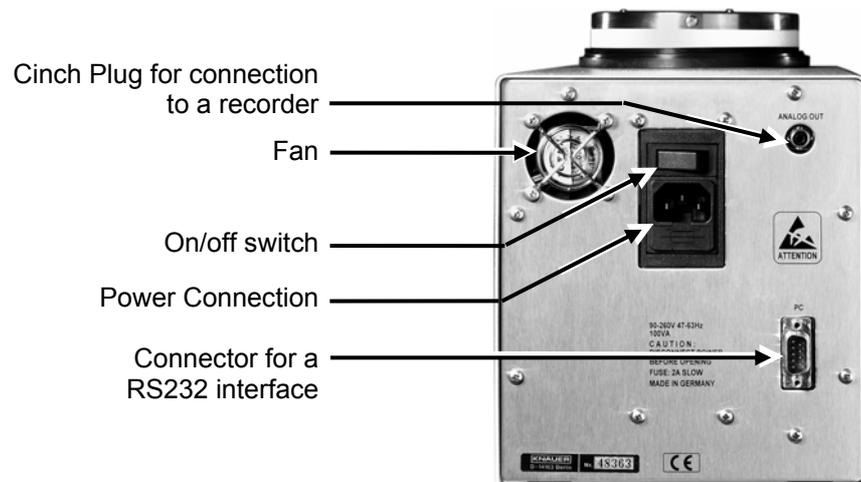


Fig. 2 Rear Panel of the Vapor Pressure Osmometer K-7000

Top View of the Instrument

The following functional elements are located on the top of the instrument, see Table 1 and Fig. 3.

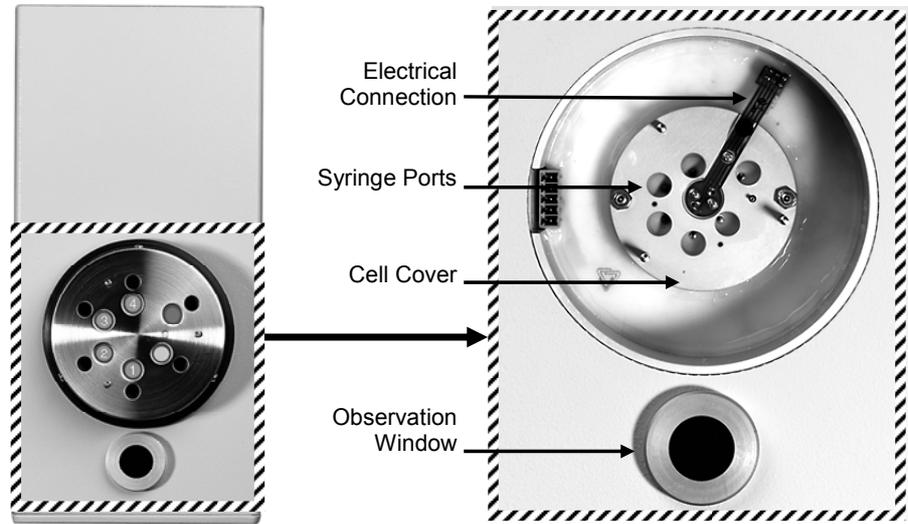


Fig. 3 Top View of the Vapor Pressure Osmometer K-7000 (left) and Top View with Head Thermostat removed (right)

Table 1 Functional Elements of the Top of the instrument

Monitor Window	The window on the top of the osmometer allows to monitor the thermistors and to control the droplet sizes. The size of the droplets should be identical. The cell is illuminated by a small lamp and the light is deflected by a mirror to the window.
Syringe Ports	
Position Red	Pure solvent to rinse the right thermistor (reference)
Position Yellow	Pure solvent to rinse the left thermistor (sample)
Position 1 – 4	For up to 4 different sample solutions

Use Fig. 4 for identifying parts of the measuring cell.

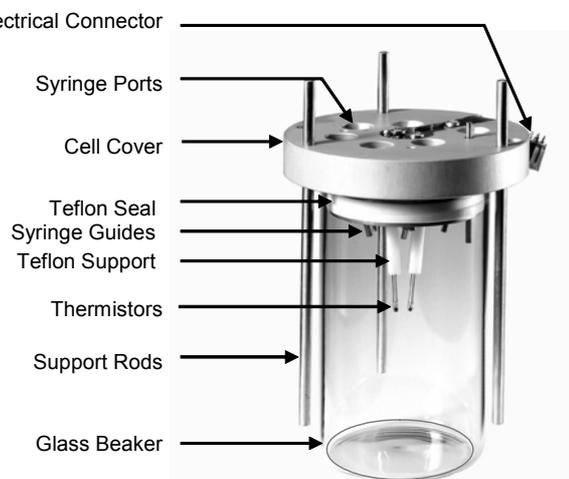


Fig. 4 Elements and Design of Measuring Cell

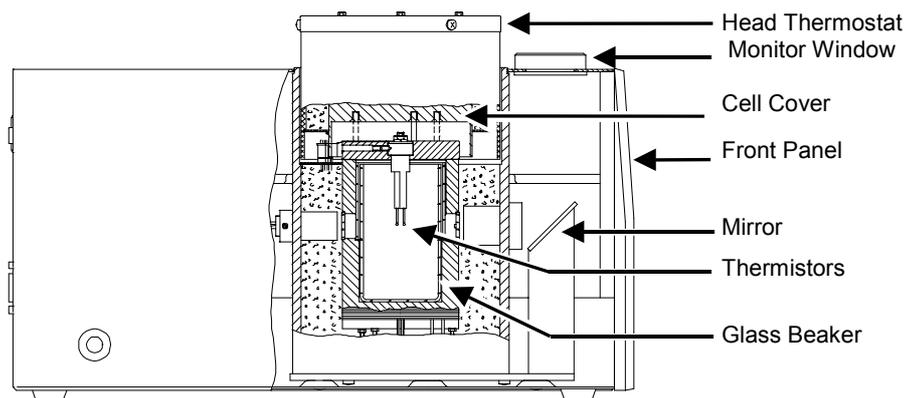


Fig. 5 Side View with basic design of K-7000

Removing the Cell from the Instrument

Remove any syringes from the ports. Then lift the head of the osmometer. Unscrew the 2 female nuts, disconnect the black plug and lift the glass beaker including metal cover out of the thermostat. Remove the cover from the glass by slightly pulling the latter.

Cleaning the Thermistor Probes

Please rinse the thermistor probes which are located in the center of the cover with acetone followed by a solution of a surface active reagent and water. This procedure helps to adhere droplets on the thermistors.

Insertion of Vapor Wicks

Solvent wicks (order number A0429) are placed into the beaker to increase the liquid surface area for an optimum saturation of vapor in the entire cell. Proceed according to the following instructions: The large filter paper is rolled to a cylinder and is placed into the beaker with the window in the upper part. The small paper is rolled to a cylinder and the 2 paper rings are slipped on, one below and one above the window. The windows of both cylinders are adjusted to allow complete observation of the thermistors, see Fig. 6 next page.

Fill about 20 ml of the solvent for your measurements into the cell. The vapor wicks shall already be wetted during fill-up.

Insertion of the Measurement Cell

Place the beaker with the wicks into the thermostat. Both windows should face the front part of the osmometer. Put the cover onto the cell and reconnect the black plug.



Take care, that the plug is positioned properly! Otherwise the instrument will not work at all!

Be sure that all windows of the wicks are well aligned and face towards the front of the instrument, if not readjust. The ends of the 2 thermistor probes should be completely observable through the monitoring window. Reset the head thermostat with port # 1 in front.

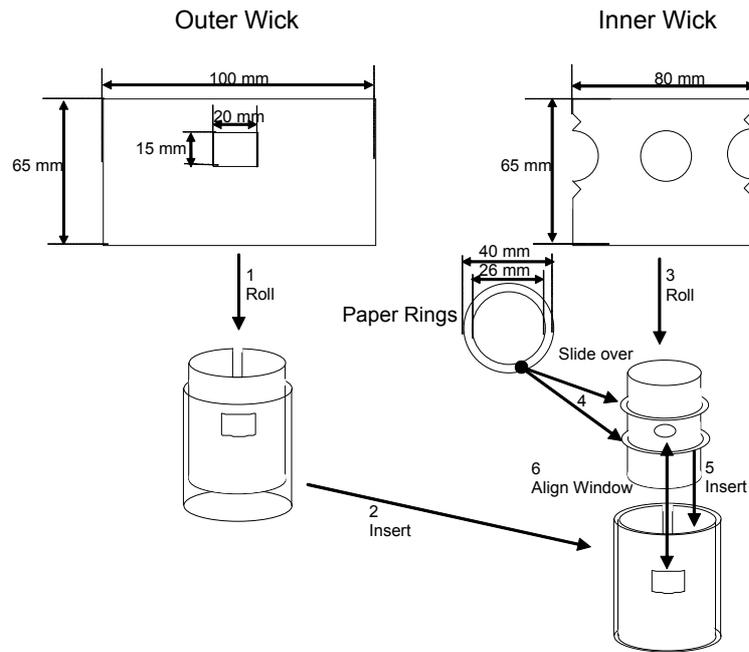


Fig. 6 Preparing the vapor wicks

Operating your Vapor Pressure Osmometer K-7000

Switching the Vapor Pressure Osmometer K-7000 on

Use the on/off button on the rear panel side and switch on the instrument.

After power on the display shows the message **Knauer Osmometer** and a few seconds later the release number of the internal software. Startup is completed and the main menu will be displayed. The preselected temperature will be activated. All parameters of the last measurement will automatically be restored. However, you can select new parameters if desired.

Select a temperature $\leq 130^{\circ}\text{C}$, press key AUTOZERO, wait until the baseline is constant, then press the key TEST. After about 15 seconds either **Test ok** or **maintenance required** is displayed. In the last case the thermistor probe shall be sent back to the manufacturer for a routine check. It is recommended to run this test every 3 months or if measurements are not reproducible.

Using the Keys of the Vapor Pressure Osmometer K-7000

You can operate the instrument with the keys on its front panel, see Fig. 7. Table 2 gives a brief overview of the basic functions of these keys.

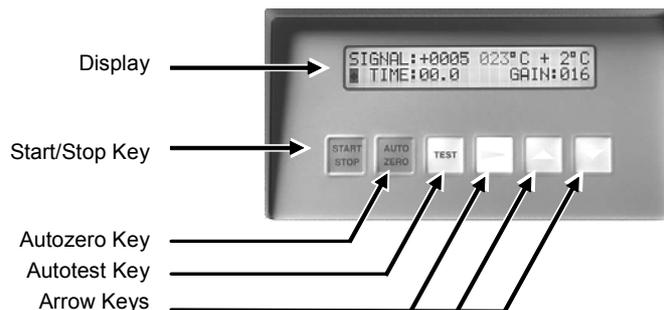


Fig. 7 Front Panel Elements of the Vapor Pressure Osmometer K-7000

Table 2 Basic Functionality of the Front Panel Keys

START STOP	To start and stop the measurement
AUTO ZERO	This function compensates the offset, finds the zero position if both thermistors hold droplets with pure solvent. You can use Autozero after 2 pure solvent droplets are attached and the baseline is constant. The measurement value will be reset to zero within 20 – 30 seconds
TEST	Automatic test run to check the performance of the thermistors
Right Arrow Key ➤	Moves cursor to fields within a menu
Up Arrow Key ▲	Selection of menu Increase of numeric values
Down Arrow Key ▼	Selection of menu Decrease of numeric values

Displays of the Vapor Pressure Osmometer K-7000

Main Menu

The main menu displays status information and allows access to other menus.

SIGNAL:+0000	060°C +2°C
◆ TIME:0.00	Gain:064

Fig. 8 Example for a Main Menu Display

Table 3 Properties of the Display of the K-7000

Signal/Measurement Value	+/- 4 digits
Page Selection	Black rhombus
Time	Measurement Time up to 30 min Seconds in units of 1/10 min
Selectable Gain ¹⁾ Settings	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256
Selectable Cell Temperature	20 – 130 °C
Selectable Δt ²⁾	max. 6 °C

¹⁾ The Gain Setting is related to the internal amplification of the raw signal and effects the output values of the instrument

²⁾ For the Vapor Pressure Osmometer K-7000 Δt is calculated as the difference between the Temperatures of Head and Cell $\Delta t = T_{\text{Head}} - T_{\text{Cell}}$

Selecting an appropriate Measurement Temperature

Prior to measurement you need to select the temperatures of the entire cell and the head individually. You can select both temperatures manually by selecting the appropriate field and edit the numeric values as follows. The head temperature is always entered as an increment of the cell temperature. If you are working with cell temperatures $\leq 35^\circ\text{C}$, set the head temperature zero.

1. Select Right Arrow Key ➤ until the corresponding position is reached.
2. Press either Up Arrow Key ▲ or Down Arrow Key ▼ to select the desired temperatures.

If you for example want to activate a temperature cell of 60°C and a head temperature of 62°C you can enter the values of 60°C and +2°C. The display shows a blinking value of the cell temperature until the preset temperature is actually reached.



To ensure stable temperature conditions, the cell temperature should be at least 5° above the room temperature.

Using the Time Display

Measurements can be started when the time display shows zero. The measurement time count can be started and stopped by pressing the start/stop key, respectively. This time window will automatically be stored unless not manually changed. You can use this feature for tracking the measurement time or certain intervals during measurements e. g. the signal reaches a consistent value. Pressing the start/stop button a second time will lead to a decremental time count until zero. On reaching zero the value that has been measured is kept in the display (HOLD position). Pressing the Start/Stop key again will lead to a decremental time count until zero. If the measurement is stopped during any time count, the value for time will automatically be reset to its initial value (no HOLD position!).

Identifying the Serial Number

Move the cursor using Right Arrow Key ➤ to the black rhombus and press Up Arrow Key ▲. In this screen the serial number of this particular instrument is displayed.



Fig. 9 Identifying the Serial Number on the display

Using the Calibration Mode

Press Up Arrow Key ▲ again. You should see a display similar to Fig. 10.



Fig. 10 Display using the mode calibration



You can use this feature for direct determination of osmolalities of physiological fluids.

For calibration purposes it is possible to change the measurement value to a lower number by reduction of the bridge voltage. We recommend values of $\geq 50\%$ compared to the initial value.

In the osmolality mode the measurement value can directly be correlated to an osmolality given in units of mOsmol/kg.



Example: Using the calibration mode

A standard solution of 400 Osmol/kg is measured. The gain is set to 16 and the measurement value is determined to be 455. In the calibration screen the actual value is 455.

Press the Right Arrow Key \blacktriangleright once. The cursor moves to the second line **set**.

Press the Down Arrow Key \blacktriangledown until 400 is reached. Press Right Arrow Key \blacktriangleright again: The calibration is now executed. In the display the word **calibrating** is shown. After about 10 seconds the actual value switches to 400. This change is due to an internal reduction of the bridge voltage. You can check the new voltage in the corresponding screen, see Fig. 11.

The calibration value is permanently stored.

The voltage applied to the Wheatstone Bridge is displayed in percent. Use this display to adjust and reset this value to 100%. During normal operation this value should give 100% unless a calibration has been performed and stored.

Using the Mode Actual Temperature

Use the Up Arrow Key \blacktriangle and select the following display. Use this screen for displaying the actual temperatures of cell and head.

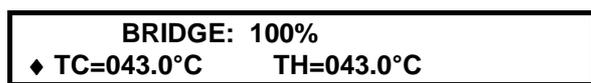


Fig. 11 Temperature Display of Measurement Cell and Cell Head

Resetting the Bridge Voltage

To reset the bridge voltage to 100% press Right Arrow Key \blacktriangleright until the cursor reaches the field bridge value. Press Up Arrow Key \blacktriangle once. The display shows **Reset bridge voltage? Confirm by Cursor**. Press the Up Arrow Key \blacktriangle again and 100% are shown in the display.

Press Right Arrow Key \blacktriangleright first and Up Arrow Key \blacktriangle to activate the main menu.

Practical Choice of Solvents

Select the best suited solvent with the following criteria:

1. Good solubility of the sample.
2. No chemical interactions between sample and solvent.
3. Vapor pressure of sample is one tenth of vapor pressure of solvent or less.

Please find below influences of the solvent for your measurement:

4. The actual vapor pressure depression is related to the solvent used.
5. Especially with a large molecular mass, the sensitivity of the measurement is reduced because the number of moles in a solution compared to the mass becomes very small. Either high concentrated solutions have to be measured or very low particle concentrations must be accepted.
6. The solvent requires a good thermal stability in the selected temperature range.
7. The temperature difference between the measuring temperature and the boiling point of the solvent must be at least 15 °C.

Recommended measuring temperatures are listed in Table 4 "Some properties of most frequently used solvents for vapor pressure osmometry" on page 13.

Table 4 *Some properties of most frequently used solvents for vapor pressure osmometry*

Solvent	Boiling Point °C	Measurement Range °C	Minimum Concentration mol/kg
Acetone	56.2	37 - 45	0.005
Acetonitrile	81.6	37 - 60	0.010
Benzene	80.2	25 - 60	0.001
Bromobenzene	156.2	60 - 130	0.005
Bromoform	149.5	37 - 90	0.003
Butyl Acetate	126.1	45 - 90	0.005
Carbon Disulfide	46.3	25 - 37	0.001
Carbon Tetrachloride	76.6	25 - 45	0.001
Chlorobenzene	131.7	60 - 90	0.005
Chloroform	61.2	25 - 45	0.003
Cyclohexane	80.8	37 - 60	0.005
Dichlorobenzene	179.5	90 - 130	0.005
Diethyl Ether	34.6*)	25 - 30	0.005
N,N-Dimethyl Formamide	155	90 - 120	0.005
Dimethyl Sulfoxide	100(d)	60 - 90	0.005
Dioxane	101	60	0.005
Ethanol	78.3	45 - 60	0.002
Ethyl Acetate	77.1	37 - 60	0.002
Ethyl Bromide	38.3	25	0.005
Ethylene Bromide	131.6	60 - 90	0.005
Ethylene Chloride	83.6	25 - 60	0.003
Formic Acid	100.5	37 - 60	0.005
Furane	32*)	25	0.001
n-Heptane	98.3	37 - 60	0.005
n-Hexane	68.8	37 - 60	0.005
Mesitylene	164.6	90 - 130	0.005
Methanol	64.7	45	0.005
Methyl Bromide	96.5	37 - 60	0.005
Methyl Ethyl Ketone	79.6	37 - 60	0.005
Methyl-iso-Butyl Ketone	116.9	45 - 60	0.005
Methylen Chloride	40.6*)	25	0.003
n-Propanol	97.2	45 - 60	0.002
Pyridine	115.5	60 - 90	0.001
Tertiary Butanol	82.6	45 - 60	0.010
Tetrahydrofurane	65.5	45	0.005
Toluene	110.8	37 - 90	0.001
Trichloro Ethylene	87	37 - 60	0.001
Water	100	37 - 60	0.005
o-Xylene	143	90	0.001

- *) Low boiling solvents may evaporate. We recommend careful establishment of experimental conditions.
 (d) decomposition

Specifications of the required Syringes

Always use syringes which meet all specifications for the K-7000, see Fig. 12 (order number A0433)

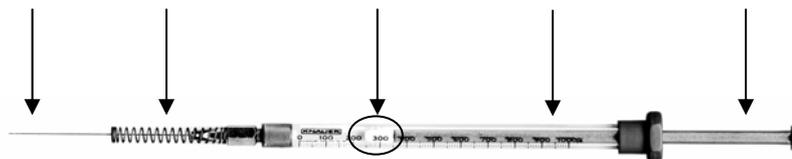


Fig. 12 Appropriate syringe for Vapor Pressure Osmometer K-7000

This type of syringe consists of a glass cylinder, a metal piston with teflon head and a metal needle with a spring.

Performing Measurements

Using the syringes

Fill 2 syringes with pure solvent and place one in the red and the other in the yellow port. It is important to remove any air bubbles from the syringes prior to measurement. If the piston slips down by gravity it is recommended to empty the syringe and to press the teflon head on a plain surface to improve its sealing properties.

You can prepare 4 syringes with sample solutions. To avoid longer times for thermal equilibration, place all syringes in the desired ports as soon as possible. The syringe springs make sure that a defined distance from the thermistors is maintained. It is important that all ports are equipped with syringes, no matter if required for measurement.

To attach a droplet on a thermistor, push the syringe slightly down and thus move the needle towards the thermistor. By slightly pushing the piston downwards, droplets can be attached to the t probes. It is important to produce droplets with identical sizes in this step. Always rinse the thermistor 3 to 5 times with every sample before a final droplet is attached.

Finding the Zero Point

Prior to start a measurement you have to define the zero point of the instrument. Therefore both thermistors have to hold droplets of pure solvent.

1. Attach a droplet of pure solvent to both thermistor probes.
2. Wait for 5 minutes and make sure that a stable baseline is established.
3. Press button AUTOZERO.

