



Dipartimento di
Scienze
Ambientali,
Informatica e
Statistica DAIS

“MODULO IN PREPARAZIONE ALLE PROFESSIONI”

SETTORE: CHIMICA ANALITICA AMBIENTALE_ PLS
AZIONE 4

L'acqua, la linfa del nostro pianeta. Lo studio della qualità dell'ambiente attraverso la caratterizzazione analitica dell'acqua. Campionamento e analisi chimiche



Piano Nazionale
Lauree Scientifiche
Progetto:
Scienze Naturali e Ambientali

ALTERNANZA SCUOLA LAVORO DETERMINAZIONE DEI NITRITI IN ACQUA



Prof. A. Gambaro

QUALITÀ DELL'ACQUA

caratteristiche:

- **organolettiche**
- **fisiche**
- **chimiche**
- **biologiche**

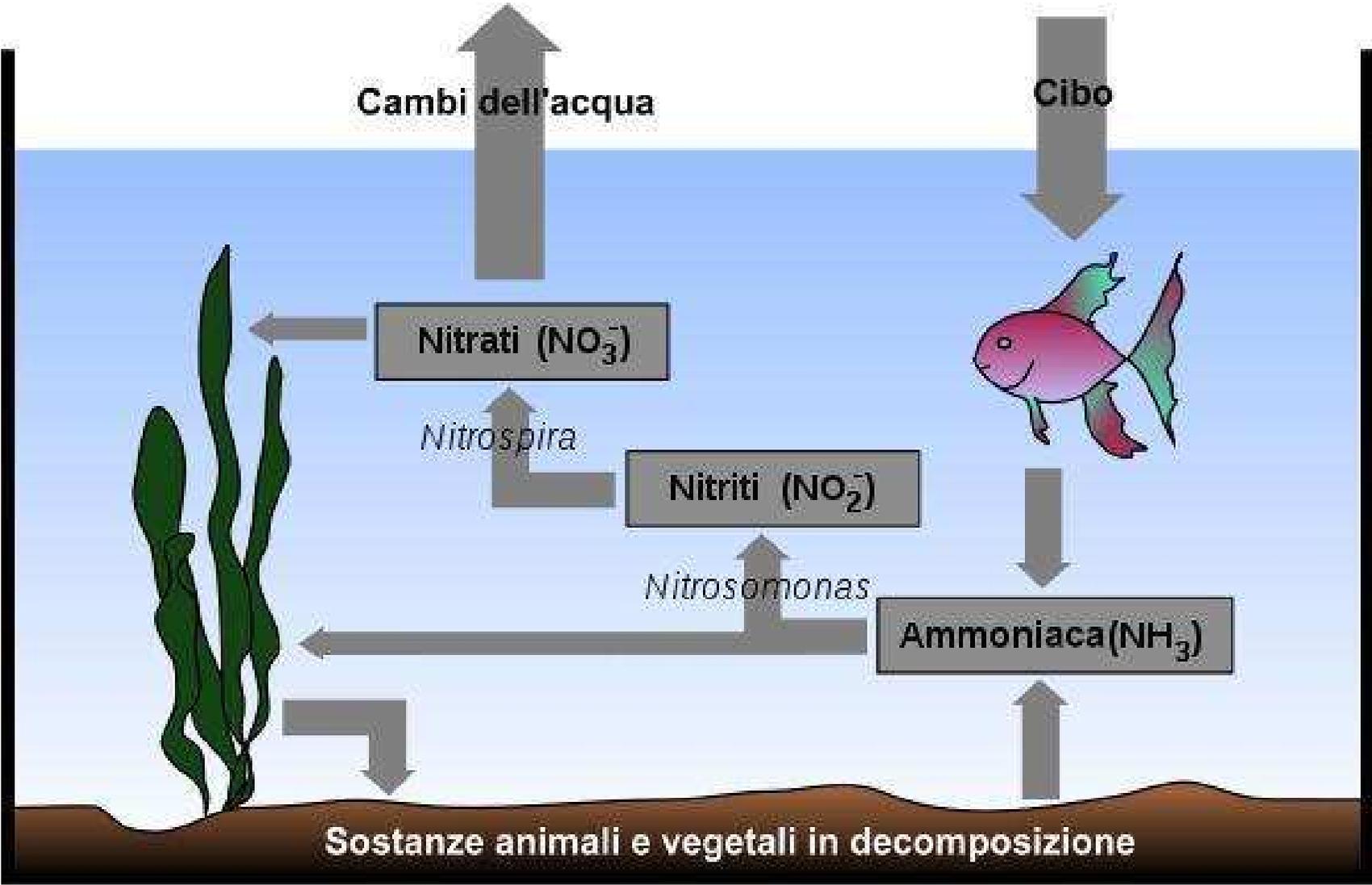
✓ Odore
✓ Sapore
✓ Colore
✓ Torbidità

✓ Temperatura (12° C)
✓ Conducibilità elettrica
✓ pH (6,5-9,5)

✓ Durezza
✓ Fluoro (1,5 mg/l)
✓ Carico organico
✓ COD=azoto organico+carbonio organico
✓ Ammoniaca (0,5 mg/l)
✓ Nitriti (0,5 mg/l)
✓ Nitrati (50 mg/l)
✓ Cloruri (250 mg/l)
✓ Inquinanti

✓ Indicatori di superficialità
✓ Indicatori di contaminazione fecale

CICLO AZOTO IN ACQUA



Il ciclo dell'Azoto

L'azoto può essere presente nelle acque superficiali in forma organica, ammoniacale, nitrosa e nitrica. Di per sé queste forme non presentano elevata tossicità ma non devono essere superati certi limiti. La loro presenza infatti, ad eccezione dell'azoto nitrico, rappresenta un indizio sicuro di processi putrefattivi in atto di prodotti di origine organica e quindi è un indice di inquinamento. Le forme di azoto ammoniacale, nitroso e nitrico rappresentano gli ultimi stadi della decomposizione di sostanze azotate di provenienza animale e vegetale secondo la sequenza ossidativa:



