

36. LE LEGGI DI BEER E DI LAMBERT NELL'ESAME DELLE SOLUZIONI COLORATE AL FOTOMETRO DI PULFRICH.

In un recente lavoro ⁽¹⁾ mi sono occupato della microdeterminazione della nitroglicerina nelle pillole o compresse: la nitroglicerina viene estratta dalla preparazione con etere, il residuo ottenuto per evaporazione di questo solvente viene sottoposto a riduzione col metodo Devarda e l'ammoniaca separata per distillazione.

Si arriva così a quantità di ammoniaca dell'ordine di grandezza di mmg. 0,1 — 0,5 per le quali è molto conveniente il dosaggio col reattivo di Nessler per via colorimetrica.

Sul dosaggio di piccole quantità di ammoniaca per via colorimetrica usando come reattivo quello di Nessler e misurando l'intensità della colorazione col fotometro graduale di Pulfrich, esiste già una pubblicazione di C. Urbach ⁽²⁾. Delle esaurienti indicazioni e tabelle ivi contenute mi son servito in un primo tempo io stesso; senonchè, ottenendo anche nelle prove di controllo risultati costantemente inferiori a quelli calcolati, ho voluto prepararmi le soluzioni di confronto ed in base ai risultati ottenuti con queste, costruirmi di nuovo diagrammi e tabelle.

Il confronto con i risultati esposti dall'Urbach ha mostrato sensibili differenze.

Questo autore ha messo a punto numerosi metodi colorimetrici raccolti in due monografie ⁽³⁾. Nella grande maggioranza dei casi nei quali è stato esaminato il comportamento ottico delle soluzioni colorate al fotometro di Pulfrich, gli autori hanno concluso che esse seguono perfettamente le leggi di Beer e di Lambert.

Anzi lunghe e numerose tabelle sono state costruite col puro calcolo, moltiplicando cioè la estinzione per un fattore medio ottenuto sperimentalmente, unico per tutto il campo di validità della tabella.

In particolare, nel caso del colore che si ottiene aggiungendo il reattivo di Nessler a soluzioni diluitissime di ammoniaca, sia il diagramma che rappresenta le estinzioni in funzione della concentrazione di ammoniaca, sia quello che dà le estinzioni in funzione degli spessori di soluzione attraversata dal fascio di luce, sono linee rette.

Io ho voluto procedere ad un esame sistematico ed accurato delle soluzioni colorate che si ottengono per reazione fra piccole quantità di ammoniaca ed il reattivo di Nessler: i miei risultati conducono alla conclusione che dette soluzioni non seguono la legge di Beer relativa alla proporzionalità fra estinzione e concentrazione e — riferendomi naturalmente ai risultati che si ottengono col fotometro di Pulfrich nelle condizioni che descriverò — non seguono neppure la legge di Lambert relativa alla proporzionalità fra estinzione e spessore della soluzione attraversata dalla luce.

Descriverò prima le esperienze eseguite, coordinerò poi i risultati ottenuti in forma conclusiva, riservando per ultimo qualche cenno teorico.

Partendo da cloruro ammonico purissimo essiccato in stufa è stata preparata una soluzione N/1000 di questo sale: quantità variabili e crescenti di tale soluzione sono state portate con acqua distillata al volume di cc. 100 e questi aggiunti di 1 cc. di reattivo di Nessler. Nel modo di operare si è sempre cercato di attenersi alle modalità descritte dall'Urbach: in particolare il reattivo è stato preparato nel modo consigliato nella sua Nota (⁴).

Ciascuna di queste soluzioni colorate è stata esaminata al fotometro di Pulfrich, col filtro S₄₃ e sotto diversi spessori badando che tra l'aggiunta del reattivo alla soluzione e le ultime letture non si oltrepassi mezz'ora di tempo: ad ogni modo si è sempre controllata la perfetta costanza dell'intensità di colore ripetendo una delle prime letture.