Dropping Techniques

You can either exchange the sample droplet only or exchange sample and solvent droplet according to sections „Measuring new solvent and new sample droplets“ below and “Exchanging the sample droplet only” on page 15.

You can choose the desired technique according to your needs. It is important to decide for one of the techniques and constantly apply it. Measurement of new solvent and new sample droplets results in shorter measurement times.

Measuring new solvent and new sample droplets

To determine samples with different concentrations it is recommended to measure the samples in an order of increasing concentrations. To exchange both droplets in every measurement, proceed as follows:

1. Apply the sample droplet — The signal indicates a positive overload, see 1 in Fig. 13.
2. Apply the solvent droplet — The signal indicates a negative overload, see 2 in Fig. 13.
3. A constant measurement value is achieved when the thermal equilibrium is reached and the signal stops to increase, see 3 in Fig. 13.

The pattern of the signal may resemble graphs given in Fig. 13.

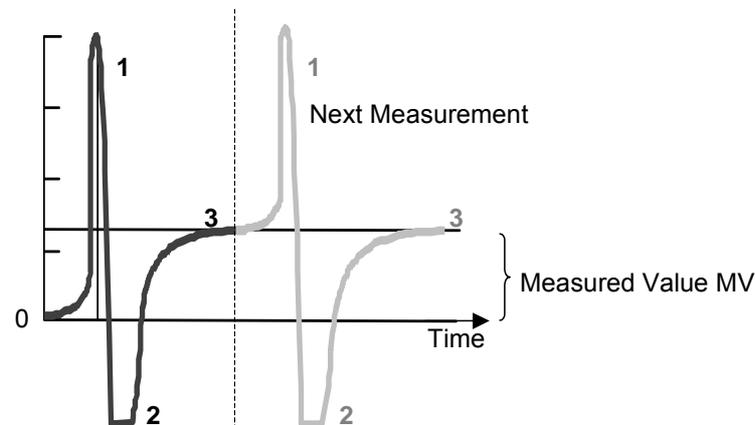


Fig. 13 Schematic Osmogram for a two droplets exchange

Exchanging the sample droplet only

1. Apply a new sample droplet — The signal indicates a positive overload, see 1 in Fig. 14.
2. A constant measurement value will be reached when the signal decreases until thermal equilibrium is reached, see 2 in Fig. 14.

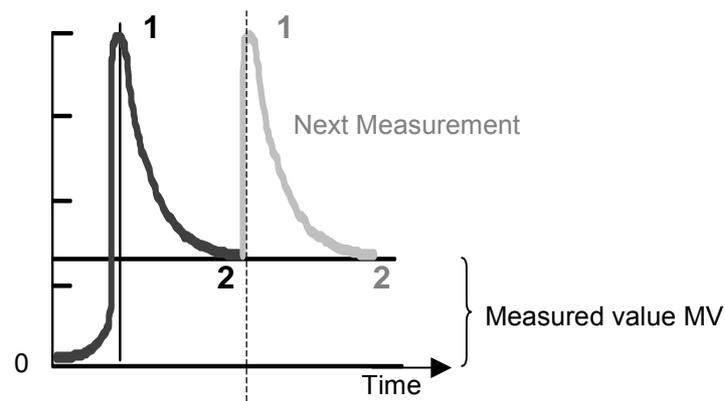


Fig. 14 Schematic Osmogram for a one droplet exchange

Both schematic osmograms shown refer to head temperature setting of + 2°C with respect to the cell according to section "Selecting an appropriate Measurement Temperature" on page 10. With other temperature differences osmograms may differ from the given examples.

Thermistor Adjustment

If you cannot manage to attach droplets to any thermistor probe, proceed as follows.

1. Open the instrument.
2. Readjust the thermistors with careful manual bending until a distance of 0.9 cm is reached, see Fig. 4 on page 7. It is also possible to slightly bend the needle pipes.

Required Stabilization Time

Stabilization time is defined as the time interval required for the vapor pressure stabilization at the selected cell and head temperatures. Stabilization time begins when the preset temperatures are roughly reached and the respective values in the display stop flashing. Table 5 gives an overview of required stabilization times.

Table 5 Stabilization Times as a function of the measurement temperature

Temperature [°C]	Stabilization Time [min]
25	30
40	30
60	60
100	90
130	120

Three Different Measurement Modes

You can operate the Vapor Pressure Osmometer K-7000 in three different measurement modes.

Determination of the Total Osmolality of Physiological Fluids

When determining the total osmolality of physiological fluids, the measurement values are always proportional to the number of osmotically active particles within the measured fluid.

For calibration the K-7000 one solution of a standard with a known osmolality has to be measured. The calibration information is represented by the slope of the regression curve defined by the origin of the graph and the value $\frac{\text{Measured Value}}{\text{Known Osmolality}} \cdot K_{\text{calib}}$ unit is kg/mOsmol.

$$K_{\text{calib}} = \frac{MV}{c}$$

The osmolality of an unknown sample can be calculated with :

$$c \left[\frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}} \right] = \frac{MV}{K_{\text{calib}}}$$

A commonly used standard is an aqueous solution of NaCl with 400 mOsmol/kg. Sets of ampoules are available (Order number Y1241). Anyway, other osmolalities can also be used (see table).

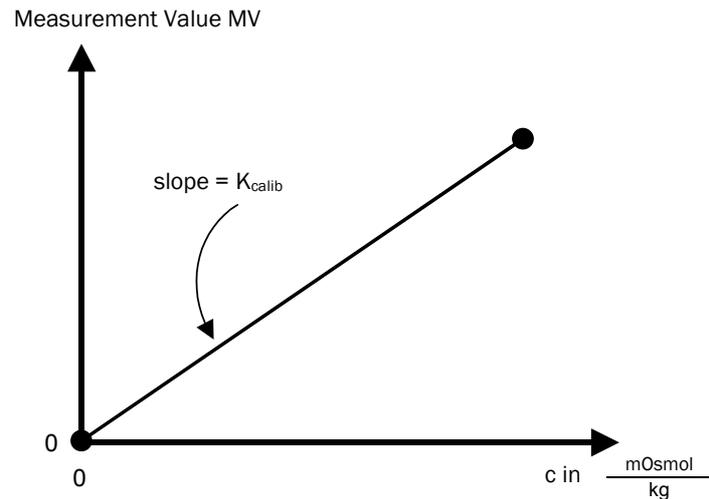


Fig. 15 Calibration Graph

Table 6 Relation between osmolality, freezing point depression and molality

Real Osmolality $\frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}}$	Freezing Point Depression ΔT in $^{\circ}\text{C}$	Concentration $\frac{\text{g NaCl}}{\text{kg H}_2\text{O}}$	Molality $\frac{\text{mmol (Na}^+ + \text{Cl}^-)}{\text{kgH}_2\text{O}}$	$R^*)$
100	0.1858	3.09	105.6	1.06
200	0.3716	6.24	213.3	1.07
300	0.5574	9.45	323.1	1.08
400	0.7432	12.69	433.8	1.08
500	0.9290	15.94	545.0	1.09
600	1.1148	19.18	655.7	1.09
700	1.3006	22.45	767.5	1.10
750	1.395	24.10	823.9	1.10
1200	2.23	38.76	1325.1	1.10
1800	3.35	58.01	1983.2	1.10
2500	4.65	79.97	2734.0	1.09
3000	5.58	95.40	3261.5	1.09

*) R is molality divided by osmolality and thus represents the relative deviation of osmolality from molality

Note that it is extremely important to distinguish between osmolality and molality. In very diluted solutions both concentrations are comparable. But with increasing number of molecules in a solution the formation of aggregates is likely. The vapor pressure osmometer can only measure the real number of free particles, osmotically active particles in a solution (osmolality not molality). If aggregates are formed the osmolality is decreased compared with the molality.



Example: Determination of the total osmolality of a sample

Prepare the instrument as described in sections "Operating your Vapor Pressure Osmometer K-7000" on page 9 and "Selecting an appropriate Measurement Temperature " on page 10. Enter the following values:

Cell Temperature T_C : 60 $^{\circ}\text{C}$
 Head Temperature T_H : 2 $^{\circ}\text{C}$
 Measurement Time: 1.5 min
 Gain: 16

Remember, the temperature is reached after the digits stop flashing, however the equilibration of the vapor pressure needs more time (Table 5 on page 16).

Performing a Calibration with NaCl of 400 mOsmol/kg

1. Open one ampoule (order number Y1241) of NaCl solution 400 mOsmol/kg,
2. Fill up one syringe and transfer it into syringe port 1. It is recommended to dispose the remaining residue of the ampoule. Use it only immediately after the ampoule is opened.
3. Fill your sample solution into another syringe and transfer it into port 2.
4. Fill distilled water into two further syringes and place them in the yellow and red ports, respectively.
5. Insert empty syringes into the remaining ports 3 and 4 to maintain temperature consistency.
6. Make sure that prior to the first measurement the stabilization time, see Table 5 Stabilization Times as a function of the measurement temperature, on page 16, is considered.
7. Solvent drops are attached to either thermistors. After the baseline is on a constant level the button Autozero is pressed. The measurement value shown in the display will turn to zero after 20 – 30 seconds. The osmometer is ready for measurement.
8. Rinse the left hand thermistor with 3 – 5 droplets of the standard solution, the last drop should remain at the end. It is important to apply droplets of an equal size.
9. Press the button START immediately after the droplet is attached.

The measurement signal shows **OVL** which means that the very sensitive thermistor realizes a temperature change. After 20 – 30 seconds the signal is back in the range and approaches a constant value. After 1.5 min the display shows the measured value in the **HOLD** position.

This standard has to be measured at least 3 times. The standard deviation should not exceed 0.5%.



Example: Evaluation of calibration data

You may find data from your calibration that can be evaluated according the following example:

Table 7 *Example of Calibration Data*

Number of injection	c in $\frac{\text{mOsmol}}{\text{Kg}}$	Measurement Value
1	400	43.37
2	400	43.51
3	400	43.47
4	400	43.61
5	400	43.54
Mean		43.50
Standard Deviation		0.09%
$K_{\text{calib}} = 0.1088$		$\frac{\text{kg}}{\text{mOsmol}}$

Evaluating Measurement Data

Rinse the left hand thermistor with 3 – 5 droplets of distilled water. The last droplet should remain at the end of the thermistor. Check the zero level.

Now measure your sample at least 3 times as described above.

Table 8 Example of Measurement Data and Evaluation based on calibration

Number of injection	Measurement value
1	34.43
2	34.61
3	34.50
	Mean 34.51
	Standard Deviation 0.03%
Total osmolality of the sample :	
	$34.51 \frac{\text{mOsmol}^*)}{0.1088 \text{ Kg}} = 317 \frac{\text{kg}}{\text{mOsmol}}$

*) Taken from calibration, see Table 7

Molecular Mass Determination for $M < 500 \text{ g/mol}$

The number of particles or moles of a substance dissolved in a solution influences the measurement value in osmometry. The molecular mass can be determined if the sample concentrations are known. This is only valid for diluted solutions.

The basic relation for molecular mass determination equals:

$$\frac{n \text{ Sample}}{m \text{ Solvent}} = \frac{m \text{ Sample}}{m \text{ Solvent} * M \text{ Sample}}$$

with

- n = Number of sample molecules
- m = Mass of sample and solvent respectively
- M = Molecular mass of the sample:

For a molecular mass less then 500 g/mol the measurement value is proportional to the number of moles. This is very similar to the osmolality determination.

A sample is measured where concentration and molecular mass are known (c in mol/kg). The slope of the graph 0/0 and measurement value/concentration is K_{calib} with kg/mol.

$$K_{\text{calib}} = \frac{MV}{c}$$

The unknown molecular mass of a sample can be determined with a known concentration of the unknown substance given as c with g/kg. The slope of the regression curve passing the origin of the graph and the measured value K_{meas} with kg/g. The molecular mass of the unknown sample is determined with:

$$M \left[\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] = \frac{K_{\text{calib}}}{K_{\text{Meas}}}$$

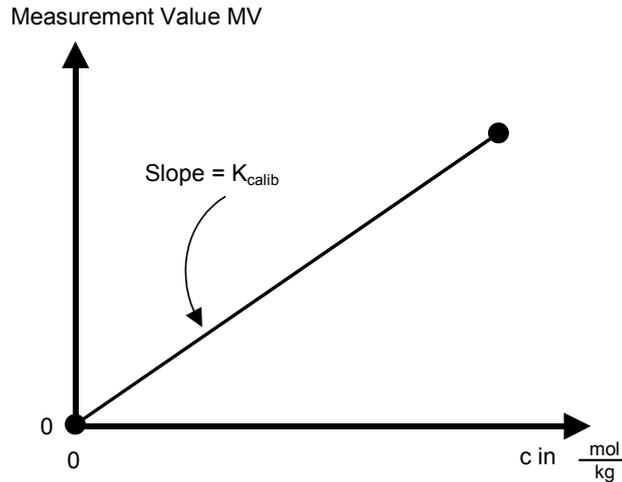


Fig. 16 Calibration Graph



Example: Calibration and Determination of Molecular Mass

The calibration is performed out with benzil. An example for calibration data is given in Table 9. Table 10 contains example data for real measurements and for the calculation of the molecular mass using calibration and measurement data.

Table 9 Calibration with Benzil

Number of injection	c in $\frac{\text{mol}}{\text{Kg}}$	Measurement value
1	0.042	22.35
2	0.042	22.19
3	0.042	22.24
Mean		22.26
Standard Deviation		0.04%
		$K_{\text{calib}} = 530 \frac{\text{kg}}{\text{mol}}$

Table 10 Sample Measurement

Number of injection	c in $\frac{\text{g}}{\text{Kg}}$	Measurement value
1	18.45	31.41
2	18.45	31.52
3	18.45	31.45
Mean		31.46
Standard Deviation		0.02%
		$K_{\text{Meas}} = 1.71 \frac{\text{kg}}{\text{g}}$
Molecular Mass:		$M = \frac{530}{1.71} = 309.9 \text{ g/mol}$

Molecular Mass Determination for $M > 500$ g/mol

For larger molecules the relation between measurement value and concentration is not linear anymore. Therefore, the molecular mass has to be determined as follows:

Calibration

1. Select a standard with a molecular mass in the range of the expected ones of your samples.
2. Prepare 3 – 5 different concentrations
3. Measure these standards.
4. Determine the quotients of measured values and the corresponding concentrations and plot these data vs concentration (c with mol/kg).
5. Determine the regression curve and extrapolate to concentration $c = 0$ for K_{calib} in, see below...

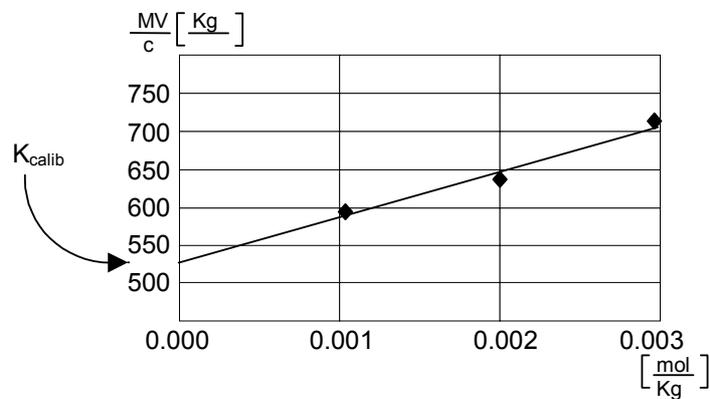


Fig. 17 Calibration Graph for $M \geq 500$ g/mol — Example Data

Measurement:

1. Prepare 3-5 concentrations of each sample
2. Measure these samples.
3. Plot measurement value/concentration vs concentration c .
4. Find the regression curve and extrapolate to concentration $c = 0$ for K_{meas} determination in kg/g is determined, see below.

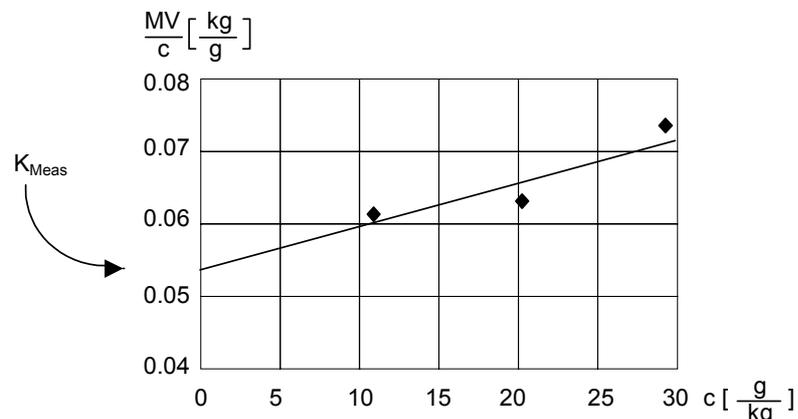


Fig. 18 Measurement Graph for $M > 500$ g/mol — Example Data

The molecular mass can be determined with

$$M \left[\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] = \frac{K_{\text{calib}}}{K_{\text{Meas}}}$$



Determination of the average molecular mass of a Polystyrene

Table 11 Calibration with PS 10100

Number of injection	c in $\frac{\text{mol}}{\text{kg}}$	Measurement Value MV	$\frac{MV}{c}$ in $\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$
1	0.001	0.593	593
2	0.002	1,28	640
3	0.003	2.13	710

Extrapolation to c = 0 gives: $K_{\text{calib}} = 527.6 \text{ kg/mol}$

Table 12 Measurement of an unknown polystyrene sample

Number of injection	c in $\frac{\text{g}}{\text{kg}}$	Measurement Value MV	$\frac{MV}{c}$ in $\frac{\text{kg}}{\text{g}}$
1	11.50	0.71	0.0617
2	20.12	1.25	0.0621
3	28.79	2.07	0.0719

Extrapolation to c = 0 gives: $K_{\text{Meas}} = 0.054 \text{ kg/g}$

Molecular mass of the sample:

$$M = \frac{527.6}{0.054} = 9770 \text{ g/mol}$$

Operating the K-7000 with EuroOsmo® 7000 Software

The full capabilities of the K-7000 vapor pressure osmometer are accessed under operation with the EuroOsmo® 7000 software for Windows, version 1.2 or higher.



The License Agreement on page 69 should be read before using the EuroOsmo®7000 software! Using the software, the user indicates that he has read the License Agreement and agrees with the regulations.

This chapter will explain the basic knowledge needed for working with K-7000 and the EuroOsmo® 7000 software.

Hardware Requirements and Installation of the EuroOsmo® 7000 Software

CPU	Pentium 130 MHz	
Memory (Minimum requirements)		
	Windows NT 4.0	Windows 95
O/S	32 MB Service Pack 3 (or later) (The Service Packs must have the same language as the O/S!)	16 MB Service Pack 1
Disk	20 MB free disk space	

Before installation make sure you have the appropriate version of the Operating System. If not, you must install the corresponding Service Pack.

Installation of the EuroOsmo® 7000 software from a CD ROM

1. Insert CD into your CD drive
2. Wait up to 30 seconds. The set-up starts automatically
3. If your CD ROM drive does not have AutoPlay:
 - Double-click on „My Computer“
 - Right-mouse click on your CD ROM
 - Select AutoPlay from the right-click menu
 - If there is no AutoPlay menu, select Explore from the right-click menu, go to „EuroOsmo 7000/Disk1“ and double-click on „Setup.exe“
4. Follow the installation guide.

Installation of the EuroOsmo® 7000 software from a floppy disk

1. Insert the Disk #1 into your drive
2. Double-click on „My Computer“
3. Double-click on „3.5 Floppy (A:)“
4. Double-click on „Setup.exe“
5. Follow the installation guide.

Hardware installation

The K-7000 vapor pressure osmometer has to be connected with a defined port of the computer (com 2 for instance) prior to starting the program.

Explanation of the main screen

After starting the program by a double-click on the corresponding icon or with START / PROGRAMM / EUROOSMO you will get a screen similar to Fig. 19.