I nitriti (azoto nitroso) rappresentano uno stadio intermedio nel ciclo dell'azoto. Generalmente si originano dall'ossidazione dell'ammoniaca proveniente da processi di biodegradazione; più raramente possono derivare da processi di riduzione di nitrati. Poiché i nitriti sono trasformati facilmente e rapidamente in nitrati, la loro presenza, anche in tracce, è indizio di processo biologico in atto nell'acqua. Inoltre, i nitriti possono essere veicolati nelle acque superficiali da scarichi di particolari industrie in cui vengono impiegati come inibitori di fenomeni di corrosione.

Limiti consentiti nelle acque destinate al consumo umano

MOLECOLA	LIMITE MASSIMO CONSENTITO (D.lgs. 31/2001)	METODO ANALITICO IMPIEGATO
Nitriti (NO_2^-)	0,50 $\mu\text{g/L}$	Aggiunta del reattivo di Griese e successivo dosaggio con spettrofotometro ad assorbimento molecolare
Nitrati (NO_3^-)	50 $\mu\text{g/L}$	Cromatografia ionica
Ammoniaca (NH_3)	0,50 $\mu\text{g/L}$	Aggiunta del reattivo di Nessler e successivo dosaggio con spettrofotometro ad assorbimento molecolare

Determinazione spettrofotometrica dei nitriti in acqua di mare. (uso del reattivo di Griess)

Premessa

I Nitriti sono sempre presenti in campioni di acqua naturale. Assieme a Nitrati e ammoniaca, costituiscono il cosiddetto “azoto inorganico”. Sono un’importante indicatore della salute di un ecosistema acquatico.