Il valore segnato è la media aritmetica di due valori medi, uno dei quali è ottenuto da circa 5 letture fatte con una posizione delle vaschette, l'altro da altrettante letture fatte dopo aver scambiato le due vaschette di uguale spessore: quella contenente la soluzione in esame e quella contenente dell'acqua distillata aggiunta della stessa proporzione di reattivo.

Nella tavola 1 sono riportati i risultati.

TAVOLA I.

Concentrazione molare C (x 10 ⁵)	Spessore delle vaschette Cm	Trasparenza D %	Estinzione E	Coefficiente di estinzione $\frac{E}{s} = kc$	Coefficiente molare di estinzione $\frac{E}{sc} = k (\times 10^{-3})$				
					5	3	2	1	0.5
5	5	30,6	0,515	0,103	2,06	2,14			
	3	47,8	0,321	0,107					
7	5	19,5	0,710	0,142	2,03	2,11	2,15		
	3	36,0	0,444	0,148					
	2	50,0	0,301	0,150					
10	5	10,0	1,000	0,200	2,00	2,03	2,04	2,16	
	3	24,6	0,609	0,203					
	2	39,1	0,408	0,204					
	1	60,8	0,216	0,216					
20	5	1,22	1,914	0,383	1,91	1,93	1,95	2,03	
	3	6,94	1,159	0,386					
	2	16,6	0,780	0,390					
	1	39,3	0,406	0,406					
30	5	0,18	2,745	0,549	1,83	1,83	1,83	1,91	
	3	2,25	1,648	0,549					
	2	7,95	1,100	0,550					
	1	26,8	0,572	0,572					
50	3	0,48	2,319	0,773	1,55	1,55	1,55	1,59	1,68
	2	2,80	1,553	0,776					
	1	16,1	0,793	0,793					
	0,5	38,0	0,420	0,840					

Nel fotometro di Pulfrich il fascio di luce parallela che attraversa la soluzione colorata ha la sezione massima indicata con 100: la superficie di sezione dell'altro fascio viene ridotta — diminuendo l'ampiezza regolabile di una finestrella — fino a tanto che le due metà in cui è diviso il campo dell'oculare mostrano uguale chiarezza. *D* rappresenta appunto la superficie relativa della seconda finestrella, od anche la quantità di luce che ha attraversato la soluzione in esame, fatta uguale a 100 quella che ha attraversato l'altra vaschetta. Si legge direttamente sul tamburo e si chiama « trasparenza » (Durchlassigkeit).

La legge di Lambert afferma che la luce assorbita da ogni successivo strato infinitesimo di luce è sempre la stessa frazione di quella che arriva a ciascun strato. La legge di Beer afferma poi che detta frazione è proporzionale alla concentrazione della sostanza assorbente.

Eseguite le integrazioni, la prima si rappresenta con l'espressione:

$$I = I_0 10^{-k's}; \quad (1)$$

la seconda con l'espressione del tutto simile:

$$I = I_0 10^{-k''c}; \quad (2)$$

dove I , I_0 , c , s rappresentano rispettivamente l'intensità della luce emergente e della luce incidente (⁵), la concentrazione della sostanza assorbente (supposto che il solvente sia del tutto trasparente) e lo spessore dello strato di soluzione attraversato dal fascio di luce; k' e k'' rappresentano delle costanti. Di solito vengono riunite nell'espressione comprensiva:

$$I = I_0 \cdot 10^{-kcs} \quad (3)$$

dalla quale si deduce:

$$I/I_0 = 10^{-kcs}; \log. I/I_0 = -kcs = -E$$

e poichè I/I_0 , come abbiamo detto è rappresentato dalla « trasparenza » D %, si ottiene infine:

$$\log. D = -E; \log. 1/D = E.$$

L'estinzione E è perciò rappresentata numericamente dal cologaritmo di D (⁶). Dall'estinzione, dividendola per s , spessore della vaschetta adoperata nell'osservazione, si ottiene kc , il coefficiente di estinzione, e da questo, dividendolo per la concentrazione c , si ottiene k il coefficiente molare di estinzione, quella quantità cioè che, se fossero valide le leggi di Lambert e di Beer, dovrebbe risultare costante per la stessa sostanza assorbente, qualunque siano le condizioni di concentrazione e di spessore nelle quali si fanno le osservazioni.