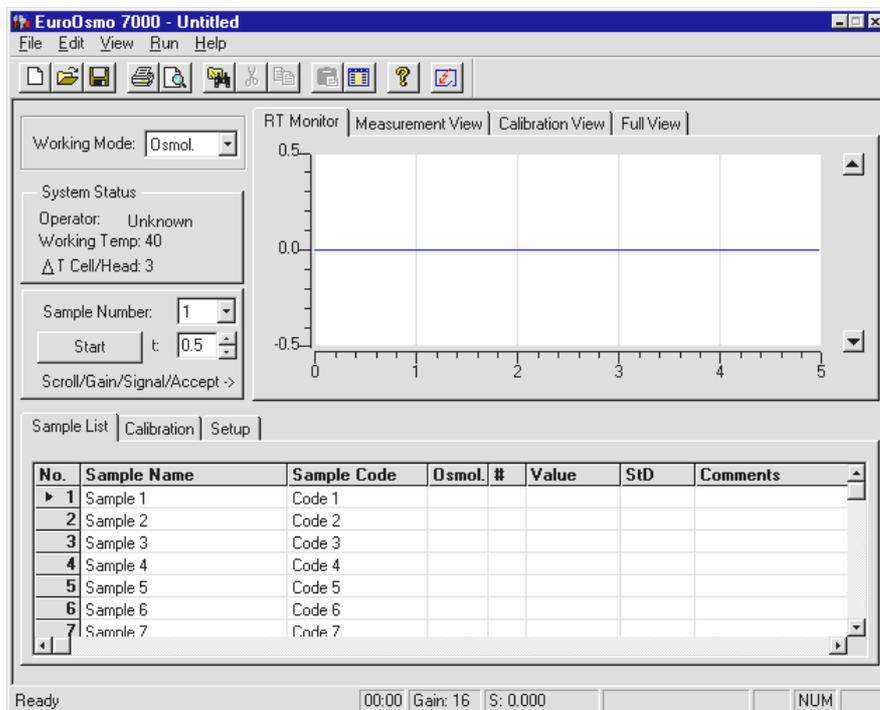


Fig. 19 Opening screen of the EuroOsmo® 7000 software

Table 13 Description Screen Elements

Menu line	File Edit View Run Help
File	Menu for opening, saving, and printing of data files or previews (measurement or calibration)
Edit	Menu for editing file changes and search performing
View	Menu to show or to hide status bar and toolbar
Run	Remote start and fixed gain can be set and Autozero can be performed
Help	The Version of the EuroOsmo® is shown
Toolbar	
	Most of the icons are usual windows features and do not need further explanation Paste the data of a selected (first) field into following lines of the chosen column
	perform an Autozero
Working mode	Select the type of measurement
Osmol	Determination of the total osmolality of physiological fluids
MW < 500	Determination of molecular mass up to 500 g/mol
MW > 500	Determination of molecular mass exceeding 500 g/mol

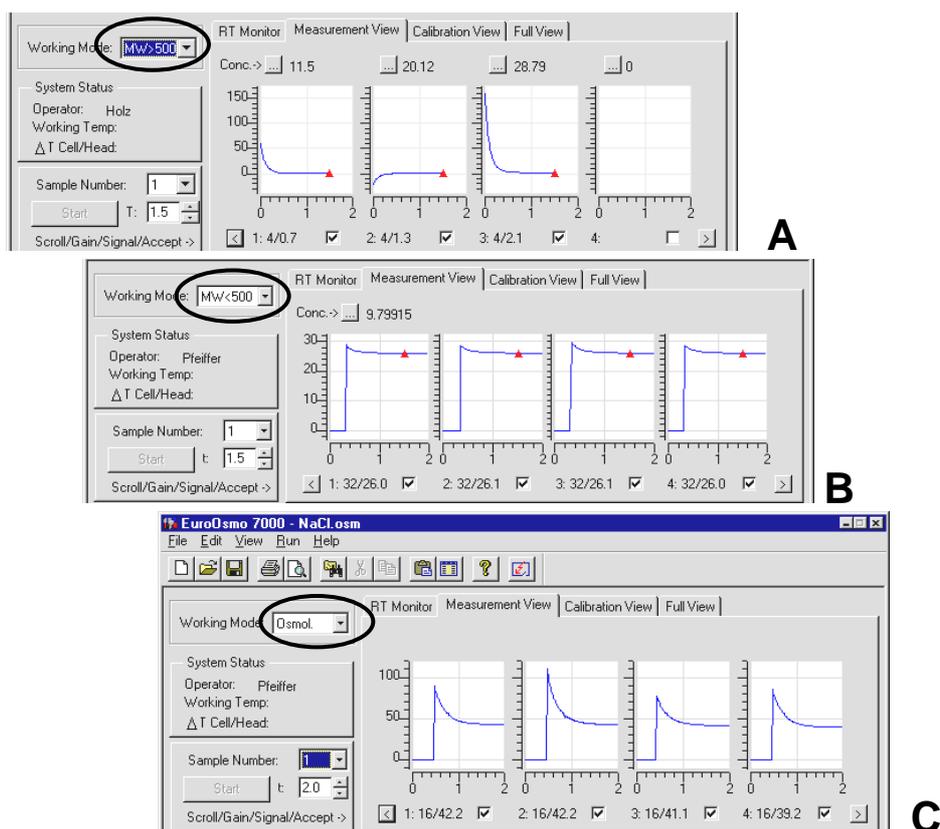


Fig. 20 Upper monitor part (measurement view) depending on the operation mode

Table 14 Description Status Field

System Status:	The data are taken from the setup (below). The temperature values are blinking, as long as the actual values differ from the settings.
Sample Number:	Selected measurement series according to the Sample List Table (see below). All the graphic windows will be updated corresponding to the selected sample. A double click on a sample list row is in the same manner effective.
Start:	Button to start a measurement or calibration run
t:	time after which the measurement value is acquired and the results are calculated
Scroll/ ... / ... / ...	Refers to the monitoring part on the right-hand side in either the measurement or calibration view. Use the < and > buttons to scroll.

You have the choice between four different view options in the upper right part of the screen:

1. RT Monitor (real time monitor)
2. Measurement View
3. Calibration View
4. Full View

The RT monitor serves to check the base line. The gain here can be changed by using the or buttons. The RT monitor is self-scaling. The scaling is based on the maximum signal within the actual time window.

The measurement view and the calibration view do not differ from each other. Both of them show four of up to 20 possible runs of a sample monitored.

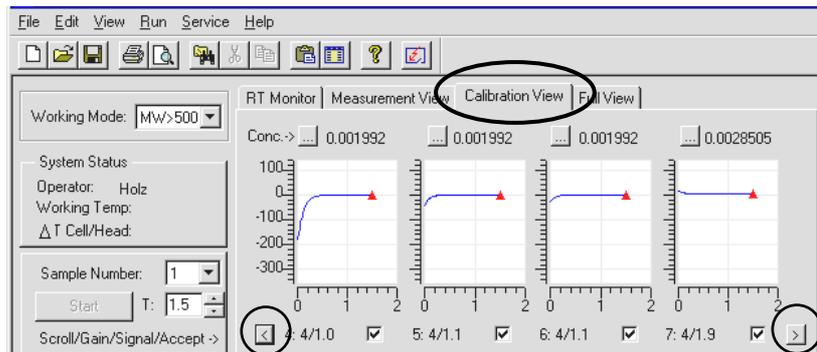


Fig. 21 Monitoring of calibration runs

Please use the < and > buttons to scroll the runs. The control fields below each of the curves can be used to accept or reject single runs. The gain and signal values and as far as for the measurement mode necessary the concentrations are also given and scrolled in this view (compare also Fig. 20 on page 25). Only in case of determination of molecular masses below 500 g/mol (B), the measurement and calibration views differ from each other. Its calibration view looks like the measurement view of osmolality mode (A). The time of the measurement value acquisition is marked by a red triangle. Any measurement or calibration curve will be enlarged in the full view up to this triangle by a double click on the corresponding curve window. In the upper right corner you it is indicated, which curve is selected. It is the calibration curve no. 2 in the shown example marked by a C. A leading letter M indicates measurement curves.



Fig. 22 Full view example of a calibration curve

For any of these four views the graph settings can be changed, if the Setup is selected in the lower part of the screen. On the right hand side you can select appropriate colors for the background, the axis, and the curves as well. Also you can hide or show the grid by clicking the control field, see Fig. 23.

Software set up for the measurement

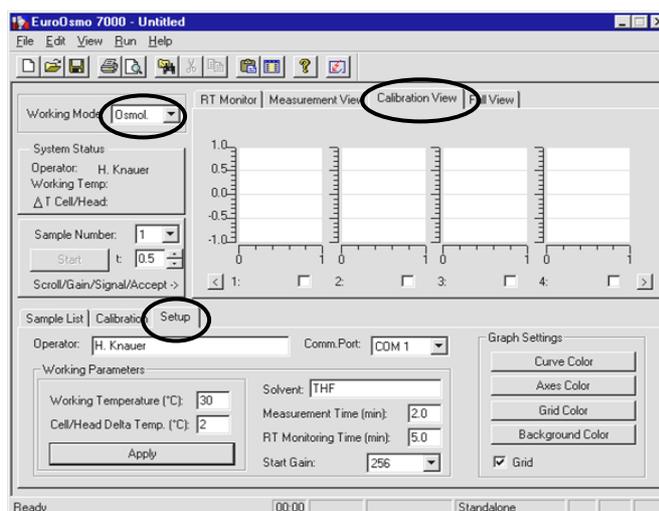


Fig. 23 Setup screen

First of all you have to determine the communication port for the connection to your K-7000. This is only necessary when you start your osmometer K-7000 with EuroOsmo® for the first time. If you intend to change the port for any reason, this change becomes effective only by restarting the EuroOsmo® software. Then you have to select the working temperature (20-130°C), the temperature difference between cell and head thermostat (0-6°C), the measurement time, and the RT monitoring time.

The measurement time sets the time window for plotting the graph. It is not identical with timer value *t*, determining the time period after which the measurement value is acquired. The measurement time has to be larger than this timer value. Consequently the RT monitoring time should be larger than the measurement time.

Further settings are the used solvent, the operator's name, and last not least the start gain. During the measurement the software selects automatically the optimum gain depending on the signal height. Otherwise a fixed gain can be set in the RUN menu. The gain is relevant for the curve plots. The measurements are performed with the maximum gain.

All the settings in this field will become effective to the selected measurement mode by clicking the **Apply** button.

Both the other possibilities of the lower screen part (**Calibration** and **Sample List**) will be explained in detail with the description of the measurement performance in the three different modes.

Performing measurements

For the following sections please compare with the corresponding chapters where the measurements without EuroOsmo® software are described. Here only the changes are described, due to the use of the software package. Common characteristics of K-7000 as for instance the required warm up time or the technique of droplet exchange will not be mentioned here. Before starting **any** measurement or calibration, you have to determine the zero point by performing an AUTOZERO. This is independent on the kind of measurement. For this purpose proceed as described in the section "Finding the Zero Point" on page 14 and click on the  button instead of pressing the AUTOZERO button at the K-7000.

Determination of the total osmolality

Calibration

Choose the working mode Osmol and carry out the set up as described above. Select the calibration view in the upper right part of the screen as well as calibration in the bottom part. Enter the name of the calibration substance and the osmolality of your standard solution.

After exchanging the solvent droplet on the sample thermistor (left) by a solution droplet click immediately on the **Start Calibration** button on the right hand side of the lower calibration window. The measurement will be automatically stopped when the selected time **t** has passed. The applied gain and the measured value are listed below the osmogram (e.g. 5: 4/1.1).

The value of K_{calib} is calculated and shown. It is recommended to carry out at least 3 measurements to receive reliable values. In case that any of the calibration runs will fail you can omit this run by erasing the accept tick 4 in the corresponding control field.

Measurement

Switch to the Measurement View and Sample List. Sample number "1" is automatically selected. To confirm the calibration it is recommended to measure the NaCl standard solution as a sample again. After the droplet is attached to the sample thermistor (left) please start the measurement immediately by clicking the **Start** button in the central window on the left side of the screen. The measurement will be finished after the selected time period has expired. The osmolality of the sample will be automatically calculated and listed in the sample table.

You can measure each sample up to 20 times. All values of this sample are calculated to one mean value of osmolality. Again, if any run has failed – e.g. the droplet may be fallen down from the thermistor – you can omit this value simply by erasing the accept tick 4 in the corresponding control field. The value in the sample list represents the mean value of all accepted runs. The #-field indicates the quantity of the accepted runs.

Determination of molecular mass <500

Select the working mode **MW<500** and perform the set up and the AUTOZERO as described above.

Calibration

Select the calibration view in the upper right part of the screen as well as calibration in the bottom part.

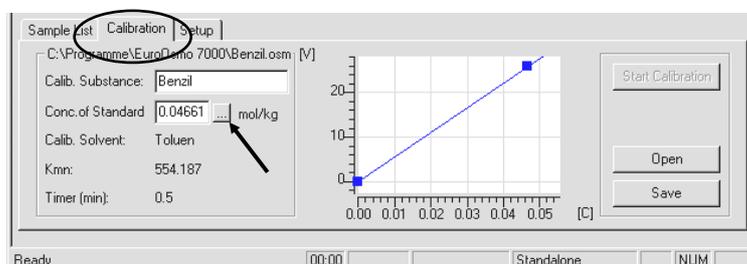
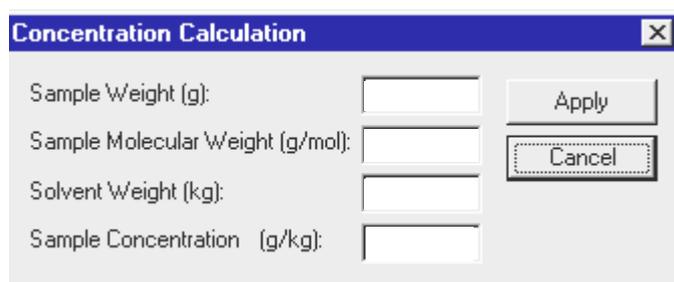


Fig. 24 Calibration field for determination of molecular masses <500

Enter the calibration substance and the concentration of your standard. The concentration can be entered directly in mol/kg, or by clicking on the button (arrow marked in Fig. 24) an additional window for concentration calculation will emerge. With this second option the mass of the standard, its molecular

mass and the mass of the solvent can be entered and the concentration will be calculated automatically.



The image shows a dialog box titled "Concentration Calculation" with a close button (X) in the top right corner. It contains four input fields: "Sample Weight (g)", "Sample Molecular Weight (g/mol)", "Solvent Weight (kg)", and "Sample Concentration (g/kg)". To the right of these fields are two buttons: "Apply" and "Cancel".

Fig. 25 Concentration calculation window

For further proceeding the calibration continue as in the osmolality mode. It is strongly recommended to carry out at least 3 measurements to receive reliable values. Furthermore we advise to perform a test run with the calibration solution as a sample.

Measurement

The measurement runs are carried out in the same way as for the determination of the osmolality. The only difference is to enter the concentration of your sample solution. Click on the button on top of the measurement view Fig. 26 to open the concentration calculation window similar to that in Fig. 25. In this window, there is no access to the molecular mass field.

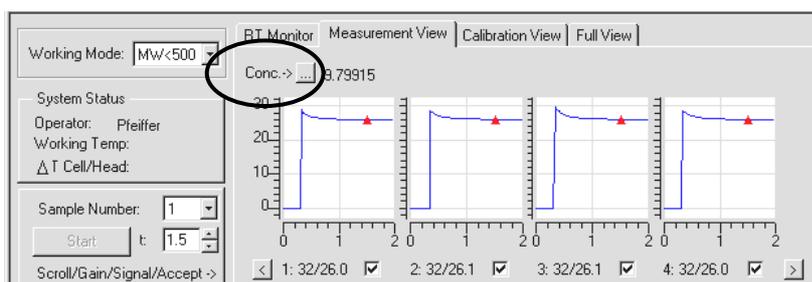


Fig. 26 Measurement view for determination of molecular masses <500

The measurement results will be monitored again in the sample list. The shown values represent the mean molecular masses and the #-field indicates the number of accepted runs.

Determination of molecular mass >500

Select the measurement mode **MW>500** and perform the set up and the AUTOZERO as described above.

Calibration

Select the calibration view in the upper right part of the screen as well as calibration in the bottom part. Enter the calibration substance in the bottom part of the screen. The individual concentrations of your standard solutions must be entered for every single run above the corresponding osmogram windows. For this purpose open the concentration calculation windows for each run you are going to perform.

After finishing the second calibration run, a curve similar to Fig. 17 on page 21 will be shown in the calibration view at the bottom of the screen, see Fig 27.

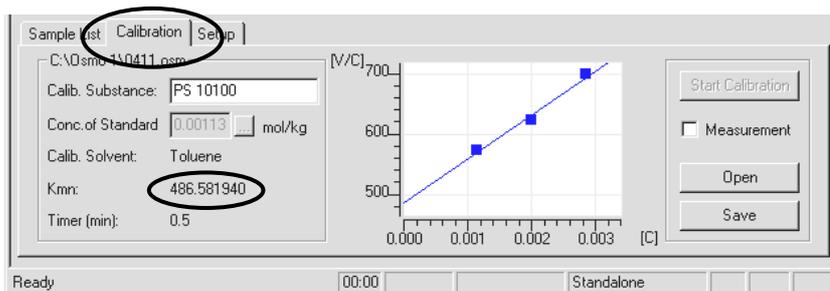


Fig. 27 *Extrapolation curve of measured calibration values*

This curve will be completed with every new or additional calibration run. If you run a given concentration twice or more, the software automatically calculates the mean value of these runs and determines K_{calib} by extrapolation of the graph $MV/c = f(c)$ towards $c \rightarrow 0$.

Measurement

For the measurement proceed in a similar way. Again the concentration must be entered separately for all runs. As soon as at least two runs are carried out a curve similar to Fig. 18 on page 21 will emerge in the calibration view at the bottom of the screen. You can swap between the calibration graph (Fig. 27) and the measurement graph by clicking on the measurement control field.

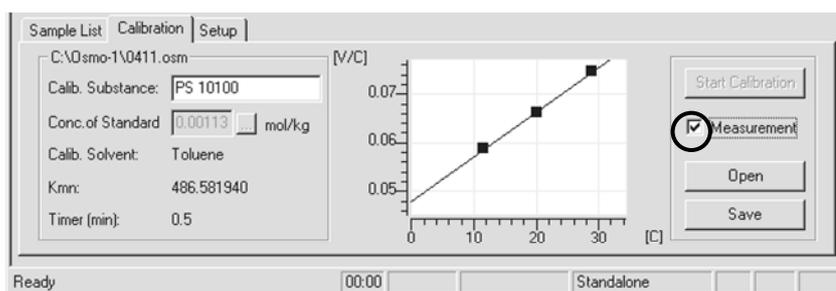


Fig. 28 *Extrapolation curve of measured values*

For each sample from the sample list you can perform up to 20 runs at up to five different concentrations. The software automatically calculates the mean values for each measured concentration and extrapolates the K_{meas} similar to K_{calib} . The calculated molecular mass is also indicated in the sample list.

Data saving

All data achieved by the EuroOsmo® software can be saved in sample or method files. Any of these files include the data of

1. method set up
2. calibration
3. measurement
4. evaluation

The files are characterized by the extension **.osm**. The files will be opened and closed in the convenient manner by using the window's icons of the toolbar.

At any time only one of these files can be opened. Therefore, if you are going to open a given file you always will be asked for saving the already opened (untitled) one. Consequently you also will be asked for saving the changes in file when you close the EuroOsmo® program.

For a multiple use of calibration data these can be saved in separate calibration files with the extensions

- .cls** osmolality;
- .cli** molecular masses < 500
- .clg** molecular masses > 500.

These files are opened and saved by using the respective buttons on the bottom part of the screen after selecting the calibration table.