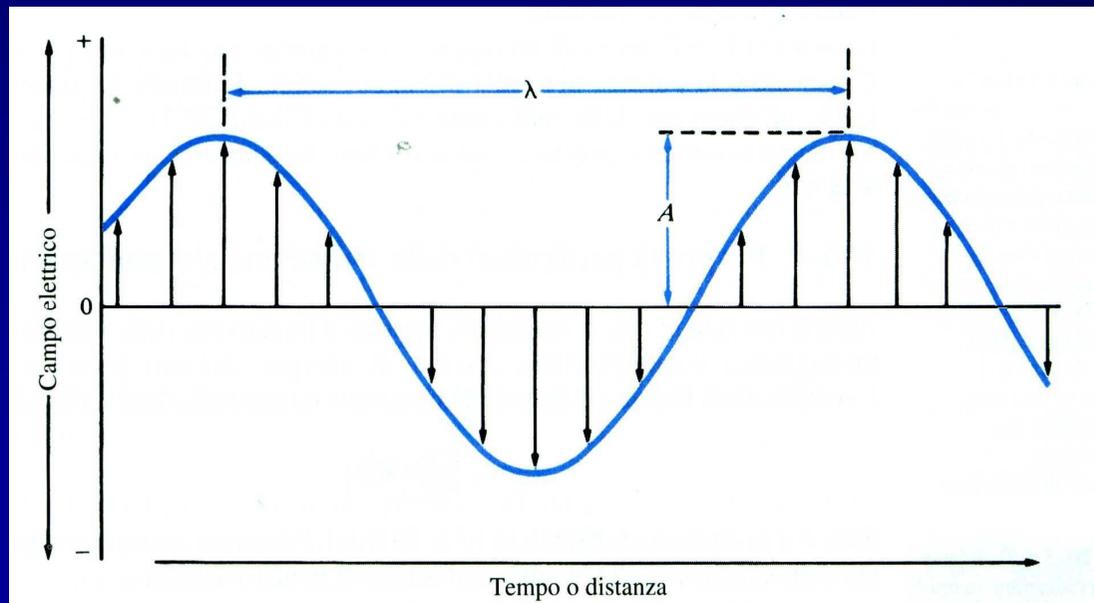
Valori elevati di nitriti sono indice di eutrofizzazione, di carenza di ossigeno ed in particolare della prevalenza di un forte processo di riduzione in corso (nitrato → nitrito → ammoniaca). Indicano altresì la presenza indiretta di materia organica. Anche il rapporto tra la conc di nitrato e quella di nitrito è un indice importante per capire quale sia la situazione “riduttiva” dell’ecosistema acquatico.

Nell’acqua potabile, la presenza di nitriti anche solo in tracce è un segnale di allarme: indica infatti la presenza di materia organica “recente”. (l’azoto organico è al più basso stato di ossidazione; lo ione nitrito, in cui N è ad uno stato di ossidazione intermedio, può indicare che è in corso la ossidazione del suddetto materiale organico).

SPETTROSCOPIA

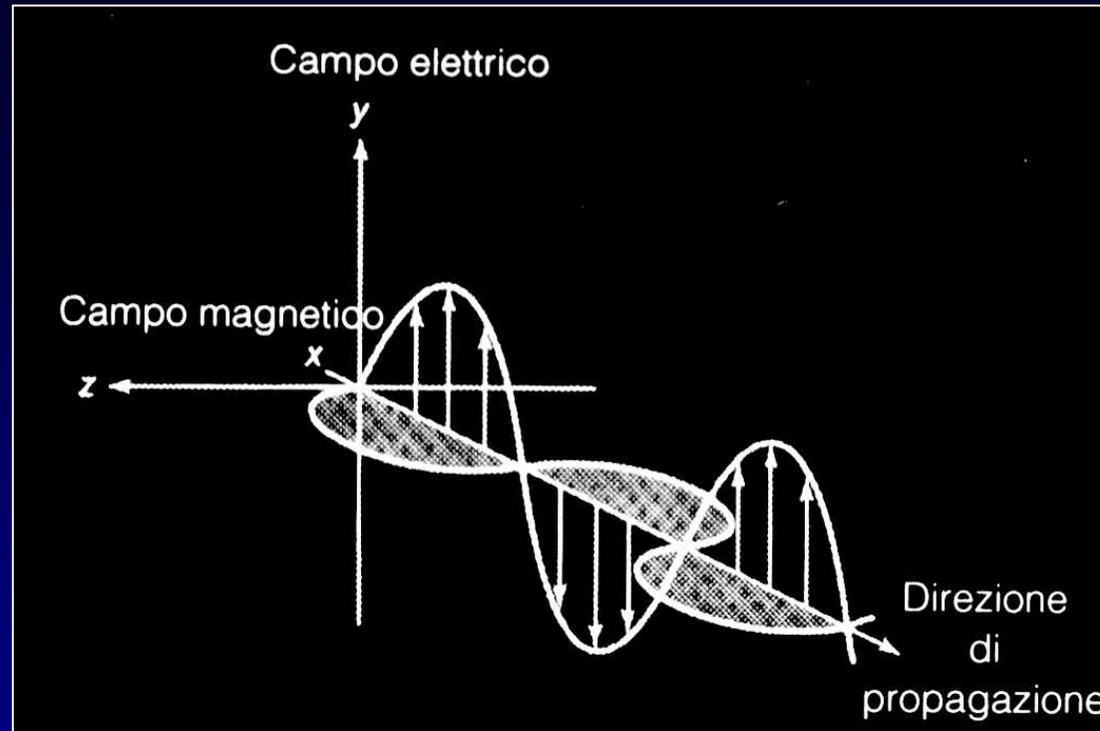
Con il termine *radiazione* s'intende normalmente ogni forma di energia che si propaga mediante onde o particelle in moto (luce, suono, raggi cosmici, radioattività, ecc.). Le radiazioni utilizzate in spettroscopia per *perturbare* la materia, e quindi ottenere informazioni sull'analita di interesse, sono prevalentemente onde elettromagnetiche.