I risultati delle osservazioni, già riuniti nella tavola 1, sono riassunti graficamente nelle fig. 2 e 3.

La prima mostra, per ciascuna soluzione esaminata (c è costante per ciascuna linea), come variano i valori di k col variare dello spessore delle vaschette; la seconda mostra come varia k col variare della concentrazione della soluzione quando le osservazioni si fanno con la stessa vaschetta (s costante per ciascuna linea).

Già si vede chiaramente come le soluzioni esaminate non seguono nè la legge di Lambert (fig. 2) nè quella di Beer (fig. 3). Ma per maggior evidenza converrà determinare quantitativamente gli scostamenti.

Dapprima fissiamo per k un valore entro certi limiti arbitrario per ciascuna soluzione e lo supponiamo costante per qualunque valore di s , come se le soluzioni seguissero la legge di Lambert; e siccome questa legge è seguita da ciascuna delle nostre soluzioni per valori di cs superiori a 100

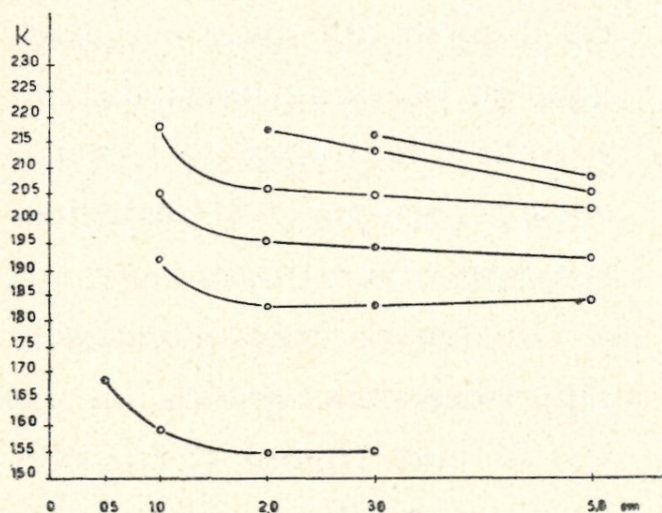


FIG. 2.

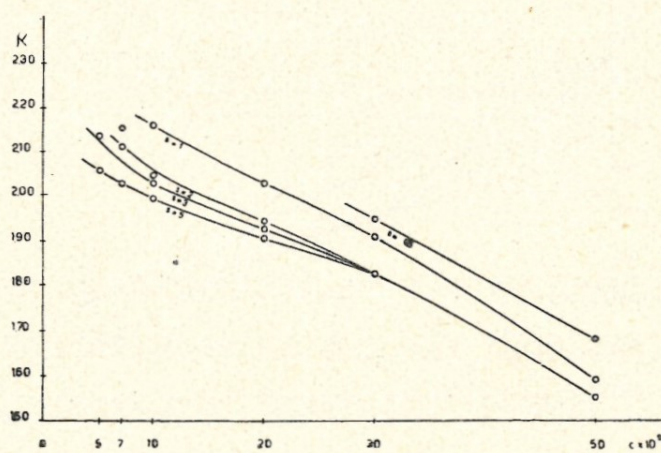


FIG. 3.

converrà assumere per k di riferimento quello trovato (o calcolato *) per spessori uguali o superiori a 100/c.

Esso risulta:

per $c =$	50	30	20	10	7	5
$k =$	1,55	1,83	1,91	1,96*	1,96*	1,96*

Questi valori portati nel diagramma *a* della fig. 4 ci mostrano come varia il k delle nostre soluzioni di differente concentrazione quando siano osservate sotto spessori per ciascuna di esse sufficientemente forti.