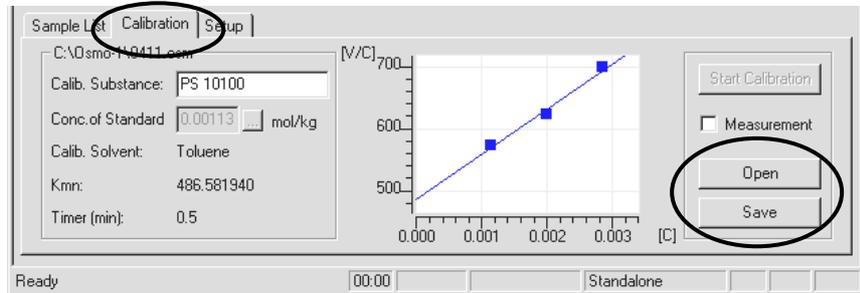


Fig. 29 Opening and saving of calibration files

Trouble Shooting Tips

Problem	Probable Cause and Advice
The instrument is not working	Check the correct positioning of the electrical connector at the cell cover.
The Instrument remains after conditioning in overflow	The set temperature is too low. It should be at least 5° above room temperature.
Needles of the syringes always pass the thermistors	Thermistors need to be readjusted. The distance between both probes should be 0.9 cm. You can also adjust the directional pipes for the needles.
Drops always fall down and cannot be permanently attached to the thermistor	Rinse the thermistors with acetone followed by a surface active reagent and water.
Zero line not adjustable	Defective thermistors, please press the test button (proceed as in Operating your Vapor Pressure Osmometer K-7000 on page 9)
Baseline drift	Temperature equilibrium not yet reached, wait some time before continuing
Syringes bleed	Remove the piston and press it with the teflon end on a table to reset the seal to the glass cylinder
Measurement values are not reproducible	Temperature equilibrium not yet reached, wait some time before continuing
No constant measurement value	Droplet size is not consistent, the smaller the droplet the larger the measurement value.
	Equilibration time too long, use a higher temperature or a different solvent
Measured Value: Increase followed by an immediate decrease	Volatile sample, cannot be measured
Measurement graphs have different shape	Decomposition of the solvent, please exchange
Measurement graphs have different shape	Dropping technique is not consistent

Spare Parts & Accessories

Table 15 List of Standard Supplies (included in Package A3701)

A3703	Universal Thermistor Probe (20 – 130 °C)
A0807	Glass Beaker with Glass Cylinder
A0429	Package with 10 Vapor Wicks
6x A0433	Syringe with Teflon/Steel Piston
Y1277	Cleaning Solution
Y1026	10 g Benzil
	Recorder Cable
	Power Cable (110 V or 220 V)
V7109	Operation Manual

Table 16 List of additional accessories

A0428	Syringe with Glass Piston
A0430	Package with 12 Needles and 12 springs
Y1241	Package with 10 Ampoules NaCl Calibration Solution c=400 mOsmol/kg
A3702	EuroOsmo [®] 7000 Software Package for Windows 95 / 98 / NT, (RS232 cable included)

Data Sheet of the Vapor Pressure Osmometer K-7000

Features	Determination of the average molecular mass of polymers in aqueous and organic solutions Determination of the total osmolality of physiological fluids External Data Evaluation with EuroOsmo 7000 Software Package
Molecular Mass Range	Aqueous: $\leq 10,000$ g/mol Organic: 40 – 40,000 g/mol
Concentration range	0.001 – 15 molal
Lower Detection Limit	3.3×10^{-5} mol/kg in toluene 1.7×10^{-4} mol/kg in water
Temperature Consistency	$\pm 1 \times 10^{-3}$ °C
Cell Temperature Range	20 – 130 °C
□T Head Thermostat	max. 6 °C
Warm Up Times	□ 40 °C: 0.5 h □ 60 °C: 1.0 h □ 100 °C: 1.5 h □ 130 °C: 2.0 h
Syringes	1 ml. glass cylinder with teflon-headed steel piston
Min. Cell Solvent Volume	20 ml
Gain	1 – 256
Voltage Range	85 – 264 V / 47 – 440 Hz. 60 VA
PC Connection	RS 232
Recorder Output	1 V
Dimensions	160 x 182 x 340 mm
Weight	5.4 kg

We reserve the right to make technical changes for instrument improvement. Minor changes will be self-explanatory. Improvements affecting use or maintenance will be described in supplementary pages to this manual.

Design & Messprinzip

Das Dampfdruckosmometer K-7000 wurde für die exakte Messung der Totalosmolalität physiologischer Flüssigkeiten sowie für die Bestimmung der mittleren Molmassen von Polymeren in organischen oder wässrigen Lösungen entwickelt.

Zwei Thermistoren sind Teil einer Wheatstonschen Brücke. Sie ermöglicht die Messung von Differenzspannungen zwischen den Thermistoren, die auf Temperaturunterschiede zurückzuführen sind. Die Thermistoren befinden sich in einer mit Lösungsmitteldampf gesättigten Zelle. Die Zelltemperatur wird elektronisch geregelt und mit einer Genauigkeit von $\pm 1 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$ konstant gehalten. Je ein Tropfen des gleichen reinen Lösungsmittels an beiden Thermistoren bei gleicher Temperatur liefert den Gleichgewichtszustand des Messsystems.

Der Dampfdruck jeder Lösung, die irgend welche gelösten Bestandteile enthält, ist niedriger als der des reinen Lösungsmittels. Folglich führt der Austausch eines der Lösungsmitteltropfen durch einen Proben tropfen zu einer Differenz des Dampfdruckes zwischen den Tropfen. Diese Differenz wird nun folgendermaßen kompensiert: Etwas Lösungsmitteldampf aus der gesättigten Gasphase kondensiert auf dem Proben tropfen bis die Dampfdrücke ausgeglichen sind. Der ansteigende Dampfdruck des Lösungstropfens führt zu einem Temperaturanstieg. Sobald das Gleichgewicht erreicht ist, wird ein konstanter Messwert erhalten.

Diese Temperaturdifferenz ΔT zwischen den Thermistoren ist immer proportional zur Partikelanzahl oder Anzahl der gelösten Moleküle. So können also entweder die Konzentrationen oder die mittleren Molmassen bestimmt werden. Für das letztere ist allerdings die Kenntnis der Konzentration Voraussetzung.

Der Thermostat besteht aus einem als Anode geschalteten Aluminiumblock, in dem sich die Messzelle befindet. Sie ist mit zwei Thermistoren ausgestattet, die in einen Glasbecher ragen. Die Arbeitstemperatur kann im Bereich von 20 bis 130°C frei gewählt werden. Die Zelle ist mit einem runden Deckel mit Teflondichtung abgeschlossen.

Der Osmometerkopf ist mit 6 gerichteten Kanälen ausgestattet. In diese werden die Spritzen eingeführt, um die Proben tropfen an den Thermistoren zu plazieren. Die Kanülen der Spritzen sind mit Federn versehen. Die Spritzen werden durch vorsichtigen Druck in die einzelnen Kanäle eingeführt. Ein direkter Kontakt mit den Thermistoren sollte vermieden werden. Die Spritzenports für die Lösungen sind von 1 bis 4 nummeriert. Die beiden nicht nummerierten sondern rot und gelb gekennzeichneten Ports sind vorgesehen, um Tropfen des reinen Lösungsmittels an die Thermistoren zu bringen.

Die Probenports sind auf den linken Thermistor ausgerichtet. Der Osmometerkopf wird ebenfalls thermostatisiert. Zur Vorwärmung der Spritzen wird empfohlen, die Temperatur des Osmometerkopfes 2°C höher als die der Messzelle einzustellen. Dieser Erfahrungswert sichert eine ausgezeichnete Abschirmung gegen Außentemperaturschwankungen und einen minimierten Einfluss kalter Spritzen auf die Messzellentemperatur.

Vorbereitung des K-7000 für die Messung

Frontansicht des Gerätes

Sie können die Funktionselemente an der Gerätefront mithilfe der Abb. 1 zuordnen.

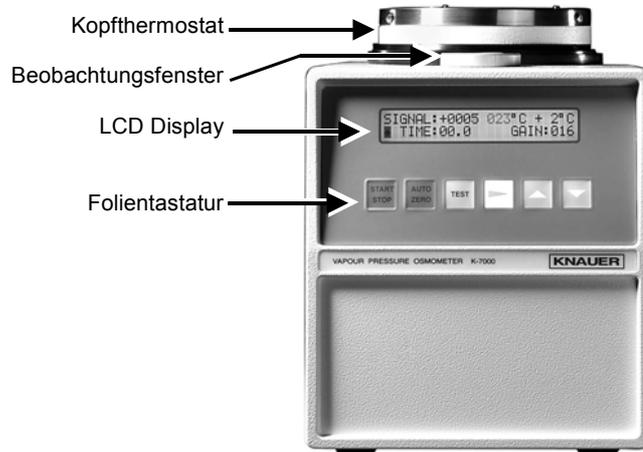


Abb. 1 Frontansicht des Dampfdruckosmometers K-7000

Elektrische Anschlüsse und Rückansicht

Das Knauer Dampfdruckosmometer K-7000 kann von 85 – 264 V, 47 – 440 Hz, also in einem weiten Bereich der Eingangsspannung genutzt werden. Die träge Schmelzsicherung befindet sich unterhalb des Sockels für den Netzanschluss. Zur Gewährleistung einer problemfreien Arbeit des Gerätes verbinden Sie es bitte ausschließlich mit einem dreiadrigen Netzkabel mit einer geerdeten Steckdose.

Rückfrontelemente

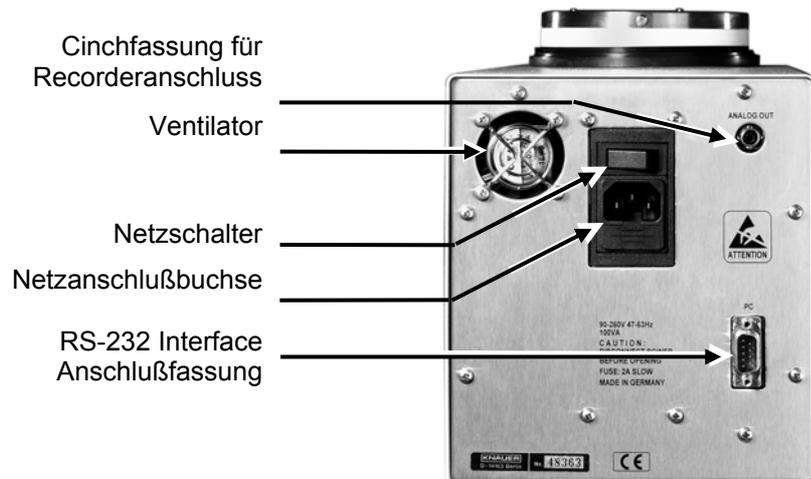


Abb. 2 Rückansicht des Dampfdruckosmometers K-7000

Gerätedraufsicht

Die folgenden Funktionselemente befinden sich auf der Geräteoberseite, vergl. Tabelle 1 und Abb. 3.

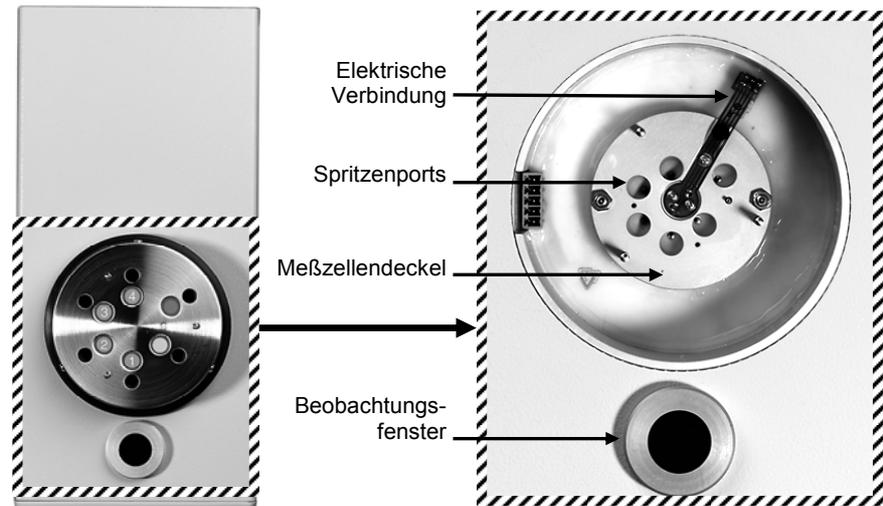


Abb. 3 Draufsicht des K-7000 (links) und Draufsicht bei entferntem Kopfthermostaten

Tabelle 1 Funktionselemente auf der Geräteoberseite

Beobachtungsfenster	Das Fenster auf der Geräteoberseite ermöglicht eine Beobachtung der Thermistoren und eine Kontrolle der Tropfengröße. Die Tropfen sollten gleiche Größe haben. Die Zelle ist beleuchtet und ist über einen Spiegel durch das Fenster zu betrachten
Spritzenports	
Position rot	Reines Lösungsmittel zur Spülung des rechten (Referenz) Thermistors
Position gelb	Reines Lösungsmittel zur Spülung des linken (Proben) Thermistors
Position 1-4	Für bis zu 4 verschiedene Probelösungen

Die Zuordnung der Messzelleneinzelteile können Sie in der Abb. 4 sehen.

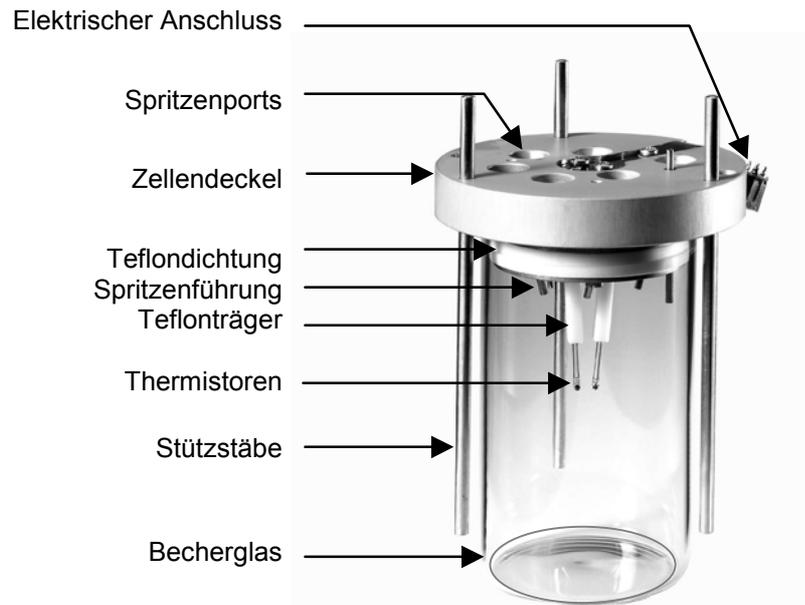


Abb. 4 Ansicht und Einzelteile der Meßzelle

Die Abb. 5 gibt einen Überblick über die Platzierung der Messzelle im Gerät.

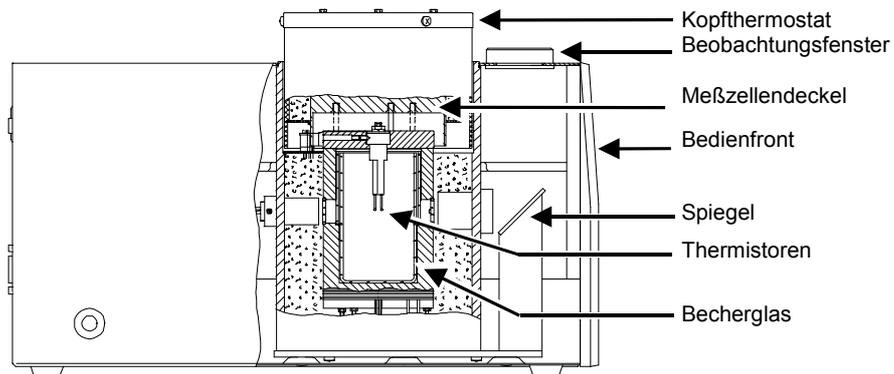


Abb. 5 Seitenansicht und Grunddesign des K-7000

Entfernung der Zelle vom Gerät

Entfernen Sie alle Spritzen aus den Führungen. Nehmen Sie den Kopf vom Osmometer ab. Lösen Sie die beiden Muttern, lösen Sie den elektrischen Anschluss (schwarzer Stecker), und heben Sie dann das Becherglas mit dem Metalldeckel aus dem Thermostaten heraus. Entfernen Sie den Deckel vom Glas durch vorsichtiges Ziehen.

Reinigung der Thermistoren

Bitte spülen Sie die an der Unterseite des Deckels in der Mitte befindlichen Thermistoren mit Aceton und anschließend mit einer oberflächenaktiven Lösung und mit Wasser. Durch dieses Vorgehen wird die Anhaftung der Tropfen am Thermistor unterstützt.

Einsetzen der Dochte

Zur Vergrößerung der Flüssigkeitsoberfläche und damit zur Optimierung der Dampfsättigung der gesamten Zelle dienen Lösungsmitteldochte (Bestellnummer A0429), die folgendermaßen in das Becherglas eingesetzt werden:

Das große Filterpapier wird zu einem Zylinder gerollt und so in das Becherglas gestellt, dass das Fenster sich im oberen Teil befindet. Das kleinere Filterpapier wird ebenfalls zu einem Zylinder gerollt, der durch die beiden Papierringe ober- und unterhalb des Fensters zusammengehalten wird. Die Öffnungen in beiden Dochten sollen übereinander stehen und zur Frontseite des Osmometers zeigen, dass eine Beobachtung der Thermistoren möglich ist, siehe Abb. 6.

Füllen Sie etwa 20 ml des bei der Messung verwendeten Lösungsmittels ein, wobei die Dochte gleich durchfeuchtet werden sollten.

Einsetzen der Messzelle

Stellen Sie den Becher mit den Dochten in den Thermostaten. Setzen Sie den Deckel auf die Zelle und stellen Sie die Verbindung mit dem schwarzen Stecker wieder her.



Achten Sie auf den richtigen Sitz der elektrischen Steckverbindung, da sonst das Gerät nicht arbeitsfähig ist!

Vergewissern Sie sich bitte, dass die Fenster der Dochte gut übereinander liegen und nach vorne zur Gerätefront zeigen. Gegebenenfalls korrigieren Sie die Lage. Die Enden der beiden Thermistoren sollen gut durch das Beobachtungsfenster zu sehen sein. Setzen Sie den Kopfthermostaten wieder auf, wobei die Spritzenführung #1 nach vorn ausgerichtet sein muss.

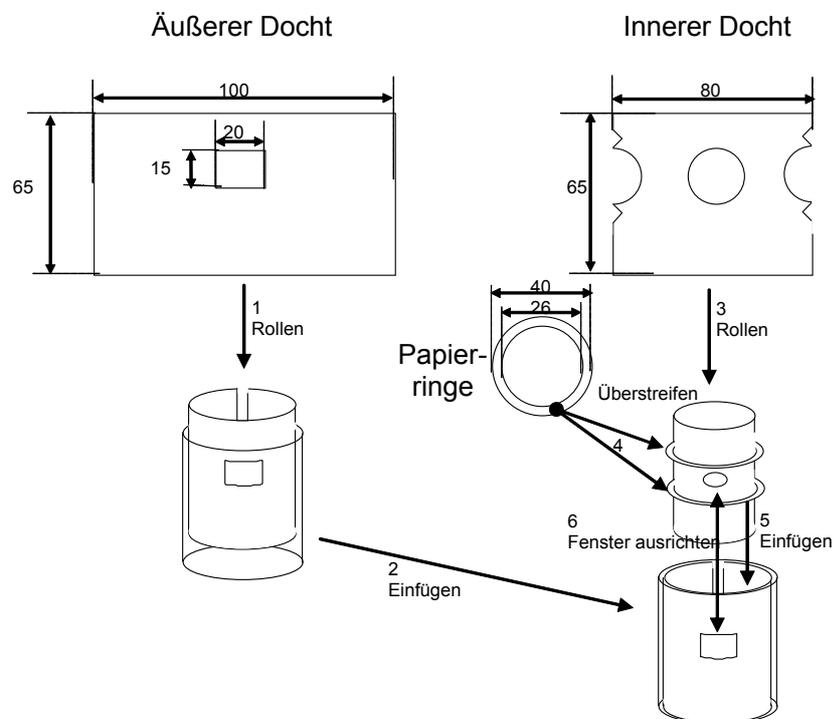


Abb. 6 Präparieren der Dampfdochte

Bedienung des Dampfdruckosmometers K-7000

Einschalten des K-7000

Schalten Sie das Gerät mit dem Netzschalter an der Rückfront ein. Auf dem Display erscheint die Nachricht **Knauer Osmometer** und ein paar Sekunden später die Ausgabe Nummer der internen Software. Nach vollständigem Startup erscheint das Hauptmenü auf dem Display. Die voreingestellte Temperatur wird automatisch aktiviert. Alle Parameter der letzten Messung werden automatisch wieder eingestellt. Sie können jedoch soweit erforderlich neue Parameter auswählen.

Wählen Sie eine Temperatur $\leq 100^{\circ}\text{C}$ aus, drücken Sie die AUTOZERO Taste, warten Sie bis die Basislinie konstant ist und drücken dann die TEST Taste. Nach etwa 15 Sekunden wird entweder **test OK** oder **maintenance required** angezeigt. Im letzteren Falle sollten die Thermistoren zu einem Routinecheck zu KNAUER eingesandt werden. Wir empfehlen, diesen Test in dreimonatigem Turnus und beim Auftreten nicht reproduzierbarer Messungen vorzunehmen.

Tastenbedienung des K-7000

Sie können das Gerät mit den Tasten an der Gerätefront steuern, siehe Abb. 7. Die Tabelle 2 gibt einen kurzen Überblick über die Grundfunktionen dieser Tasten.

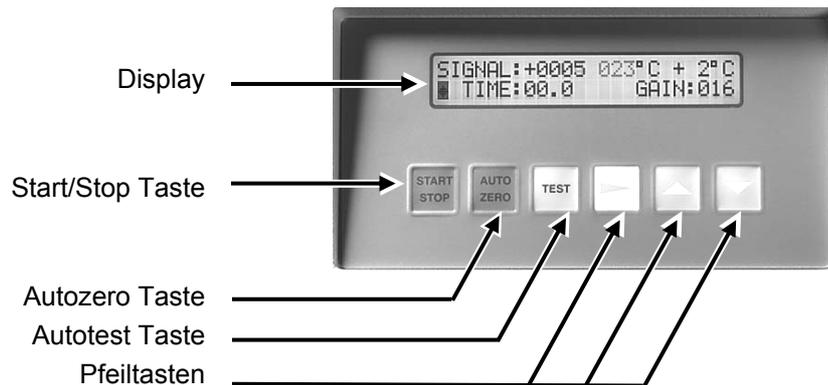


Abb. 7 Bedienelemente an der Gerätefront des K-7000

Tabelle 2 Grundfunktionen der Bedientasten

START/STOP	Start und Stop der Messungen
AUTO ZERO	Diese Funktion kompensiert den Offset und findet die Nullstellung, wenn beide Thermistoren reine Lösungsmitteltropfen tragen Sie können das AUTOZERO ausführen, wenn nach dem Aufbringen der beiden Lösungsmitteltropfen die Basislinie konstant ist. Nach etwa 20 – 30 Sekunden wird der Messwert auf Null gesetzt.
TEST	Automatischer Testlauf zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit der Thermistoren
Pfeiltaste rechts ➤	Bewegt den Cursor zwischen den Menüfeldern
Pfeiltaste hoch ▲	Menüauswahl und Erhöhung numerischer Werte
Pfeiltaste runter ▼	Menüauswahl und Erniedrigung numerischer Werte

Displays des K-7000

Hauptmenü

Das Hauptmenü zeigt Statusinformationen und ermöglicht den Zugang zu anderen Menüs.