La *radiazione elettromagnetica* è una forma di energia trasmessa attraverso lo spazio ad enorme velocità. Molte delle proprietà delle radiazioni elettromagnetiche sono convenientemente descritte trattando le radiazioni come onde sinusoidali caratterizzate da lunghezza d'onda, λ , frequenza, ν , velocità, c , e ampiezza, A .



Diversamente da altri fenomeni ondulatori (per es. le onde sonore), la radiazione elettromagnetica non richiede alcun mezzo di supporto per propagarsi nello spazio, pertanto si propaga velocemente anche nel vuoto.

In realtà....



Il modello ondulatorio fallisce nel rendere conto di fenomeni associati con l'assorbimento e l'emissione di energia radiante. Per questi processi, la radiazione elettromagnetica deve essere trattata come una corrente di particelle discrete o pacchetti d'onda chiamati *fotoni* o *quanti*.

L'energia di un fotone è proporzionale alla frequenza della radiazione. Questi due aspetti della radiazione, la natura ondulatoria e quella corpuscolare sono complementari.

L'**ampiezza** A dell'onda sinusoidale è definita come la lunghezza del vettore elettrico al massimo dell'onda. Il tempo richiesto per il passaggio di massimi (o minimi) successivi attraverso un punto fisso nello spazio è chiamato **periodo** p della radiazione.

La **frequenza** ν è il numero di oscillazioni del campo per secondo ed è uguale ad $1/p$. È importante tenere presente che la frequenza è determinata dalla sorgente e rimane costante indipendentemente dal mezzo attraversato dalla radiazione.

Di contro, la **velocità di propagazione**, v_i del fronte d'onda attraverso un mezzo è dipendente sia dal mezzo che dalla frequenza; il pedice i è impiegato per indicare questa dipendenza dalla frequenza.

La **lunghezza d'onda** λ_i è la distanza lineare fra massimi o minimi successivi di un'onda. Il prodotto della frequenza in onde per secondo per la lunghezza d'onda in centimetri dà la velocità v_i di propagazione in centimetri per secondo

$$v_i = \nu \cdot \lambda_i$$

La velocità con la quale le radiazioni elettromagnetiche si propagano nel vuoto, c , è indipendente dalla lunghezza d'onda ed è massima: $c = 2,99792 \cdot 10^{10}$ cm/s.

La velocità nell'aria differisce solo leggermente da c (è circa lo 0,03% in meno). Nel vuoto o nell'aria la velocità della luce è convenientemente arrotondata a $3,00 \cdot 10^{10}$ cm/s = $3,00 \cdot 10^8$ m/s .

In un mezzo contenente materia, la radiazione si propaga ad una velocità minore di c perché il campo elettromagnetico della radiazione, interagendo con gli elettroni degli atomi o molecole del mezzo, si propaga meno rapidamente. Dal momento che la frequenza della radiazione è invariante ed è fissata dalla sorgente, la lunghezza d'onda della radiazione deve diminuire nel passare dal vuoto ad un mezzo contenente materia

$$v_i = v \cdot \lambda_i$$

Il **numero d'onda**, $\bar{\nu}$ è definito come il numero di onde per centimetro, ed è uguale a $1/\lambda$. Per definizione, ha le unità di cm^{-1} .