Un andamento assai simile mostra la linea che si ottiene nello stesso modo quando si scelgano spessori per i quali $cs = 25$.

Si noti bene, per maggior chiarezza, che le variazioni di k rappresentate da queste curve sono variazioni osservate sperimentalmente (o ridotte) e dovute unicamente al cambiamento di concentrazione; sono esenti perciò dagli errori o scostamenti dipendenti dalla non osservanza, da parte delle soluzioni, della legge di Lambert. Si conclude che le soluzioni colorate che si ottengono aggiungendo il reattivo di Nessler a soluzioni dilui-

tissime di ammoniaca non seguono la legge di Beer e, pur restando nel ristretto campo delle soluzioni 0,00002 — 0,00050 N, gli scostamenti raggiungono l'entità del 19-22 %.

Ora, per ciascuna delle curve della fig. 2 si misurino gli scostamenti dalla legge di Lambert relativi ai vari spessori di soluzione e più precisamente le differenze fra i k sperimentalmente trovati (per i vari $s = 5, 3, 2$, ecc.) ed il k fondamentale già fissato (1,55 per $c = 50$; 1,83 per $c = 30$;

ecc.); queste differenze si aggiungano ad una ordinata fondamentale che si fissa uguale a 1,55 una volta per sempre (il k fondamentale relativo a $c = 50$).

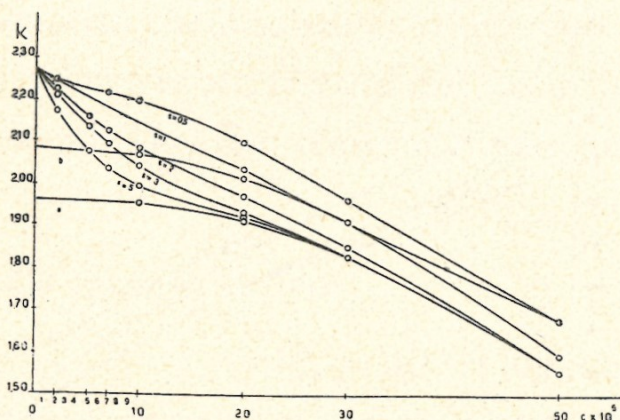


FIG. 4.

Si ottiene in tal modo nella rappresentazione grafica un fascio di linee (figura 5) che non ha alcun significato utile se non quello di mostrare che, opportu-

namente completato, convergerebbe alle due estremità cioè in corrispondenza a spessori molto piccoli, tendenti a zero, ed a spessori molto forti di 3-5-10 e più cm.

Se però a ciascun valore di k si attribuisce una ascissa s' tale che moltiplicata per $c = 50$ dia il prodotto $s \times c$ ad esso relativo ($s' = s \times c/50$) si ottiene (7) la rappresentazione grafica della fig. 6.

Il significato della curva è facilmente comprensibile: mediante due operazioni successive, i valori di k sono stati tutti « corretti » degli scostamenti attribuibili alla mancata osservanza della legge di Beer; in particolare: 1) con la prima correzione si è attribuito a tutte le soluzioni — esaminate sotto spessori sufficientemente grandi ($c \times s = 100$) — lo stesso, coefficiente molecolare di estinzione; 2) con la seconda, col calcolo, si sono « concentrate » le soluzioni fino a $c = 50$ e corrispondentemente diminuiti gli spessori sempre rispettando la legge di Beer, come se i k fossero stati tutti ricavati da soluzioni di $c = 50$.

Una linea di andamento simile si avrebbe avuta se avessimo dato all'ordinata fondamentale il valore, ad esempio, di $k = 1,83$, quello della

curva relativa a $c = 30$, ed avessimo portato gli scostamenti come ordinate, in corrispondenza di ascisse $cs/30$.