SIGNAL:+0000	060°C +2°C
◆ TIME:0.00	Gain:064

Abb. 8 Beispiel für die Hauptmenüanzeige

Tabelle 3 Displayanzeigen des K-7000

Signal / Messwert	+/- 4 Ziffern
Seitenauswahl	Schwarzer Rhombus
Zeit	Messzeit bis zu 30 min, Sekundenangabe in 1/10 min
Auswahl Verstärkung ¹⁾	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256
Auswahl Zelltemperatur	20 – 130 °C
Auswahl Differenz Δt ²⁾	max. 6 °C

- 1) Die Verstärkung erfolgt intern auf das Rohsignal und beeinflusst den Ausgabewert des Gerätes.
- 2) Für das K-7000 ist Δt als Differenz zwischen der Kopfthermostaten- und der Zelltemperatur berechnet $\Delta t = T_{\text{Kopf}} - T_{\text{Zelle}}$.

Auswahl der geeigneten Messtemperatur

Vor der Messung müssen Sie die Temperaturen der Messzelle und des Kopfes einzeln festlegen. Sie können die Temperaturen auswählen, indem Sie die entsprechenden Felder des Menüs ansteuern und die gewünschten Werte durch Eingabe der numerischen Daten wie folgt festlegen: Die Kopftemperatur wird dabei immer als Inkrement der Zelltemperatur eingegeben. Solange Sie bei Zelltemperaturen $\leq 35^\circ\text{C}$ arbeiten, setzen Sie die Kopftemperatur auf 0.

1. Mit der Pfeiltaste rechts \blacktriangleright bringen Sie den Cursor in das entsprechende Feld.
2. Mit den Pfeiltasten hoch \blacktriangle bzw. runter \blacktriangledown verändern Sie die angezeigten Werte bis die gewünschte Temperatur erreicht ist.

Wenn Sie zum Beispiel bei einer Zelltemperatur von 60°C und einer Kopftemperatur von 62°C arbeiten möchten, müssen die Werte 60°C und $+2^\circ\text{C}$ eingegeben werden.

Das Display zeigt die eingegebenen Temperaturen blinkend bis die eingestellten Werte auch aktuell erreicht sind.



Um unter stabilen Temperaturbedingungen arbeiten zu können, muss die Zelltemperatur mindestens 5° über der Raumtemperatur liegen.

Nutzung des Zeitdisplays

Wenn das Zeitdisplay den Wert Null anzeigt, kann mit der Messung begonnen werden. Durch Druck auf die START/STOP Taste kann die Zeitählung sowohl begonnen als auch unterbrochen werden. Das Zeitfenster wird automatisch gespeichert, sofern es nicht manuell verändert

wird. Diese Eigenschaft kann genutzt werden, um die Messzeiten oder andere bestimmte Zeitintervalle, wie die Zeit bis zum Erreichen eines konstanten Messwertsignals für Folgemessungen zu übernehmen. Ein zweites Drücken der START/STOP Taste löst ein Abwärtszählen bis zur Zeit Null aus. Der zu diesem Zeitpunkt aktuelle Messwert bleibt im Display erhalten (HOLD Position). Dieser Vorgang ist beliebig wiederholbar. Wird die Taste während der Abwärtszählung erneut gedrückt, wird der Zeitwert ohne Hold Funktion auf den Ausgangswert zurückgesetzt.

Identifizierung der Seriennummer

Bewegen Sie den Cursor mit der Pfeiltaste rechts \blacktriangleright zum schwarzen Rhombus und betätigen Sie dann die Pfeiltaste \blacktriangle . In dieser Funktion wird die individuelle Seriennummer des Gerätes angezeigt.

Serial Number:	48235
◆	

Abb. 9 Identifizierung der Seriennummer auf dem Display

Kalibrierungsmodus

Drücken Sie die Pfeiltaste hoch \blacktriangle erneut. Ein Display entsprechend der Abb. 10 wird angezeigt.

calibrate	actual:	+0455
◆	set:	----

Abb. 10 Display im Kalibrierungsmodus



Sie können diesen Modus zur direkten Bestimmung der Osmolalität physiologischer Flüssigkeiten verwenden.

Zum Zwecke der Kalibrierung ist es möglich, den gemessenen Wert auf niedrigere Zahlen einzustellen, indem Sie die Brückenspannung reduzieren. Wir empfehlen, diese Werte nicht unter 50% der Ausgangswerte abzusenken.

Im Osmolalitätsmodus kann der Messwert direkt mit einer in mOsmol/kg angegebenen Osmolalität korreliert werden.



Beispiel für die Nutzung des Kalibrierungsmodus

Eine NaCl Standardlösung von 400 mOsmol/kg wird gemessen. Die Verstärkung wird auf 16 eingestellt. Ein Messwert von 455 wird ermittelt und im Kalibrierungsdisplay angezeigt.

Durch die Pfeiltaste rechts \blacktriangleright bewegen Sie den Cursor in die zweite Displayzeile **set**.

Drücken Sie nun die Pfeiltaste runter \blacktriangledown bis der Anzeigewert 400 erreicht ist. Danach wird die Kalibrierung durch erneutes Drücken der Pfeiltaste rechts \blacktriangleright abgeschlossen. Das Display zeigt die Meldung **calibrating**. Nach etwa 10 Sekunden wechselt der aktuelle Wert auf 400. Diese Veränderung wird durch eine interne Herabsetzung der Brückenspannung erreicht. Die neue Brückenspannung kann im entsprechenden Menü abgelesen werden, siehe Abb. 11 im folgenden Abschnitt.

Der Kalibrierungswert wird permanent gespeichert

Die an die Wheatstone Brücke angelegte Spannung wird in % angezeigt. Nutzen Sie dieses Menü um den Wert zu korrigieren oder wieder auf 100% zurück zu setzen. Während normaler Messungen sollte der Wert auf 100% eingestellt sein, es sei denn, eine Kalibrierung wurde durchgeführt und gespeichert.

Modus aktuelle Temperatur

Betätigen Sie aus dem Kalibrierungsmenü heraus die Pfeiltaste hoch \blacktriangle . Neben der oben beschriebenen Brückenspannung werden die aktuellen Temperaturen von Messzelle und Kopfthermostat angezeigt:



Abb. 11 Anzeige der Brückenspannung sowie der aktuellen Temperaturen von Zelle und Kopf

Rücksetzung der Brückenspannung

Im Menü entsprechend Abb. 11 führen Sie den Cursor mit der Pfeiltaste rechts \blacktriangleright in das Feld für die Brückenspannung. Nach einmaligem Drücken der Pfeiltaste hoch \blacktriangle zeigt das Display **Reset bridge voltage? Confirm by cursor**. Durch nochmaliges Drücken der Pfeiltaste hoch \blacktriangle wird die Brückenspannung wieder auf 100% gesetzt und im Display angezeigt.

Zum Hauptmenü gelangen Sie nun durch Drücken von zunächst der Pfeiltaste rechts \blacktriangleright (der Cursor geht zu dem schwarzen Rhombus) und anschließend der Pfeiltaste hoch \blacktriangle .

Lösungsmittelauswahl

Die Auswahl des am besten geeigneten Lösungsmittels erfolgt nach folgenden Kriterien:

1. Gute Löslichkeit der zu untersuchenden Substanz in dem Lösungsmittel
2. Keine chemischen Wechselwirkungen zwischen der zu untersuchenden Substanz und dem Lösungsmittel
3. Der Dampfdruck der zu untersuchenden Substanz beträgt maximal ein Zehntel von dem des Lösungsmittels

Weiterhin müssen folgende Einflüsse des Lösungsmittels auf die Messung beachtet werden:

4. Die tatsächliche Dampfdruckerniedrigung ist abhängig vom verwendeten Lösungsmittel.
5. Besonders bei Substanzen mit hoher Molmasse ist die Empfindlichkeit der Messung reduziert, da die Anzahl der gelösten Moleküle im Verhältnis zu ihrer Masse sehr klein wird. Entweder muss eine hochkonzentrierte Lösung (begrenzt durch die Löslichkeit der Substanz) gemessen werden oder es muss eine geringe Partikelkonzentration akzeptiert werden.
6. Die Lösungsmittel müssen bei der Messtemperatur eine hohe thermische Stabilität aufweisen.
7. Die Differenz zwischen der Messtemperatur und dem Siedepunkt des Lösungsmittels sollte normalerweise mindestens 15° betragen.

In der Tabelle 4, Seite 44 sind die zu empfehlenden Messtemperaturen für die am häufigsten in der Dampfdruckosmetrie verwendeten Lösungsmittel aufgelistet.

Tabelle 4 Einige Eigenschaften der am häufigsten in der Dampfdruckosmometrie verwendeten Lösungsmittel

Lösungsmittel	Siedepunkt °C	Messbereich °C	Minimale Konzentration mol/kg
Aceton	56,2	37 - 45	0,005
Acetonitril	81,6	37 - 60	0,010
Ameisensäure	100,5	37 - 60	0,005
Benzen	80,2	25 - 60	0,001
Brombenzen	156,2	60 -130	0,005
Bromoform	149,5	37 - 90	0,003
tert.-Butanol	82,6	45 - 60	0,010
Butylacetat	126,1	45 - 90	0,005
Chlorbenzen	131,7	60 - 90	0,005
Chloroform	61,2	25 - 45	0,003
Cyclohexan	80,8	37 - 60	0,005
o-Dichlorbenzen	179,5	90 -130	0,005
Diethylether	34,6*)	25 - 30	0,005
Dimethylformamid	155	90 -120	0,005
Dimethylsulfoxid	100(z)	60 - 90	0,005
Dioxan	101	60	0,005
Ethanol	78,3	45 - 60	0,002
Ethylacetat	77,1	37 - 60	0,002
Ethylbromid	38,3	25	0,005
Ethylenbromid	131,6	60 - 90	0,005
Ethylenchlorid	83,6	25 - 60	0,003
Furan	32*)	25	0,001
n-Heptan	98,3	37 - 60	0,005
n-Hexan	68,8	37 - 60	0,005
Mesitylen	164,6	90 -130	0,005
Methanol	64,7	45	0,005
Methylbromid	96,5	37 - 60	0,005
Methyl-i-butylketon	116,9	45 - 60	0,005
Methylenchlorid	40,6*)	25	0,003
Methylethylketon	79,6	37 - 60	0,005
n-Propanol	97,2	45 - 60	0,002
Pyridin	115,5	60 - 90	0,001
Schwefelkohlenstoff	46,3	25 - 37	0,001
Tetrachlorkohlenstoff	76,6	25 - 45	0,001
Tetrahydrofuran	65,5	45	0,005
Toluen	110,8	37 - 90	0,001
Trichlorethylen	87	37 - 60	0,001
Wasser	100	37 - 60	0,005
o-Xylen	143	90	0,001

*) Niedersiedende Lösungsmittel mit hohen Dampfdrücken. Wir empfehlen eine besonders sorgfältige Festlegung und Einhaltung der experimentellen Bedingungen

d) Zersetzung

Spezifikation der erforderlichen Spritzen

Benutzen Sie ausschließlich Spritzen, die allen Spezifikationen des Dampfdruckosmometers K-7000 entsprechen, siehe Abb. 12 (KNAUER Bestellnummer A0433).

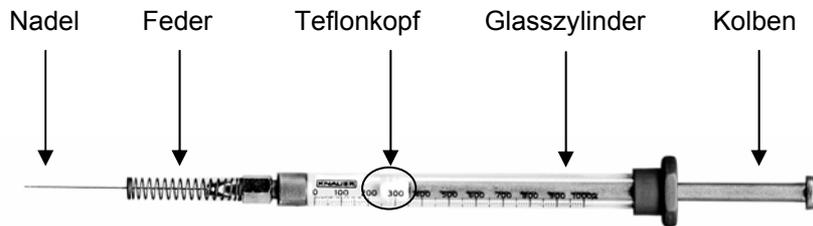


Abb. 12 Spritze für das Dampfdruckosmometer K-7000

Spritzen dieses Typs bestehen aus einem Glaszylinder, einem Metallkolben mit Teflonkopf und einer Metallkanüle mit Feder.

Durchführung der Messung

Benutzung der Spritzen

Füllen Sie zwei Spritzen mit dem reinen Lösungsmittel und führen Sie diese in die gelb und rot markierten Spritzenführungen ein. Falls sich der Spritzenkolben allein durch die Schwerkraft hinab bewegt, leeren Sie bitte die Spritze und pressen den herausgenommenen Kolben mit seinem Teflonkopf auf eine glatte Oberfläche, um dadurch die Dichtungseigenschaften des Teflonkopfes wieder zu verbessern.

Sie können vier Spritzen mit Probelösungen vorbereiten. Führen Sie die Spritzen rasch in die vorgesehenen Führungen ein, um längere Zeiten für die Einstellung des thermischen Gleichgewichtes zu vermeiden. Die Federn der Spritzen gewährleisten, dass ein konstanter Abstand zu den Thermistoren eingehalten wird. Es ist wichtig, dass alle Spritzenführungen mit Spritzen besetzt sind, auch wenn nicht alle für die vorgesehenen Messungen benötigt werden.

Nähern Sie die Kanüle dem Thermistor durch vorsichtigen Druck auf die in der Führung steckende Spritze. Durch leichten Kolbenshub können nun die Tröpfchen an die Thermistoren appliziert werden. Es ist wichtig, hierbei Tropfen gleicher Größe zu erzeugen. Bitte spülen Sie den Thermistor immer drei bis fünf Mal, ehe Sie einen neuen Tropfen zur Messung anbringen.

Nullpunkteinstellung

Vor jeder neuen Messreihe müssen Sie den Nullpunkt des Gerätes definieren. Hierfür müssen beide Thermistoren Tropfen des reinen Lösungsmittels tragen.

1. Bringen Sie an jeden Thermistor einen Tropfen reines Lösungsmittel.
2. Warten Sie etwa 5 Minuten und vergewissern Sie sich, dass sich eine stabile Basislinie eingestellt hat.
3. Drücken Sie die AUTOZERO Taste.

Tropftechniken

Sie können entweder nur den Probetropfen für die neue Messung austauschen, wie auf Seite 47 in „Alleiniger Wechsel von Probetropfen“ beschrieben, oder ein neues Lösungsmittel und eine neue Probe messen, siehe unten auf dieser Seite.

Sie können sich für die Technik entscheiden, die Ihren Erfordernissen am besten entspricht. Sie sollten sich jedoch für eine von beiden entscheiden und diese konsequent anwenden. Die Anwendung der Methode „Messung neuer Lösungsmittel- und Probetropfen“ ist die effektivere, da die Gleichgewichtseinstellung hier schneller erfolgt.

Messung neuer Lösungsmittel- und Probetropfen

1. Tragen Sie den Probetropfen auf. – Das Signal zeigt eine negative Überladung, siehe \ominus in Abb. 13.
2. Tragen Sie den Lösungsmitteltropfen auf. – Das Signal zeigt eine positive Überladung, siehe \bullet in Abb. 13.
3. Ein konstanter Messwert wird erreicht, wenn sich das thermische Gleichgewicht eingestellt hat und das Signal nicht weiter ansteigt, siehe \oplus in Abb. 13.

Wenn Sie Probelösungen unterschiedlicher Konzentration messen, empfehlen wir, die Proben in der Reihenfolge zunehmender Konzentrationen zu messen. Wenn Sie bei jeder Messung beide Tropfen austauschen möchten, verfahren Sie wie folgt:

Das Erscheinungsbild des Signalverlaufs sollte dem Schema in Abb. 13 ähneln.

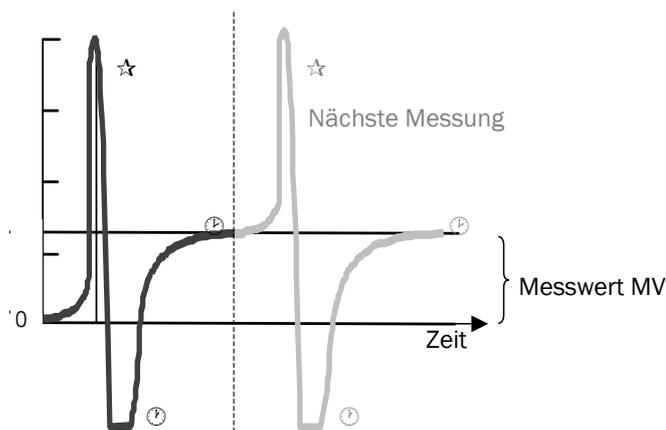


Abb. 13 Schematisches Osmogramm beim Austausch beider Tropfen

Alleiniger Wechsel des Probentropfens

1. Tragen Sie den Probentropfen auf. – Das Signal zeigt eine negative Überladung, siehe ϑ in Abb. 14.
2. Ein konstanter Messwert wird erreicht, wenn sich das thermische Gleichgewicht eingestellt hat und das Signal nicht weiter abfällt, siehe • in Abb. 14.

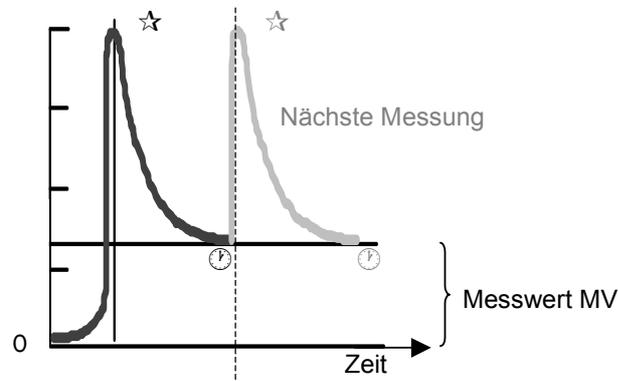


Abb. 14 Schematisches Osmogramm beim alleinigen Austausch des Probentropfens

Beide in den Abb. 13 und 14 gezeigten schematischen Osmogramme gelten für eine um 2°C über der Zelltemperatur liegende Kopftemperatur, siehe Abschnitt „Auswahl der geeigneten Messtemperatur“ auf Seite 41. Wenn Sie andere Temperaturdifferenzen einstellen, können Ihre Osmogramme von den gezeigten Beispielen abweichen.

Thermistorjustierung

Wenn es nicht gelingt, die Tropfen an den einen oder anderen Thermistor zu applizieren, verfahren Sie wie folgt:

1. Öffnen Sie das Gerät
2. Richten Sie die Thermistoren durch sehr vorsichtiges manuelles Biegen wieder aus, bis der Abstand 0,9 cm beträgt, siehe Abb. 4 auf Seite 38.

Es ist ebenfalls möglich, durch leichtes Biegen der Kanülenführungen zum Erfolg zu kommen. Dieses ist jedoch der schwierigere Weg.

Erforderliche Stabilisierungszeit

Die Stabilisierungszeit ist als das Zeitintervall definiert, das zur Stabilisierung des Dampfdruckes bei den eingestellten Zell- und Kopftemperaturen erforderlich ist. Sie beginnt, wenn die eingestellten Temperaturen im Groben erreicht sind und die Anzeige aufhört zu blinken. Die Tabelle 5 gibt die erforderlichen Stabilisierungszeiten bei verschiedenen Messtemperaturen an.

Tabelle 5 Stabilisierungszeiten als Funktion der Messtemperatur

Messtemperatur [°C]	Stabilisierungszeit [min]
25	30
40	30
60	60
100	90
130	120

Drei verschiedene Messmethoden

Sie können Ihr Dampfdruckosmometer K-7000 in drei verschiedenen Messmodi betreiben.

Bestimmung der Totalosmolalität physiologischer Flüssigkeiten

Wenn die Gesamtosmolalität einer physiologischen Flüssigkeit bestimmt wird, sind die Messwerte immer der Anzahl der osmotisch aktiven Partikel in der gemessenen Lösung proportional.

Sie können Ihr Dampfdruckosmometer K-7000 durch die Messung eines Standards mit bekannter Osmolalität kalibrieren. Die Kalibrierungsinformation wird durch den Anstieg der Regressionsgeraden durch den Koordinatenursprung und den Wert $\frac{\text{Messwert}}{\text{bekannte Osmolalität}}$ gegeben.