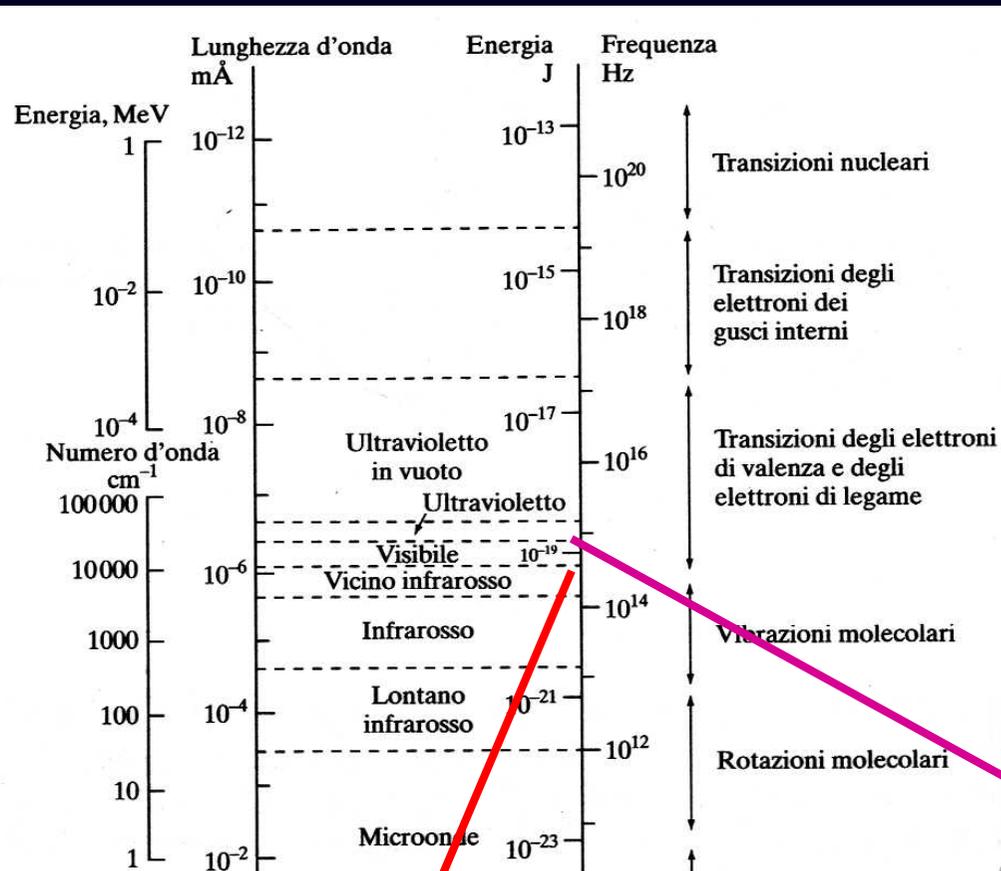
La **potenza**, P , è l'energia di radiazione che raggiunge una data area per secondo.

L'**intensità**, I , è la potenza per unità di angolo solido. Sebbene non sia strettamente corretto, potenza e intensità sono frequentemente usate indifferentemente.