Per soluzioni di concentrazione variabile da 0 a 50 e per spessori variabili da 0 a 5 cm., gli scostamenti dalla legge di Lambert variano dal 0 al 16 %.

Nella figura 6 le ordinate relative all'incontro della curva riportata e delle altre che si sarebbero potute disegnare con l'asse delle ordinate (s tendente a 0) hanno preciso significato fisico: rappresentano il coefficiente mo-

lare di estinzione « vero » per soluzioni di concentrazione $c = 50$ (curva segnata), $c = 30$, $c = 20$, ecc. (curve non disegnate) e per luce monocromatica di lunghezza d'onda di $m\mu$ 434.

Non altrettanto preciso significato hanno — per le linee a e b della figura 4 — le ordinate corrispondenti ad ascisse per c tendente a 0.

Se però le soluzioni di concentrazione $c = 50$ (k vero = circa 1,86) posseggono un k inferiore a quello delle soluzioni di c tendente a 0 di 0,41 (ottenuto da 1,96—1,55 oppure da 2,09—1,68, vedi fig. 4, diagrammi a e b), il k « vero » delle soluzioni di concentrazione tenden-

te a 0, per la stessa luce monocromatica, sarà $1,86 + 0,41 = 2,27$ ed anche questo è un numero che ha il significato fisico di « coefficiente molare di estinzione per diluizione tendente all'infinito ».

Ciò significa che tutte le linee della figura 3 prolungate convergerebbero sull'asse delle ordinate all'altezza corrispondente a $k = 2,27$.

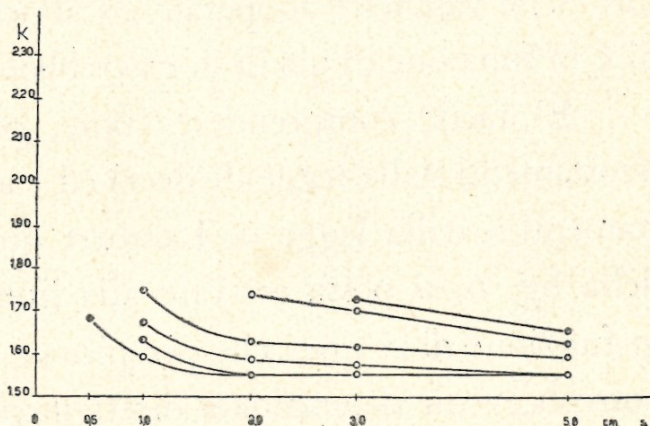


FIG. 5.

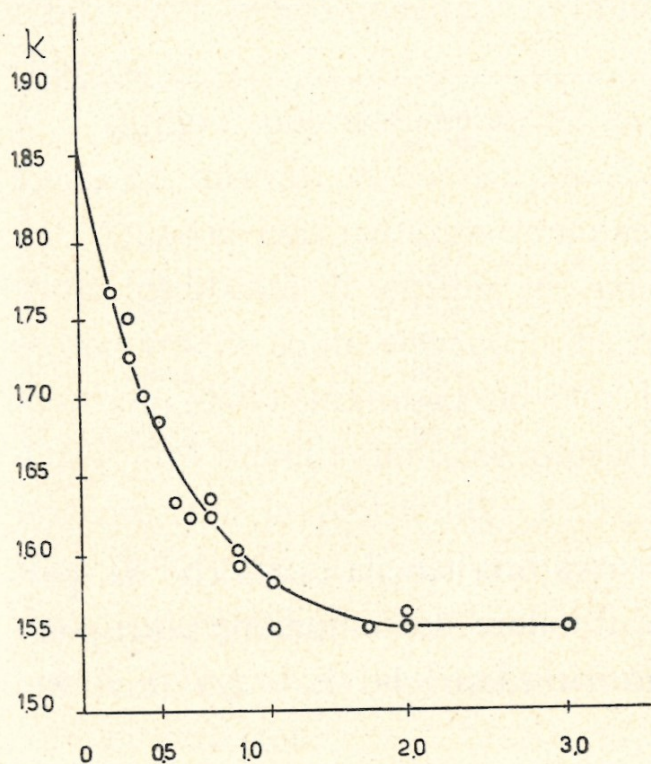


FIG. 6.