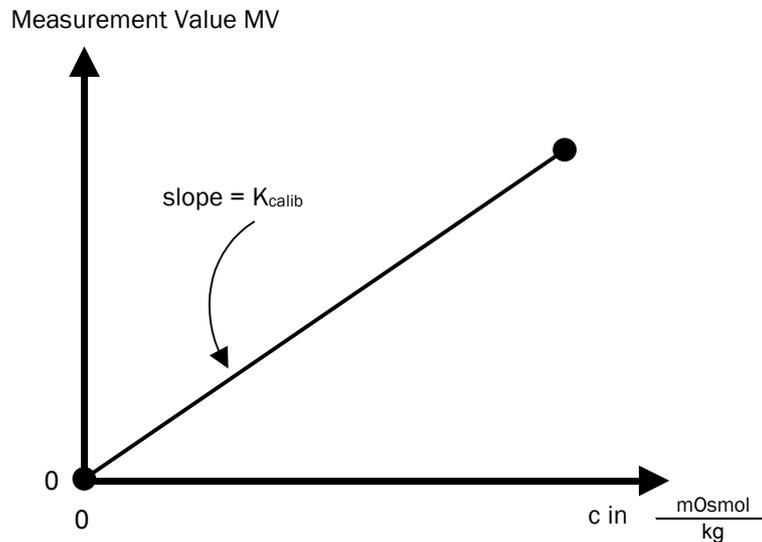


Abb. 15 Konstruktion der Kalibrierungsgeraden

K_{calib} ist in Einheiten von $\frac{\text{kg}}{\text{mOsmol}}$ angegeben.

Die Osmolalität einer unbekannt Probe kann nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$c \left[\frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}} \right] = \frac{\text{MV}}{K_{\text{calib}}}$$

Ein gebräuchlicher Standard ist eine wässrige NaCl Lösung mit 400 mOsmol/kg. Hiervon sind Ampullensätze von KNAUER unter der Bestellnummer Y1241 erhältlich. Es können aber auch andere Osmolalitäten als Standard Verwendung finden, siehe Tabelle 6.

Tabelle 6 Beziehung zwischen Osmolalität, Gefrierpunktserniedrigung und Molalität

Reale Osmolalität $\frac{\text{mOsmol}}{\text{kg}}$	Gefrierpunktserniedrigung ΔT in °C	Konzentration $\frac{\text{g NaCl}}{\text{kg H}_2\text{O}}$	Molalität $\frac{\text{mmol (Na}^+ + \text{Cl}^-)}{\text{kgH}_2\text{O}}$	R ^{*)}
100	0,1858	3,09	105,6	1,06
200	0,3716	6,24	213,3	1,07
300	0,5574	9,45	323,1	1,08
400	0,7432	12,69	433,8	1,08
500	0,9290	15,94	545,0	1,09
600	1,1148	19,18	655,7	1,09
700	1,3006	22,45	767,5	1,10
750	1,395	24,10	823,9	1,10
1200	2,23	38,76	1325,1	1,10
1800	3,35	58,01	1983,2	1,10
2500	4,65	79,97	2734,0	1,09
3000	5,58	95,40	3261,5	1,09

*) R ist der Quotient aus Molalität und Osmolalität und veranschaulicht so die relative Abweichung beider Werte von einander

Es ist extrem wichtig, zwischen der Osmolalität und der Molalität konsequent zu unterscheiden. In sehr verdünnten Lösungen sind beide Konzentrationsangaben vergleichbar. Mit zunehmender Anzahl gelöster Moleküle steigt jedoch die Wahrscheinlichkeit der Bildung von Aggregaten stark an. Mit dem Dampfdruckosmometer können Sie jedoch nur die Anzahl freier, das heißt osmotisch aktiver Partikel erfassen und nicht die Moleküle innerhalb aggregierter Partikel. Wenn also Aggregate gebildet werden, sinkt die Osmolalität im Vergleich zur Molalität.



Beispiel: Bestimmung der Gesamtosmolalität einer Probe

Bereiten Sie das Gerät wie in den Abschnitten „Bedienung des Dampfdruckosmometers K-7000“ auf Seite 40 und „Auswahl der geeigneten Messtemperatur“ auf Seite 41 beschrieben vor und geben Sie folgende Parameter ein:

Zelltemperatur T _c :	60°C
Kopftemperatur T _H :	62°C
Messzeit:	1,5 min
Verstärkung:	16

Bitte erinnern Sie sich: Die eingestellte Temperatur ist erreicht, wenn die zugehörige Anzeige aufhört zu blinken. Zur Einstellung des Dampfdruckgleichgewichtes wird jedoch deutlich mehr Zeit benötigt (im gegebenen Fall ca. 1h).

Kalibrierung mit NaCl 400

- Öffnen Sie eine Ampulle (KNAUER Bestellnummer Y1241) NaCl Lösung (400 mOsmol/kg).
- Füllen Sie eine Spritze damit und führen diese in Position 1 in die Spritzenhalterung ein.
Es wird empfohlen, den Rest des Ampulleninhalts zu entsorgen. Verwenden Sie die Lösungen nur unmittelbar nach Öffnung der Ampullen.

3. Füllen Sie eine weitere Spritze mit Ihrer Probenlösung und stecken diese in die Position 2.
4. Weitere zwei Spritzen füllen Sie mit destilliertem Wasser und führen sie an der gelben und der roten Position ein.
5. In die verbleibenden zwei Öffnungen (Position 3 und 4) führen Sie zur Aufrechterhaltung der Temperaturkonstanz zwei leere Spritzen ein.
6. Halten Sie vor der ersten Messung die Stabilisierungszeit ein, siehe Tabelle 5 „Stabilisierungszeit als Funktion der Messtemperatur“ auf Seite 47.
7. Bringen Sie an jeden Thermistor einen Lösungsmitteltropfen und drücken nach Erreichen einer stabilen Basislinie die AUTOZERO-Taste. Der angezeigte Messwert springt nach etwa 20 – 30 Sekunden auf Null. Das Osmometer ist nun messbereit.
8. Spülen Sie den linken Thermistor mit 3 bis 5 Tropfen der Standardlösung. Der letzte soll am Thermistor hängen bleiben. Es ist wichtig, Tropfen gleicher Größe zu verwenden.
9. Drücken Sie die Starttaste, sobald der zu messende Probetropfen sich am Thermistor befindet.

Das Messsignal zeigt zunächst ∞ , gleichbedeutend mit der Reaktion des sehr empfindlichen Thermistors auf eine Temperaturänderung. Nach 20 – 30 Sekunden ist das Signal wieder im Messbereich und strebt einem konstanten Messwert zu. Nach 1,5 Minuten zeigt das Display den Messwert in der **HOLD**-Position an.

Die Standardlösung sollte mindestens dreimal gemessen werden, wobei Abweichungen bis zu 0,5% tolerabel sind.



Beispiel: Auswertung der Kalibrierungsdaten

Die bei der Kalibrierungsprozedur erhaltenen Daten können wie im folgenden Beispiel gewertet werden.

Tabelle 7 Beispiel für Kalibrierungsdaten

Nummer der Injektion	c in $\frac{\text{mOsmol}}{\text{Kg}}$	Messwert ^{*)}
1	400	43,37
2	400	43,51
3	400	43,47
4	400	43,61
5	400	43,54
Mittelwert		43,50
Standardabweichung		0,09%
		$K_{\text{calib}}=0,1088 \frac{\text{kg}}{\text{mOsmol}}$

^{*)} Daten mit EuroOsmo[®] erfasst.

Auswertung der Messdaten

Spülen Sie den linken Thermistor mit 3 – 5 Tropfen destilliertem Wasser und überprüfen Sie den Nullwert. Nun führen Sie die Messung mit Ihrer Probenlösung wie oben für den Standard beschrieben mindestens dreimal durch.

Tabelle 8 Beispiel für Messdaten und Auswertung auf Basis der Kalibrierung

Nummer der Injektion	Messwert
1	34,43
2	34,61
3	34,50
Mittelwert	
	34,51
Standardabweichung	
	0,03%

Gesamtosmolalität der Probe :

$$34,51 \frac{\text{mOsmol}}{0,1088 \text{ Kg}}^*) = 317 \frac{\text{kg}}{\text{mOsmol}}$$

^{*)} Wert aus der Kalibrierung, siehe Tabelle 7

Molmassenbestimmung für $M < 500 \text{ g/mol}$

Es ist die Anzahl der in einer Lösung befindlichen Partikel oder Moleküle, die den Messwert in der Osmometrie bestimmt. Die mittleren Molmassen können demnach bestimmt werden, wenn die Konzentrationen der Proben bekannt sind. Dies gilt jedoch nur für verdünnte Lösungen.

Die Basisgleichung zur Bestimmung der Molmasse lautet mit

n = Anzahl der Probenpartikel

m = Masse der Probe bzw. des Lösungsmittels

M = Molmasse der Probe:

$$\frac{n \text{ Probe}}{m \text{ Lösungsmittel}} = \frac{m \text{ Probe}}{m \text{ Lösungsmittel} \cdot M \text{ Probe}}$$

Bei Molmassen kleiner als 500 g/mol sind die Messwerte der Anzahl der Moleküle proportional. Die Verhältnisse ähneln denen bei der Bestimmung der Osmolalität.

Es wird eine Probe gemessen, von der sowohl die Konzentration, als auch die Molmasse des Gelösten bekannt ist. (c in mol/kg). Der Anstieg der Geraden durch den Koordinatenursprung und den Messwert der Standardlösung über der Konzentration ergibt K_{calib} in kg/mol.

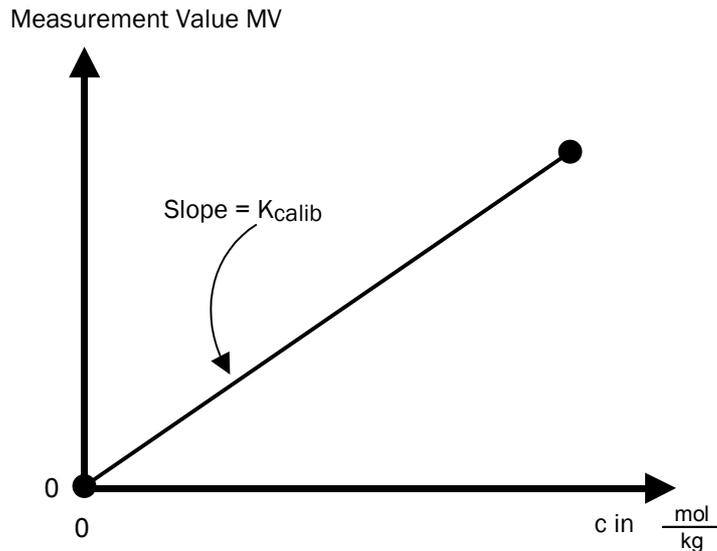


Abb. 16 Kalibrierungskurve

$$K_{\text{calib}} = \frac{MV}{c}$$

Die unbekannte Molmasse einer Substanz wird durch die osmotrische Messung einer Substanzprobe in bekannter Konzentration (c in g/kg) ermittelt. Der Anstieg der Geraden durch den Koordinatenursprung und den Messwert der Probelösung über der Konzentration ergibt den für die Molmassenbestimmung notwendigen Wert K_{mess} in kg/g. Die Molmasse der unbekanntes Substanz ergibt sich nun aus der Berechnung nach:

$$M \left[\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] = \frac{K_{\text{calib}}}{K_{\text{Meas}}}$$



Beispiel: Kalibrierung und Molmassenbestimmung

Die Kalibrierung wird mit Benzil vorgenommen. Ein Beispiel für die Kalibrierungsdaten ist in Tabelle 9 gegeben. Die Tabelle 10 zeigt dann ein reales Messbeispiel und die Berechnung der Molmasse daraus.

Tabelle 9 Kalibrierung mit Benzil

Nummer der Injektion	c in $\frac{\text{mol}}{\text{Kg}}$	Messwert
1	0,042	22,35
2	0,042	22,19
3	0,042	22,24
Mittelwert		22,26
Standardabweichung		0,04%
$K_{\text{calib}} = 530$		$\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$

Tabelle 10 Messung einer unbekanntes Probe

Nummer der Injektion	c in $\frac{\text{g}}{\text{Kg}}$	Messwert
1	18,45	31,41
2	18,45	31,52
3	18,45	31,45
Mittelwert		31,46
Standardabweichung		0,02%
		$K_{\text{Mess}} = 1,71 \frac{\text{kg}}{\text{g}}$
Molmasse der Probe :		$M = \frac{530}{1,71} = 309,9 \text{ g/mol}$

Molmassenbestimmung für $M > 500 \text{ g/mol}$

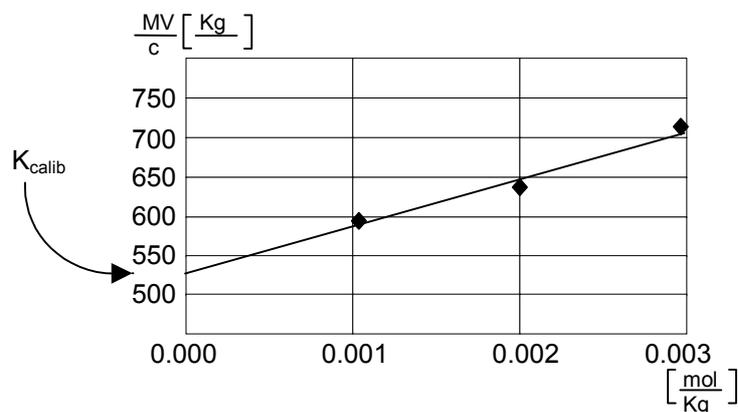
Wenn Substanzen mit höherer Molmasse, insbesondere Polymere untersucht werden, sind zwei zusätzliche Aspekte zu beachten.

1. Es ist immer das Zahlenmittel und nicht das Gewichtsmittel gemeint, wenn im Weiteren von der Molmasse gesprochen wird.
2. Die Beziehung zwischen Messwert und Konzentration verliert zunehmend ihre Linearität.

Die Ermittlung der Molmasse wird deshalb wie folgt vorgenommen:

Kalibrierung

1. Wählen Sie einen Standard zur Kalibrierung aus, dessen Molmasse in der Größenordnung der vermuteten Molmasse der Probe liegt.
2. Stellen Sie daraus 3 – 5 Lösungen unterschiedlicher Konzentration her, in einem Bereich, der dem der Probekonzentrationen entspricht.
3. Messen Sie diese Proben
4. Bestimmen Sie den Quotienten aus dem Messwert und der zugehörigen Konzentration und tragen diesen über der Konzentration (c in mol/kg) auf.
5. Bestimmen Sie die Regressionskurve durch diese Werte und extrapolieren Sie auf $c = 0$ um K_{calib} zu erhalten, siehe Abb. 17.

Abb. 17 Kalibrierungskurve für $M > 500 \text{ g/mol}$; Beispieldaten

Messung

1. Stellen Sie 3 – 5 Probelösungen unterschiedlicher Konzentrationen her
2. Messen Sie diese Lösungen
3. Tragen Sie den Quotienten aus Messwert und Konzentration über der Konzentration auf.
4. Bestimmen Sie die Regressionskurve durch diese Werte und extrapolieren Sie auf $c = 0$ um K_{mess} zu erhalten, siehe Abb. 18.

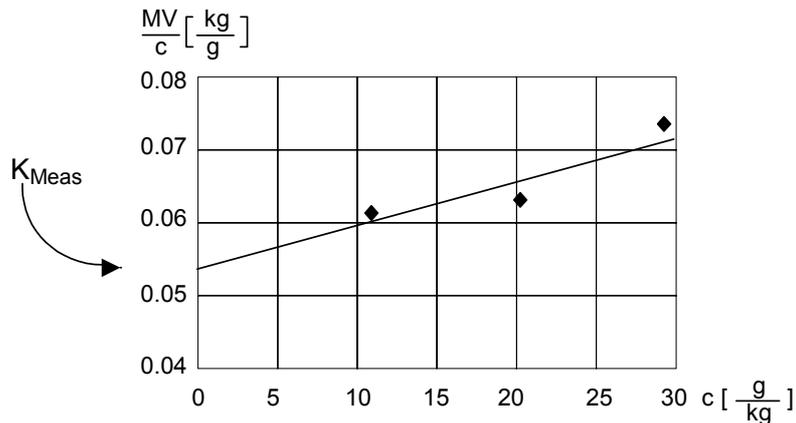


Abb. 18 Messwertkurve für $M > 500 \text{ g/mol}$; Beispieldaten

Die Molmasse kann nun berechnet werden nach

$$M \left[\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] = \frac{K_{\text{calib}}}{K_{\text{Meas}}}$$



Beispiel: Bestimmung der mittleren Molmasse eines Polystyrens

Tabelle 11 Kalibrierung mit PS 10100

Nummer der Injektion	c in $\frac{\text{mol}}{\text{kg}}$	Messwert V	$\frac{MV}{c}$ in $\frac{\text{kg}}{\text{mol}}$
1	0,001	0,593	593
2	0,002	1,28	640
3	0,003	2,13	710
Extrapolation auf $c=0$ ergibt:			$K_{\text{calib}} = 527,6 \text{ kg/mol}$

Tabelle 12 Messung einer unbekanntem Polystyrenprobe

Nummer der Injektion	c in $\frac{\text{g}}{\text{kg}}$	Messwert MV	$\frac{MV}{c}$ in $\frac{\text{kg}}{\text{g}}$
1	11,50	0,71	0,0617
2	20,12	1,25	0,0621
3	28,79	2,07	0,0719
Extrapolation auf $c=0$ ergibt:			$K_{\text{Mess}} = 0,054 \text{ kg/g}$

Molmasse der Probe : $M = \frac{527,6}{0,054} = 9770 \text{ g/mol}$

Arbeit mit dem K-7000 und der EuroOsmo 7000 Software

Die vollen Möglichkeiten, die das K-7000 Dampfdruckosmometer bietet, werden beim Betrieb unter der Software EuroOsmo 7000 Software für Windows, Version 1.2 oder höher, zugänglich bzw. wesentlich erleichtert in der Handhabung.



Lesen Sie die Lizenzvereinbarung auf Seite 69 bevor Sie die EuroOsmo®7000 Software nutzen! Mit der Benutzung der Software erkennen Sie die Vereinbarung an.

In diesem Kapitel werden die für die Arbeit mit dem K-7000 Dampfdruckosmometer unter EuroOsmo Software notwendigen Grundkenntnisse erklärt. Bezüglich detaillierterer Informationen zu den Merkmalen dieser Software informieren Sie sich bitte im speziellen Softwarehandbuch.

Hardwareanforderungen und Installation der EuroOsmo 7000 Software

CPU Pentium 130 MHz
Arbeitsspeicher (Minimum)

	Windows NT 4.0	Windows 95
O/S	32 MB Service Pack 3 (oder jünger)	16 MB Service Pack 1
Festplatte	(Die Service Packs müssen in der gleichen Sprache wie das O/S sein!) 20 MB freie Speicherkapazität	

Vor der Installation vergewissern Sie sich bitte, dass die geeignete Version des Betriebssystems vorliegt. Gegebenenfalls wäre die vorherige Installation des entsprechenden Service Packs erforderlich.

Installation von einer CDROM

1. Legen Sie Ihre EuroOsmo CD in Ihr CD-Laufwerk.
2. Warten Sie 30 Sekunden. Das Setup wird automatisch gestartet. Mittels selbsterklärender Fenster werden Sie durch die Installation geführt.
3. Falls Ihr CD Laufwerk kein Autoplay unterstützt, verfahren Sie wie folgt:
 - 3.1. Doppelklicken Sie auf „Arbeitsplatz“
 - 3.2. Klicken Sie Ihr CD Laufwerk mit der *rechten* Maustaste an
 - 3.3. Wählen Sie „Autoplay“ aus und verfahren dann wie unter 2.
4. Falls kein AutoPlay Menü angezeigt wird, wählen Sie „Öffnen“, gehen zu EuroOsmo 7000/Disk1 und machen einen Doppelklick auf „Setup.exe“

Installation von einer Diskette

1. Legen Sie die Disk#1 in Ihr Laufwerk
2. Doppelklicken Sie auf „Arbeitsplatz“
3. Doppelklicken Sie auf „3,5-Diskette (A:)“
4. Doppelklicken Sie auf „Setup.exe“

Hardware Installation

Das K-7000 Dampfdruckosmometer muß vor dem Start des Programms mit einem definierten Port des Computers (com 2 zum Beispiel) verbunden werden.

Erläuterung des Hauptbildschirms

Nach dem Starten des Programms, üblicherweise durch einen Doppelklick auf das entsprechende Icon, erhalten Sie eine Bildschirmanzeige entsprechend der Abb. 19.