Le proprietà particellari possono essere riassunte nella relazione

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = hc\bar{\nu}$$

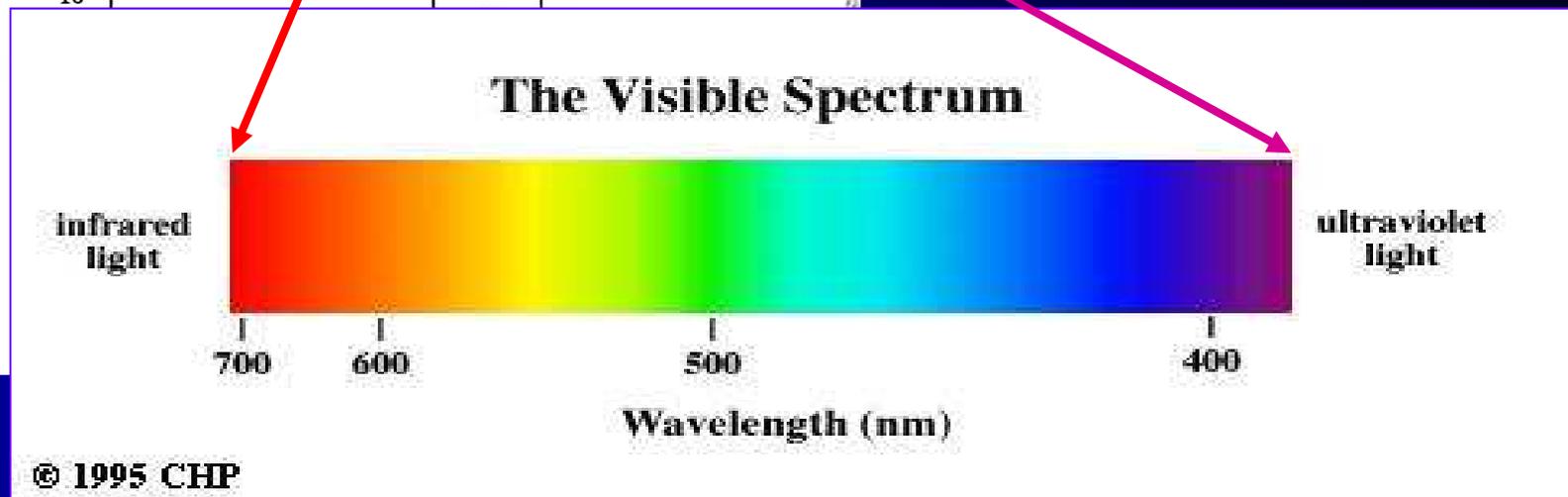
Ad ogni fotone può quindi essere associata l'energia E .



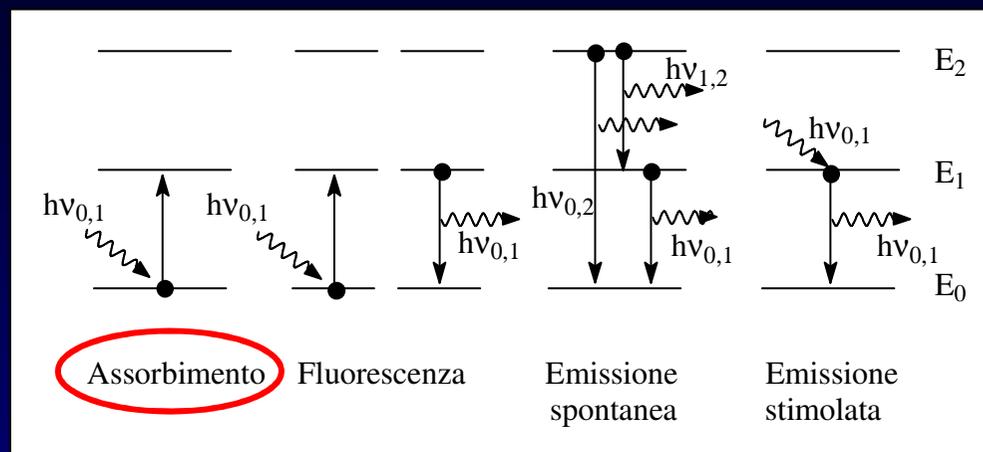
Spettro elettromagnetico e radiazioni del visibile.

Il tipo di perturbazione dell'analita dipende dalla energia della radiazione perturbante.

Una radiazione UV può provocare transizioni degli elettroni di valenza e di legame, non una fotoemissione degli elettroni dei livelli molecolari interni.



PROCESSI RADIATIVI

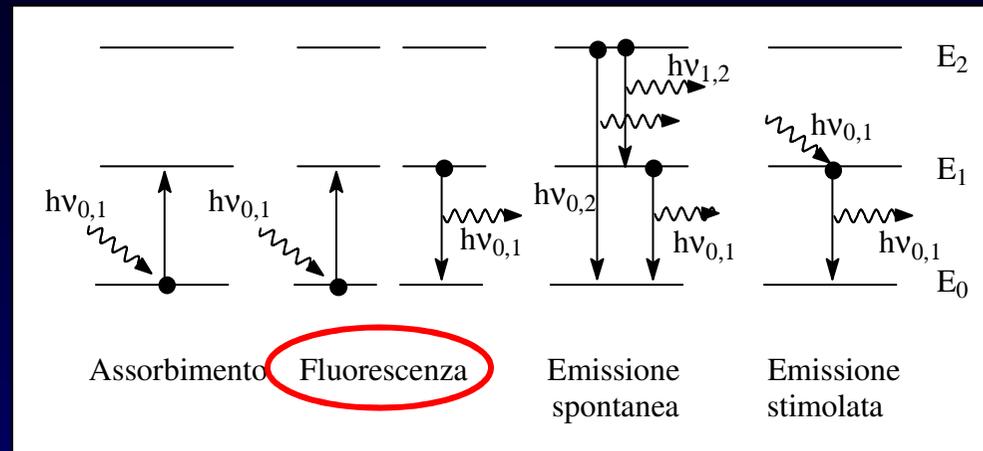


Se una sostanza è irradiata con una radiazione elettromagnetica, le particelle di cui essa è costituita possono interagire con i fotoni della radiazione.