Abbiamo detto che, se le nostre soluzioni seguissero la legge di Lambert, cioè se si operasse con luce esattamente monocromatica di lunghezza d'onda $m\mu$ 434, i valori di k sarebbero del tutto indipendenti dallo spessore delle vaschette adoperate ed allora le curve che rappresentano i valori di k in funzione di quelli di c avrebbero l'andamento delle a e b della fig. 4.

E' facile comprendere come, partendo dalla curva a della fig. 4 (scostamenti dalla legge di Beer) ed « aggiungendo » alle ordinate gli « scostamenti » dalla legge di Lambert quali si possono desumere dalla curva della fig. 6, si possa arrivare alla linea esatta che dà i k « sperimentali » in funzione di c , linea che per piccole concentrazioni e piccoli spessori non potrebbe venir determinata direttamente perchè per piccoli assorbimenti le letture all'apparecchio son affette da errori percentuali notevoli.

L'esempio che segue mostra come si può ottenere tale curva per c fino a 50 e per la vaschetta di 3 cm. di spessore (tav. 7 e diagramma 4).

TAVOLA 7.

$c \times 10^5$	$\frac{c \times 3}{50} \times 10^5$	Δk	Ordinate della tav. 4A	Somme
50	3	—	1,55	1,55
30	1,80	0,005	1,82	1,825
20	1,20	0,022	1,91	1,932
10	0,60	0,085	1,995	2,04
7	0,40	0,125	1,96	2,085
5	0,30	0,160	1,965	2,125
2	0,12	0,245	1,97	2,215

Da questa si può costruire ora la curva o la tabella esatta che dà, per gli esami fatti con vaschette da 3 cm., il valore dell'estinzione corrispondente ad ogni concentrazione. Basterà ricordare che $E = kcs$ (tav. 8).

La legge di Beer è una legge limite e vale solo per i casi nei quali le molecole sciolte non influiscono reciprocamente e con le molecole del solvente (forze di van de Waals fra molecole, variazioni nella polarità delle molecole, fenomeni di risonanza quantica, di idratazione, di idrolisi, di tautomeria, ecc.): la non osservanza della legge di Beer da parte delle soluzioni colorate, in misura più o meno accentuata la possiamo perciò ritenere un fenomeno generale.

TAVOLA 8.

$c \times 10^5$	$k \times 10^{-3}$	E	$c \times 10^5$	$k \times 10^{-3}$	E
0	2,270	0,000	28	1,845	1,550
2	2,215	0,133	30	1,825	1,642
4	2,153	0,258	32	1,800	1,729
5	2,125	0,319	34	1,775	1,810
7	2,085	0,438	36	1,750	1,891
10	2,040	0,612	38	1,725	1,966
12	2,015	0,726	40	1,700	2,040
14	1,990	0,836	42	1,670	2,105
16	1,970	0,946	44	1,640	2,167
18	1,950	1,052	46	1,610	2,222
20	1,932	1,158	48	1,580	2,275
22	1,910	1,260	50	1,550	2,325
24	1,890	1,360			

Il contrario possiamo dire invece della legge di Lambert: per una luce esattamente monocromatica essa deve ritenersi una legge esatta entro i limiti dell'approssimazione comunemente richiesta nelle ricerche di chimica.

Ciò lo si può dedurre anche da considerazioni elementari tratte dalla teoria dei quanti.