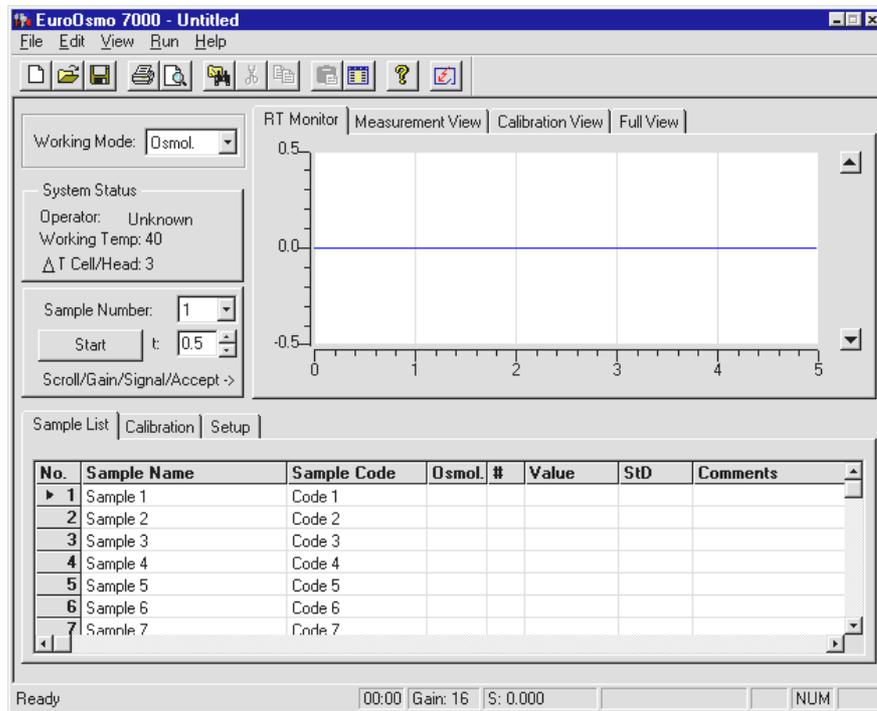


Abb. 19 Eröffnungsbildschirm der EuroOsmo[®] 7000 Software

Tabelle 13 Beschreibung der Bildelemente

Menüzeile	File Edit View Run Help
File	Menü zum Öffnen, Speichern und Drucken von Datenfiles (Messungen oder Kalibrierung)
Edit	Menü zur Dateibearbeitung
View	Menü zur Ansichtauswahl (Anzeige der Statuszeile und der Iconleiste)
Run	Fernstart und eine feste Verstärkung können festgelegt und ein Autozero kann gestartet werden
Help	Die Version der EuroOsmo [®] wird angezeigt
Iconleiste	
	Die meisten Icons sind übliche Windows Icons und bedürfen keiner weiteren Erläuterung
	 Übernahme des Inhalts der ersten Felder einer Spalte in die anderen Zeilen der ausgewählten Spalte
	 Autozero wird gestartet
Arbeitsmodus	Auswahl der Messmethode
Osmol	Bestimmung der Totalosmolalität physiologischer Flüssigkeiten
MW < 500	Bestimmung von Molmassen bis zu 500 g/mol
MW > 500	Bestimmung von Molmassen über 500 g/mol

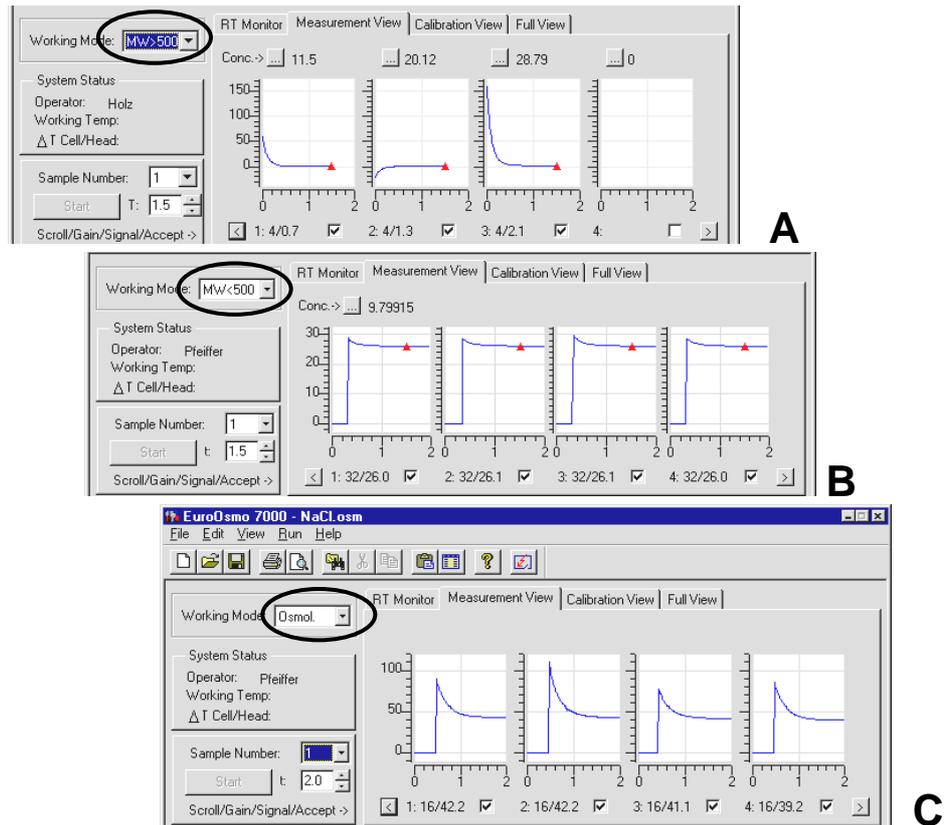


Abb. 20 Oberer Monitorteil (Measurement View) in Abhängigkeit vom Arbeitsmodus

Tabelle 14 Beschreibung des Statusfeldes

System Status:	Die Daten werden vom Setup-Teil (unten) übernommen. Die Temperaturwerte erscheinen solange sich die aktuellen Werte von den Vorgaben unterscheiden blinkend.
Sample Number:	Ausgewählte Messreihe entsprechend der Sample List Tabelle (siehe unten). Mit jeder Auswahl werden die entsprechenden Graphikfenster aktualisiert.
Start:	Schaltfläche zum Start eines Mess- oder Kalibrierungslaufes
t:	Zeitpunkt der Messwertnahme
Scroll/ ... / ... / ...	Bezieht sich auf den rechten Monitorteil sowohl im Messwert- als auch im Kalibrierungsmodus. Das Scrollen erfolgt mit den < und > Schaltflächen, Abb. 21.

Sie können zwischen vier unterschiedlichen Ansichtsmodi im oberen rechten Monitorteil wählen:

1. RT Monitor (Echtzeitmonitor)
2. Measurement View
3. Calibration View
4. Full View

Der RT Monitor dient dem Basisliniencheck. Die Verstärkung kann hier mit den und Schaltflächen verändert werden, siehe Abb.19 auf Seite 56. Der RT Monitor ist selbstskalierend. Für die Skalierung ist das Maximalsignal innerhalb des jeweils gerade angezeigten Zeitfensters maßgeblich.

Die Messwert- und die Kalibrierungsansicht unterscheiden sich nicht von einander. Beide zeigen vier von bis zu 20 möglichen Messungen einer Probe oder Kalibrierungslösung.

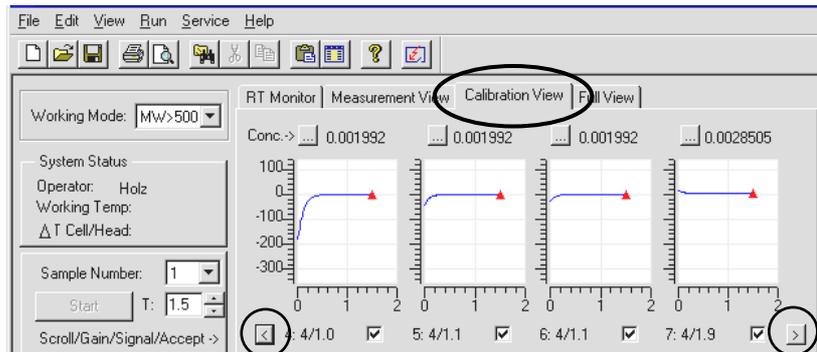


Abb. 21 Anzeige von Kalibrierungsmessungen

Nutzen Sie die < und > Schaltflächen, um zwischen den Runs zu wechseln. Durch Anklicken der Kontrollfelder unterhalb jedes Osmogramms können Sie einzelne Messungen akzeptieren bzw. unberücksichtigt lassen. Die Gain- und die Signalwerte und so weit für die ausgewählte Messmethode erforderlich auch die Konzentrationen werden ebenfalls angezeigt und mit den zugehörigen Osmogrammen verschoben. (siehe auch auf Seite 57).

Nur im Arbeitsmodus Molmassenbestimmung > 500 g/mol unterscheiden sich die Messwertansicht (B) und die Kalibrierungsansicht. Die Kalibrierungsansicht gleicht hier der Messwertansicht des Osmolalitätsmodus (C). Der Zeitpunkt der Messwertnahme wird durch ein rotes Dreieck gekennzeichnet.

Die Full View Ansicht vergrößert das jeweils ausgewählte Osmogramm (Messung oder Kalibrierung). Die Anzeige erfolgt durch einen Doppelklick auf das entsprechende Osmogrammfenster. In der oberen rechten Ecke wird angezeigt, welches Osmogramm ausgewählt worden ist. Im Beispiel ist es die Kalibrierungskurve Nr. 2. Messwertkurven werden anstelle der Kennzeichnung C durch ein führendes M angezeigt.



Abb. 22 Full View Beispiel einer Kalibrierungskurve

Für alle vier Ansichten können die Graphikeinstellungen im Setup-Teil der unteren Bildschirmhälfte verändert werden. Auf der rechten Seite können Sie hier die Farben für den Hintergrund, die Achsen und für die Kurven einzeln festlegen. Ebenso kann das Gitternetz ein- oder ausgeblendet werden, siehe Fig. 23.

Software Setup für die Messung

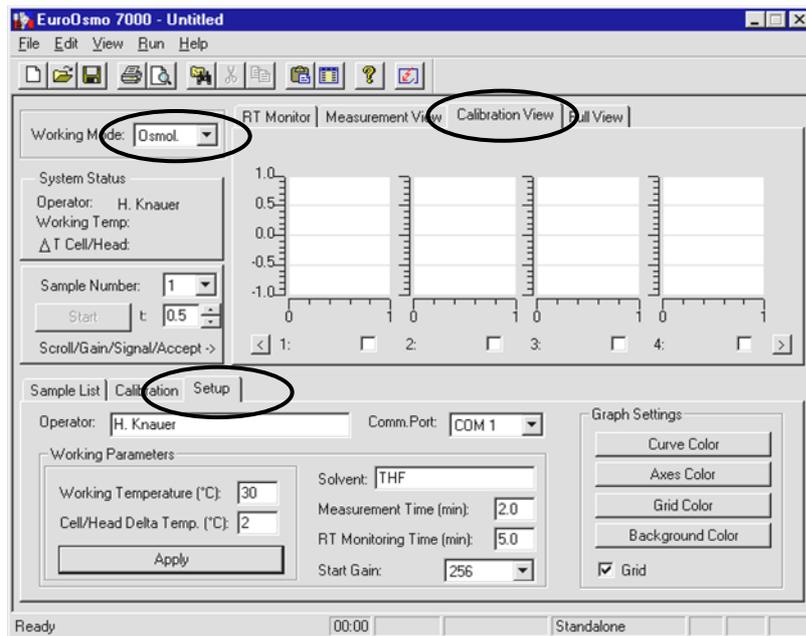


Abb. 23 Setup Bildschirm

Zuerst muss die Schnittstelle für die Verbindung zu Ihrem K-7000 festgelegt werden. Dies ist nur beim ersten Starten Ihres Osmometers mit der EuroOsmo[®] Software erforderlich. Wenn Sie die Kommunikationsschnittstelle aus irgend einem Grunde ändern, wird diese Änderung nur durch einen Neustart des EuroOsmo[®] Programms wirksam.

Danach ist die Arbeitstemperatur innerhalb des Bereichs von 20 – 130°C einzugeben, ebenso die Temperaturdifferenz zwischen der Messzelle und dem Kopfthermostaten (0-6°C), die Messzeit und die RT Monitorzeit.

Mit der Messzeit wird der Zeitabschnitt für die Osmogrammfenster festgelegt. Diese Zeit ist nicht mit dem Timerwert t identisch, durch den der Zeitpunkt definiert wird, an dem der Signalwert als Messwert genommen wird. Die Messzeit muss größer als oder mindestens gleich groß wie der Timerwert sein. Dementsprechend muß auch die RT Monitorzeit größer als die Messzeit sein oder wiederum mindestens gleich groß.

Weiterhin sind das verwendete Lösungsmittel, der Name des Operators und schließlich die Startverstärkung einzugeben. Die Verstärkung wird automatisch während der Messung an die auftretenden Signalgrößen optimal angepasst. Sie ist für die Kurvenplots relevant. Die Messwertaufnahme erfolgt mit maximaler Verstärkung.

Alle Eingaben werden erst durch einen Klick auf die **Apply** Schaltfläche in die ausgewählte aktive Methode übernommen.

Die beiden anderen Möglichkeiten des unteren Bildschirmteils (**Calibration** und **sample List**) werden detailliert im Zusammenhang mit der Erklärung der drei Messmethoden beschrieben.

Durchführung der Messungen

Die folgenden Sektionen lesen Sie bitte immer im Zusammenhang mit den entsprechenden Kapiteln Seite 48 ff, in denen die Messungen ohne die EuroOsmo[®] Software beschrieben worden sind. An dieser Stelle wird nur auf die Veränderungen eingegangen, die sich aus der Nutzung der Software ergeben. Für das Osmometer spezifische Aspekte, wie zum Beispiel die Aufwärmzeiten oder die Techniken zum Tropfenwechsel werden hier nicht noch einmal beschrieben.

Vor dem Start **jeder** Messung oder Kalibrierung müssen Sie den Nullpunkt bestimmen, indem Sie ein AUTOZERO durchführen. Das ist unabhängig von der Messmethode (Osmolalität oder Molmassenbestimmung), die Sie durchzuführen beabsichtigen. Zu diesem Zweck verfahren Sie bitte wie im Kapitel Nullpunkteinstellung auf Seite 45 beschrieben und klicken Sie auf die



Schaltfläche anstelle der Betätigung der AUTOZERO Taste K-7000.

Bestimmung der Totalosmolalität

Kalibrierung

Nachdem Sie die Arbeitsmethode Osmol ausgewählt und das oben beschriebene allgemeine Setup durchgeführt haben, wählen Sie bitte sowohl auf der oberen, als auch der unteren Bildschirmhälfte die Kalibrierungsansicht aus. Geben Sie die Bezeichnung der Kalibriersubstanz und die Osmolalität Ihrer Standardlösung ein.

Nach dem Austausch des Lösungsmitteltropfen am Proben-Thermistor (links) starten Sie den Kalibrierungslauf durch Anklicken der Schaltfläche START CALIBRATION auf der rechten Bildschirmseite. Die Messung wird dann nach Ablauf der im Timer festgelegten Zeit t automatisch beendet. Neben der laufenden Nummer des Osmogramms wird die ausgewählte Verstärkung und der Messwert unter dem Osmogramm angezeigt (z.B. 1: 32/19.5).

Der Wert K_{calib} wird berechnet und im unteren Monitorteil angezeigt. K_{calib} erscheint dann automatisch als Mittelwert aller akzeptierten Messungen. Um sichere und zuverlässige Ergebnisse zu erhalten ist es empfehlenswert, mindestens drei Parallelmessungen vorzunehmen. Im Falle des Fehlschlagens einer Messung können Sie diese durch Löschen des 4 im Accept Kontrollfeld aus der Berechnung ausnehmen. Dieser Vorgang ist reversibel.

Messung

Wechseln Sie zum Measurement View und zur Sample List. Die Probe Nummer "1" wird automatisch ausgewählt. Zur Verifizierung der Kalibrierung ist es empfehlenswert, die Standardlösung noch einmal, nun als Probe zu messen. Nach der Plazierung des Lösungstropfens am linken Thermistor starten Sie die Messung durch Anklicken der START Schaltfläche auf der linken Bildschirmseite. Die Messung wird wieder nach Ablauf der Timerzeit t beendet.

Unter dem Osmogramm werden wiederum dessen Nummer, die Verstärkung und der Messwert angezeigt (vgl. Fig. 21). Die automatisch berechnete Osmolalität der Probe erscheint in der Sample List. Sie können jede Probe bis zu 20 mal messen. Alle Werte dieser Probe werden zum Mittelwert der Osmolalität zusammengefasst. Wiederum können fehlerhafte Läufe, z.B. wegen vom Thermistor abgefallenem Tropfen, außer Betracht gelassen werden, indem das 4 im Accept Kontrollfeld gelöscht wird. Der Wert in der Probenliste steht dann also für den Mittelwert aller akzeptierten Läufe. Deren Anzahl wird im #-Feld angezeigt.

Molmassenbestimmung <500g/mol

Wählen Sie den Modus **MW<500 aus** und führen Sie das Setup und das AUTOZERO wie oben beschrieben durch.

Kalibrierung

Wählen Sie **calibration view** im oberen rechten Teil des Bildschirms und **calibration** im unteren Teil aus.

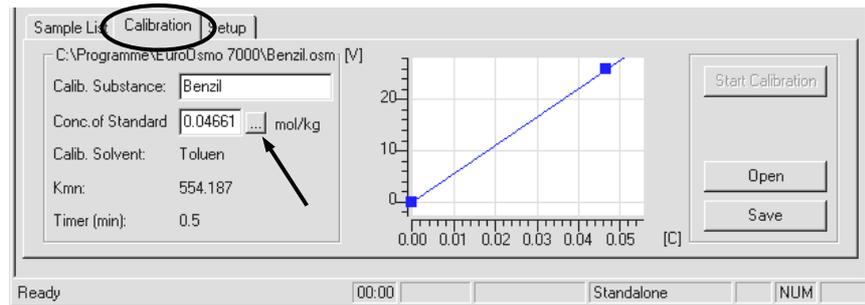


Abb. 24 Kalibrierungsfenster für die Molmassenbestimmung <500

Geben Sie den Namen Ihrer Kalibrierungssubstanz und die Konzentration Ihrer Standardlösung ein. Die Konzentration können Sie direkt in mol/kg eingeben. Sie können aber auch durch Anklicken der mit einem Pfeil in Abb. 24 markierten Schaltfläche ein zusätzliches Fenster öffnen (Abb. 25). Hier können Sie die Masse des Standards, seine Molmasse und die Masse des Lösungsmittels eingeben. Die Konzentration wird dann automatisch berechnet.

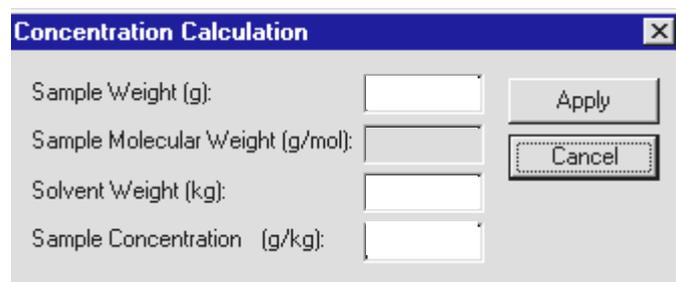


Abb. 25 Fenster zur Konzentrationsberechnung

Zur weiteren Durchführung der Kalibrierung verfahren Sie wie im Modus zur Osmolalitätsbestimmung. Es wird wieder dringlichst empfohlen, zumindest drei Kalibrierungsläufe auszuführen, um zuverlässige Werte zu erhalten. Ebenso empfehlen wir wieder, mit der Standardlösung einen Messlauf auszuführen, um die Korrektheit der Kalibrierung zu bestätigen.

Messung

Die Messungen werden in der gleichen Weise wie bei der Osmolalität durchgeführt. Der einzige Unterschied, den Sie zu beachten haben, ist die Eingabe der Konzentration Ihrer Probenlösung. Zu diesem Zweck öffnen Sie bitte das entsprechende Fenster mittels der Schaltfläche im oberen Teil des Measurement View, Abb. 26. Dieses Fenster gleicht dem in der Abb. 25, nur ist hier das Feld für die Molmasse grau unterlegt und nicht für Eingaben zugänglich.