Quando una radiazione monocromatica di intensità I_0 entra in uno strato assorbente di spessore ds , possiamo pensare che, per ogni cmq. e secondo, nello strato entrano $I_0/h\nu$ fotoni: il numero dei fotoni che verrà assorbito dallo strato considerato sarà proporzionale al numero degli « urti » fra fotoni e molecole assorbenti; non ad ogni urto si avrà un assorbimento, ma la probabilità che si abbia l'assorbimento dipenderà dallo stato della molecola assorbente (scostamento dalla legge di Beer) ma non dalla concentrazione (fondamento della legge di Beer) e neppure dall'intensità della radiazione (fondamento della legge di Lambert).

Si avrà cioè:

$$\frac{dI}{h\nu} = -WZ = -WK \frac{I}{h\nu} cds \quad (4)$$

dove Z rappresenta il numero degli urti, proporzionale al numero di fotoni $I/h\nu$ ed al numero delle molecole assorbenti cds . Questa espressione semplificata ed integrata conduce alla stessa formula 3 della legge di Beer-Lamber che abbiamo già scritto a pag. 578 nella quale k sostituendosi a

WK della 4 assume le eventuali variazioni di W dipendenti dallo « stato delle molecole assorbenti » (8).

Se le soluzioni da noi esaminate non seguono la legge di Lambert ciò avviene per un motivo facilmente comprensibile. La luce che ha attraversato il filtro S₄₃ non è esattamente monocromatica: tenendo conto della ripartizione dell'energia luminosa nello spettro della lampada che si adopera e della notevole differenza di sensibilità del nostro occhio alle differenti radiazioni, essa può venir rappresentata con la « curva di trasparenza » *a* della figura 9: per alcuni casi di assorbimento non molto

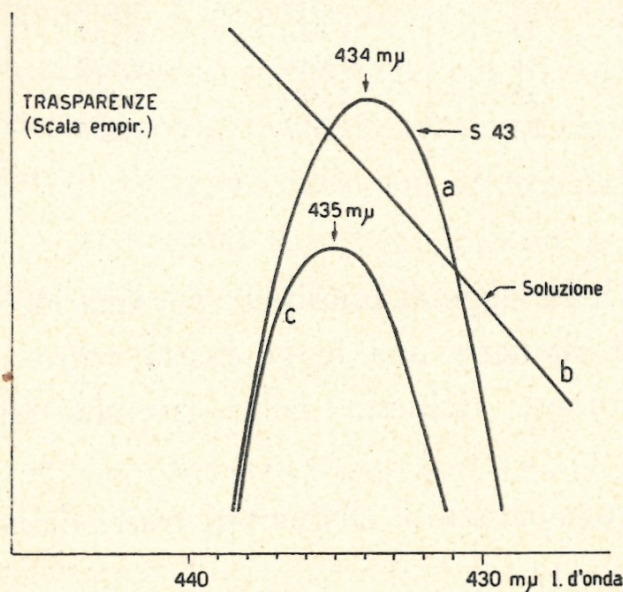


FIG. 9.

differenti nel tratto di spettro compreso fra $m\mu$ 430 e 440 essa si comporta come luce monocromatica di lunghezza d'onda $m\mu$ 434. Quando, invece, come nel caso del color giallo ottenuto da soluzioni diluitissime di ammoniaca per aggiunta dal reattivo di Nessler, la curva di trasparenza (*b* della fig. 9) in quel tratto di spettro è molto inclinata, i primi strati della soluzione attraversati della

luce funzionano da filtro addizionale rispetto ai successivi e la « curva di trasparenza » della luce cambia col procedere del fascio nella soluzione colorata (curva *c*). La luce viene a comportarsi come luce monocromatica ma con lunghezza d'onda che varia da 434 verso 440 $m\mu$, da una regione cioè nella quale la soluzione mostra un maggior assorbimento ad un'altra nella quale la soluzione mostra un assorbimento inferiore.

Il risultato è che soluzioni più concentrate o di spessore maggiore assorbono relativamente di meno rispetto a soluzioni più diluite od esaminate in spessori più piccoli. Che ciò corrisponda al vero e che gli scostamenti dalla legge di Lambert non siano imputabili ad altra causa, come ad esempio a difetto nella gradazione del tamburo girevole del fotometro o ad errori sperimentali e di lettura, lo provano i risultati ottenuti nella seguente esperienza.

Una soluzione di $c = 50$ posta in vaschetta da cm. 0,5 viene esaminata al fotometro di Pulfrich nelle seguenti quattro differenti condizioni:

1) nel modo normale; 2) interponendo da ciascuna parte una vaschetta da 1 cm. contenente una soluzione colorata di concentrazione 10; 3) ugualmente con una soluzione di concentrazione 50; 4) e con una soluzione di concentrazione 100.

I risultati ottenuti sono riportati nella seguente tavola:

TAVOLA 10.

$c \times 10^5$	0	10	50	100
D	38,3	39,4	41,0	41,7
E	0,417	0,405	0,387	0,380
$E/s = k c$	0,834	0,810	0,774	0,760
$k \times 10^{-3}$	1,668	1,620	1,548	1,520

Il coefficiente molare di estinzione cambia da 1,67 a 1,52 e questa variazione diminuisce col procedere dell'assorbimento: da $c=0$ a $c=50$, $\Delta k=0,12$; da $c=50$ a $c=100$, $\Delta k=0,03$ concordemente a quanto si rileva dall'andamento dell'ultima curva della fig. 2.

RIASSUNTO

In numerosi lavori eseguiti col fotometro di Pulfrich troppo spesso diagrammi e tavole numeriche vengono costruiti « supponendo » esattamente osservata la legge di Beer-Lambert per tutto il campo di osservazione preso in considerazione.

L'A. eseguendo una ricerca sistematica sulle soluzioni gialle che si ottengono aggiungendo il reattivo di Nessler a soluzioni diluitissime di ammoniaca mette in rilievo i notevoli scostamenti osservati rispetto alla teoria e mostra come si possono separare gli scostamenti dovuti alla mancata osservanza della legge di Beer da quelli dovuti alla mancata osservanza della legge di Lambert. Dà infine i diagrammi e le tavole che permettono, per il caso studiato, di risolvere il normale quesito analitico, di risalire cioè all'esatta concentrazione cercata dalla « trasparenza » letta all'apparecchio.

Roma. — Istituto di Sanità Pubblica - Laboratorio di Chimica.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) Questi Rendiconti, (1939).
(²) Mikrochemie, 11, 50 (1932).
(³) « Stufenphotometrische Trinkwasseranalyse », E. Haim, Wien - Leipzig, 1937. - « Stufenphotometrische Adsorptionbestimmungen in der medizinischen Chemie », E. Haim, Wien - Leipzig, 1937.
(⁴) V. nota (²).
(⁵) Più precisamente della luce che « entra » nel liquido.
(⁶) D espresso, naturalmente, come frazione propria, cioè come frazioni dell'unità. A proposito di unità di misura notiamo una volta per sempre che s si esprime in cm e c in molarità per litro. Siccome però c nella nostra trattazione assume valori molto piccoli compresi fra 10^{-3} e 10^{-5} , i valori della molarità vengono moltiplicati per 10^5 anche se per brevità si continuerà a scrivere c anziché $c \times 10^5$. Analogamente per k che assume i valori dell'ordine di grandezza di 10^3 , questi verranno sostituiti per comodità con i valori di $k \times 10^{-3}$, anche se per brevità si continuerà a scrivere k anziché $k \times 10^{-3}$.
(⁷) Omettiamo, per brevità, la tabellina del calcolo.
(⁸) Non si vuole con ciò escludere che nel caso particolare la mancata osservanza della legge di Beer sia dovuta ad altre cause e segnatamente alla non proporzionalità fra concentrazione dell'ammoniaca e concentrazione della sostanza che si forma per reazione col reattivo.
-
-
-