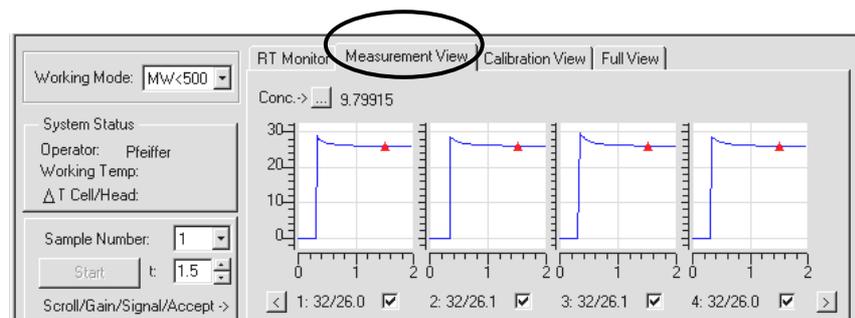


Abb. 26 Measurement View für die Molmassenbestimmung <500g/mol

Die Messergebnisse werden wieder im Detail unter den zugehörigen Osmogrammen angezeigt. Die aus den Messungen berechneten Molmassen erscheinen in der Probenliste. Sie stehen wieder für die Mittelwerte der akzeptierten Messverläufe, deren Anzahl im #-Feld steht.

Molmassenbestimmung >500g/mol

Kalibrierung

Wählen Sie calibration view im oberen rechten Teil des Bildschirms und calibration im unteren Teil aus. Im unteren Teil ist die Substanzbezeichnung einzugeben. Die einzelnen Konzentrationen Ihrer Standardlösungen sind für jeden einzelnen Lauf oberhalb der jeweiligen Osmogrammfenster einzugeben. Öffnen Sie die jeweiligen Konzentrationsberechnungsfenster mit Hilfe der Schaltflächen.

Nach Beendigung der Messung von mindestens einer zweiten Konzentration wird im unteren Bildschirmteil die Kalibrierungskurve angezeigt Abb. 27, die der Abb. 17 auf Seite 53 entspricht.

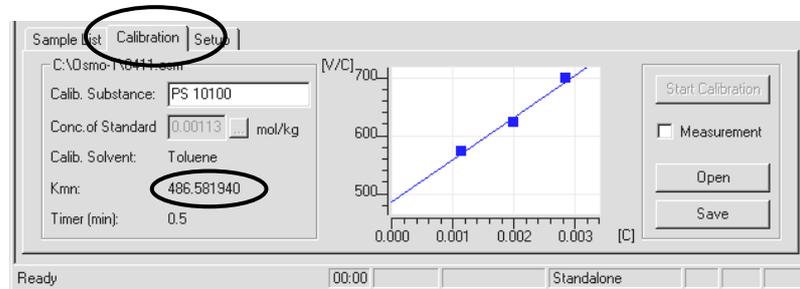


Abb. 27 Extrapolationskurve von Kalibrierungsmessungen

Diese Kurve wird mit jeder weiteren akzeptierten Messung komplettiert. Messungen gleicher Konzentration werden zu den jeweiligen Bildpunkten gemittelt. Die Regressionsgerade wird nach jeder Messung aktualisiert. Der aktuelle Wert K_{calib} aus der Extrapolation $MV/c = f(c)$ mit $c \rightarrow 0$ wird unter dem Lösungsmittel angezeigt.

Messung

Bei den anschließenden Messungen gehen Sie bitte entsprechend vor. Auch hier muss für jeden einzelnen Lauf die Konzentration separat eingegeben werden. Sobald Messungen bei mindestens zwei Konzentrationen durchgeführt worden sind, erscheint die Extrapolationskurve entsprechend Abb. 18 auf Seite 54 im unteren Bildschirmbereich, Abb. 28. Sie können zwischen dieser Messwertkurve und der Kalibrierungskurve durch Aktivierung oder Deaktivierung des Measurement Kontrollfeldes wechseln.

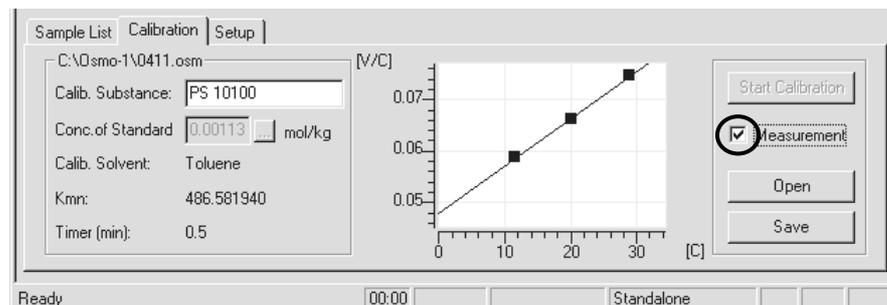


Abb. 28 Extrapolationskurve der Messwerte

Zu jeder Probe aus der Probenliste können sie bis zu insgesamt 20 Messungen bei bis zu 5 Konzentrationen durchführen. Die Mittelwerte für

jede Konzentration werden automatisch berechnet und die Extrapolation zu K_{mess} erfolgt in gleicher Weise wie die zu K_{calib} . Die aus K_{mess} und K_{calib} berechneten Molmassen erscheinen wiederum in der Probenliste.

Daten Speicherung

Alle mittels der EuroOsmo® Software erhaltenen Daten können Sie in Proben- oder Methodendateien speichern. Jede dieser Dateien beinhaltet Daten von

1. Methoden Setup
2. Kalibrierung
3. Messung
4. Auswertung

Die Dateien sind durch die Erweiterung .osm charakterisiert. Die Dateien werden in der üblichen Weise unter Nutzung der Windows Icons in der Iconleiste geöffnet und geschlossen.

Es kann immer nur eine Datei geöffnet werden. Deshalb erscheint bei jedem Öffnen einer Datei die Kontrollfrage, ob die bearbeitete Datei (gegebenenfalls untitled) zuvor gespeichert werden soll. Die gleiche Kontrollfrage erscheint beim Schließen des EuroOsmo® Programms.

Für eine mehrfache Verwendung von Kalibrierungsdaten können diese in separaten Kalibrierungsdateien gespeichert werden. Diese erhalten je nach Messmethode unterschiedliche Erweiterungen:

- .c1s Osmolalität
- .c1l Molmasse < 500
- .c1g Molmasse > 500.

Diese Dateien werden durch die Benutzung der entsprechenden Schaltflächen im unteren Kalibrierungsfenster geöffnet und gespeichert.

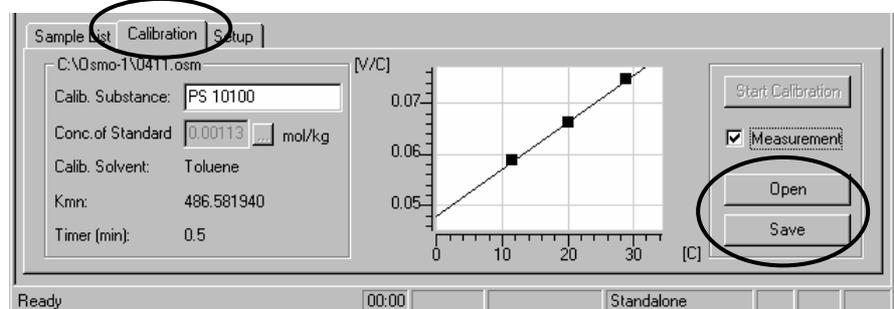


Abb. 29 Öffnung und Speicherung von Kalibrierungsdateien

Tips zur Fehlersuche

Problem	Mögliche Ursache und Beseitigungstip
Das Gerät arbeitet nicht.	Keine oder falsche Verbindung des elektrischen Anschlusses am Messzellendeckel. Überprüfen Sie den korrekten Sitz des Steckers.
Das Gerät zeigt auch nach der vorgegebenen Konditionierungszeit immer noch Overflow an	Die gewählte Temperatur ist zu niedrig. Sie muss mindestens 5° oberhalb der Umgebungstemperatur liegen.
Die Spritzenadeln verfehlen immer die Thermistoren	Die Thermistoren müssen nachjustiert werden. Der Abstand zwischen beiden sollte 0,9 cm betragen. Sie können auch die Ausrichtung der Kanülenführungen korrigieren, obwohl dies deutlich schwieriger ist.
Die Tropfen fallen immer ab und können nicht dauerhaft an den Thermistor appliziert werden	Spülen Sie die Thermistoren nacheinander mit Aceton, Detergentienlösung und destilliertem Wasser
Die Basislinie lässt sich nicht justieren	Defekter Thermistor, bitte drücken Sie die TEST Taste, verfahren Sie wie in „Bedienung Ihres Dampfdruckosmometers K-7000“ auf Seite 40
Basisliniendrift	Temperatur- und Dampfdruckgleichgewicht noch nicht erreicht. Warten Sie einige Zeit , ehe Sie mit der Messung fortfahren
Die Spritzen bluten	Entleeren Sie die Spritze und nehmen Sie den Kolben aus dem Zylinder und pressen ihn mit seinem Teflonkopf auf den Tisch, um die Dichtigkeit wieder zu erreichen
Nicht reproduzierbare Messwerte	Temperatur- und Dampfdruckgleichgewicht noch nicht erreicht. Warten Sie einige Zeit , ehe Sie mit der Messung fortfahren
	Die Tropfengröße ist nicht konsistent. Je kleiner der Tropfen, je größer ist der Messwert
	Die Einstellung des Gleichgewichtes erfolgt zu langsam. Arbeiten Sie bei höherer Temperatur oder nehmen Sie ein anderes Lösungsmittel
Kein konstanter Messwert	Flüchtige Substanz, Probe kann nicht gemessen werden
Auf den Messwertanstieg folgt ein plötzlicher Abfall	Zersetzung des Lösungsmittels, wählen Sie ein anderes
Unterschiedliche Form der Messkurven	Die Tropftechnik ist nicht konsequent einheitlich

Ersatzteile und Zubehör

Tabelle 15 Liste der Standardlieferung gemäß Bestellnummer A3701

A3703	Universal Thermistor (20 – 130°C), eingebaut im Osmometer
A0807	Glasbecher mit Glaszylinder, eingebaut im Osmometer
A0429	Packung mit 10 Dampfdochten
6x A0433	Spritze mit Teflon/Stahlkolben
Y1277	Reinigungslösung
Y1026	10 g Benzil, Standard
	Rekorderkabel
	Netzkabel
V7109	Bedienungsanleitung

Tabelle 16 Liste zusätzlichen Zubehörs

A0428	Spritze mit Glaskolben
A0430	Packung mit 12 Kanülen und 12 Federn
Y1241	Packung mit 10 Ampullen NaCl Kalibrierungslösung c=400 mOsmol/kg
A3702	EuroOsmo® 7000 Softwarepaket für Windows 95 / 98 / NT, (einschließlich RS232 Anschlusskabel

Datenblatt des Dampfdruckosmometers K-7000

Anwendungen	Bestimmung der mittleren Molmassen von Polymeren in wässrigen und organischen Lösungen Bestimmung der Gesamtosmolalität physiologischer Flüssigkeiten Externe Datenauswertung mit dem EuroOsmo 7000 Softwarepaket (A3702)
Molmassenbereich	Wässrig: ≤ 10.000 g/mol Organisch: 40 – 40.000 g/mol
Konzentrationsbereich	0,001 – 15 molal
Untere Detektionsgrenze	$3,3 \times 10^{-5}$ mol/kg in Toluol $1,7 \times 10^{-4}$ mol/kg in Wasser
Temperaturkonstanz	$\pm 1 \times 10^{-3}$ °C
Zelltemperaturbereich	20 – 130 °C
ΔT Kopft thermostat	max. 6 °C
Aufwärmzeiten	Π 40 °C: 0,5 h Π 60 °C: 1,0 h Π 100 °C: 1,5 h Π 130 °C: 2,0 h
Spritzen	1 ml Glaszylinder, Stahlkolben mit Teflonkopf
Minimale Lösungsmittelmenge	20 ml
Verstärkung	1 – 256
Stromversorgung	85 – 264 V / 47 – 440 Hz, 60 VA
PC Anschluss	RS 232
Rekorderausgang	1 V
Abmessungen	160 x 182 x 340 mm (BHT)
Gewicht	5,4 kg

Wir behalten uns das Recht für technische Veränderungen zur Verbesserung des Gerätes vor. Kleinere Änderungen sind selbsterklärend.

Warranty statement

The Vapor Pressure Osmometer K-7000 is guaranteed to be of quality material and workmanship. This warranty is valid for one year from the date of shipment. Warranty is void by improper operation, application and/or maintenance of the instrument. Any expendable components such as glass parts and thermistors are excluded from this warranty. This warranty is validated when, within fourteen days of receipt, the accompanying guarantee card is completed and returned to the manufacturer:

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert KNAUER GmbH
Hegauer Weg 38
D-14163 Berlin
Tel: 030 – 809 727 – 0
Fax: 030 – 801 50 10
e-mail: info@KNAUER.net
www.KNAUER.net

If we find a defect covered by the guarantee, repair or replacement, at our discretion, will be carried out free of charge. Packing and transport costs are borne by the purchaser.

Gewährleistungsbedingungen

Die werksseitige Gewährleistung für das Dampfdruckosmometer K-7000 beträgt ein Jahr ab Versanddatum. Unsachgemäße Bedienung des Gerätes und Folgen einer Fremdeinwirkung sind hiervon ausgenommen. Ebenso sind Verschleißteile wie z. B. Sicherungen, Dichtungen, Glasteile und Thermistoren sowie Verpackungs- und Versandkosten von der Gewährleistung ausgenommen. Bitte wenden Sie sich bei Fehlfunktionen Ihres K-7000 Dampfdruckosmometers direkt an das Herstellerwerk:

Wissenschaftliche Gerätebau
Dr. Ing. Herbert KNAUER GmbH
Hegauer Weg 38
D-14163 Berlin
Tel: 030 – 809 727 – 0
Fax: 030 – 801 50 10
e-Mail: info@KNAUER.net
www.KNAUER.net

Die Verpackung unserer Geräte stellt einen bestmöglichen Schutz vor Transportschäden sicher. Prüfen Sie dennoch jede Sendung sofort auf erkennbare Transportschäden. Bitte wenden Sie sich im Falle einer unvollständigen oder beschädigten Sendung innerhalb von drei Werktagen an das Herstellerwerk. Bitte unterrichten Sie auch den Spediteur von etwaigen Transportschäden.

Declaration of conformity

Konformitätserklärung

Manufacturer's name and address:**Herstellername und -adresse**

Wissenschaftliche Gerätebau

Dr. Ing. Herbert KNAUER GmbH

Hegauer Weg 38

14163 Berlin, Germany

Dampfdruckosmometer K-7000

Order Number, Bestellnummer **A3701**

complies with the following requirements and product specifications:

- Low Voltage Ordinance (73/23/EWG)
EN 61010-1 (08/2002)
- Engineering Guidelines (89/392/EWG)
- EMC Ordinance (89/336/EWG)
EN 6100-3-2 (10/2006)
EN 61326-1 (10/2006)

entspricht den folgenden Anforderungen und Produktspezifikationen:

- Niederspannungsverordnung (73/23/EWG)
EN 61010-1 (08/2002)
- Maschinenrichtlinie (89/392/EWG)
- EMV-Verordnung (89/336/EWG)
EN 6100-3-2 (10/2006)
EN 61326-1 (10/2006)

The product was tested in a typical configuration.

Das Produkt wurde in einer typischen Konfiguration geprüft.

Berlin, 2007-10-10



Alexander Bünz (Managing Director)

The CE Shield is attached to the rear of the instrument.

Das Konformitätszeichen ist auf der Rückwand des Gerätes angebracht.



KNAUER Software License Agreement

between

Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Knauer GmbH,
Hegauer Weg 38, D-14163 Berlin

(hereinafter Licensor or KNAUER)

and the software user (hereinafter Licensee)

for the software package

EuroOsmo[®]7000 V1.2 and handbooks.

In return for acquiring a license to use the software ("EuroOsmo[®]7000 V1.2") and related documentation, Licensee agrees to the following terms and conditions:

1. License.

This agreement grants the Licensee a license to

- (a) use the EuroOsmo[®]7000 V1.2 on a single computer system or, in the case of a multi-user or networked system which permits access to the EuroOsmo[®]7000 V1.2 by more than one user at the same time, at one (1) single working location, and
- (b) make one copy of the EuroOsmo[®]2000 V1.2 in machine readable form solely for back-up purposes provided your reproduce KNAUER's copyright proprietary legends and mark the back-up copy with the express wording "back-up copy Knauer GmbH, Hegauer Weg 38, D-14163 Berlin".

2. Restrictions.

Licensee may not distribute copies of the EuroOsmo[®]7000 V1.2 to others or electronically transfer the EuroOsmo[®]7000 V1.2 from one computer to another over a network. Licensee may not use the EuroOsmo[®]7000 V1.2 from multiple locations of a multi-user or networked system at any time. The EuroOsmo[®]7000 V1.2 contains trade secrets and in order to protect them the Licensee may not decompile, reverse engineer, disassemble, or otherwise reduce the Software to a human-perceivable form: LICENSEE MAY NOT MODIFY, ADAPT, TRANSLATE, RENT, LEASE, LOAN, RESELL FOR PROFIT, DISTRIBUTE, NETWORK OR ANY DERIVATIVE WORKS BASED UPON THE SOFTWARE OR ANY PART THEREOF. The Licensee must not remove from the program firm names, trademarks, logos, copyright notices and other markings or devices, which serve the protection of the program.

3. Ownership of EuroOsmo[®]7000 V1.2.

Licensee owns the media upon which the EuroOsmo[®]7000 V1.2 is recorded or fixed, but KNAUER, Licensor, retains title and ownership of the EuroOsmo[®]7000 V1.2 recorded on the original media and all subsequent copies of the EuroOsmo[®]7000 V1.2, regardless of the form or media in which or on which the original and other copies may exist. This license is not a sale of the EuroOsmo[®]7000 V1.2 or any copy.

4. Confidentiality.

Licensee agrees to maintain the EuroOsmo[®]7000 V1.2 in confidence and to not disclose the EuroOsmo[®]7000 V1.2 to any third party without the express written consent of KNAUER. Licensee further agrees to take all reasonable precautions to preclude access of unauthorized persons to the EuroOsmo[®]7000 V1.2. The Licensee must not pass copies of the program or the handbook to third persons.

5. Term.

This license is effective until January 1, 2020, unless terminated earlier. Licensee may terminate the license at any time by destroying the Software (including the related documentation) together with all copies or

modifications in any form. KNAUER will have the right to terminate the Licensee's license immediately if the Licensee fails to comply with all copies or modifications in any form. The termination does not raise Licensee's claim for refunding of the license fee.

6. Limited Warranty.

KNAUER warrants only that the media upon which the EuroOsmo®7000 V1.2 is furnished will be free from defects in material or workmanship under normal use at the time of delivery. KNAUER DOES NOT AND CANNOT WARRANT THE PERFORMANCE OR RESULTS LICENSEE MAY OBTAIN BY USING THE SOFTWARE OR DOCUMENTATION. THE FOREGOING STATES THE SOLE AND EXCLUSIVE REMEDIES KNAUER WILL PROVIDE FOR BREACH OF WARRANTY. EXCEPT FOR THE FOREGOING LIMITED WARRANTY, KNAUER MAKES NO WARRANTIES; EXPRESSED OR IMPLIED, AS TO NON-INFRINGEMENT OF THIRD PARTY RIGHTS, MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. Some countries do not allow the exclusion of implied warranties or limitations on how long an implied warranty may last, so the above limitations may not apply to the Licensee. This warranty gives the Licensee specific legal rights and the Licensee may also have other rights which vary from country to country.

7. Limitation of Liability.

IN NO EVENT WILL KNAUER BE LIABLE TO LICENSEE FOR ANY SPECIAL DAMAGES, INCLUDING ANY LOST PROFITS, LOST SAVINGS, OR OTHER INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES - EVEN IF KNAUER HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES, OR FOR ANY CLAIM BY ANY OTHER PARTY. Some countries do not allow the exclusion of limitation of special, incidental, or consequential damages, so the above limitation, or exclusion may not apply to the Licensee. Any liability is – in any case – limited to the license fee.

8. Limitation of Remedies.

KNAUER's entire liability and Licensee's exclusive remedy shall be:

- (a) the replacement of any media not meeting KNAUER's limited warranty which is returned to KNAUER, or
- (b) if KNAUER or its distributor is unable to deliver replacement media which is free of defects in materials or workmanship, the Licensee may terminate this Agreement by returning the EuroOsmo®7000 V1.2 and the Licensee's money will be refunded.

9. This license is not assignable.

The Licensee does not have the right to assign rights or grant sublicenses.

10. License Fee / Royalty.

For the license to use the contractual EuroOsmo®7000 V1.2 in the above defined scope and within the restrictions the Licensee pays to the Licensor a fee. The amount becomes due and payable upon delivery of the program discs. The license to use of the program commences with payment of the royalty.

11. If a provision of this Agreement should be invalid or become invalid, then the legal effect of the other provisions shall remain unchanged. Instead of an invalid provision, a valid provision shall be deemed to be agreed which comes closest to what the parties intended economically.

This document is the complete Agreement between KNAUER and Licensee; it supersedes all and any prior agreement or offer. All and any modifications of this agreement have to be made in writing.

For all controversies out of this Agreement, the District Court Berlin shall have exclusive jurisdiction. The applicable law shall be that of the Federal Republic of Germany (German Civil Code) excluding the UN-Code on the international sale of goods.