Se una particella ha livelli di energia potenziale (elettronica, vibrazionale o rotazionale) E_0 , E_1 , E_2 ecc., ed i fotoni hanno una frequenza $h\nu_{0,1} = E_1 - E_0$, oppure $h\nu_{0,2} = E_2 - E_0$, ecc., un elettrone della particella può essere eccitato dal livello fondamentale E_0 al livello eccitato E_1 o E_2 , rispettivamente.

Il processo in cui il fotone promuove l'eccitazione dell'elettrone si chiama **assorbimento**.

La particella eccitata si diseccita normalmente per decadimento termico, trasferendo l'eccesso di energia attraverso collisioni con altre particelle: in tal caso il decadimento è un processo non radiativo.

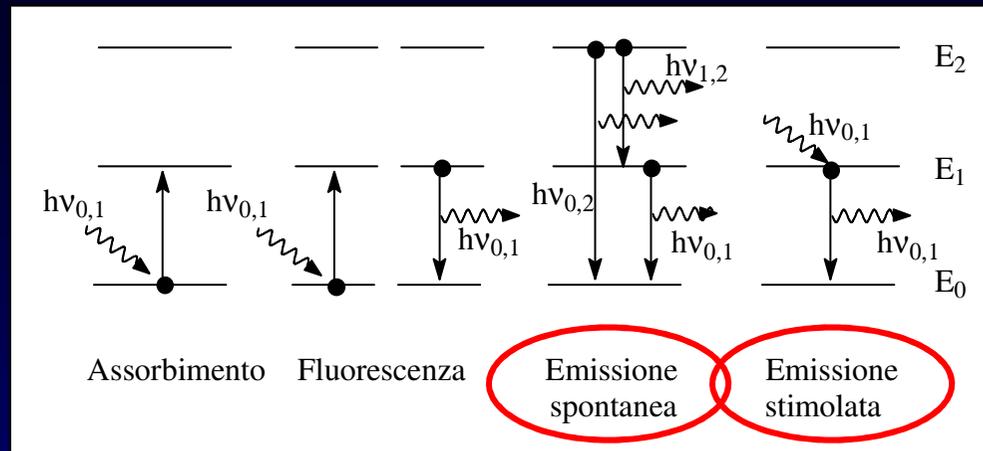


Occasionalmente la particella non decade termicamente ma, dopo pochi ms, riemette il fotone assorbito. Il processo è chiamato **fluorescenza**. In conseguenza del tempo trascorso tra assorbimento e fluorescenza, la particella perde il suo senso direzionale e la fluorescenza è emessa nell'intero angolo solido.

La particella può anche essere eccitata termicamente, per esempio in una fiamma: in tal caso l'assorbimento obbedisce alla **legge di Boltzmann**, che regola la popolazione dei livelli eccitati

$$n_1 = n_0 \cdot \text{cost} \cdot e^{-\frac{E_1 - E_0}{k \cdot T}}$$

in cui n_1 e n_0 sono il numero di particelle negli stati E_1 e E_0 , cost è una costante dipendente dai livelli coinvolti nella transizione, $k = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J/}^\circ\text{K}$ è la costante di Boltzmann e T la temperatura assoluta.



I livelli popolati per assorbimento di energia termica (regolato dalla legge di Boltzmann) si possono diseccitare per **emissione spontanea**, cioè mediante emissione dei fotoni $h\nu_{0,1} = E_1 - E_0$, $h\nu_{1,2} = E_2 - E_1$, ecc.

Un quarto processo radiativo è l'**emissione stimolata**, che consiste nella riemissione di fotoni aventi la stessa lunghezza d'onda di quelli usati per l'eccitazione in seguito a irraggiamento della particella proprio con una radiazione avente frequenza uguale a quella di eccitazione.

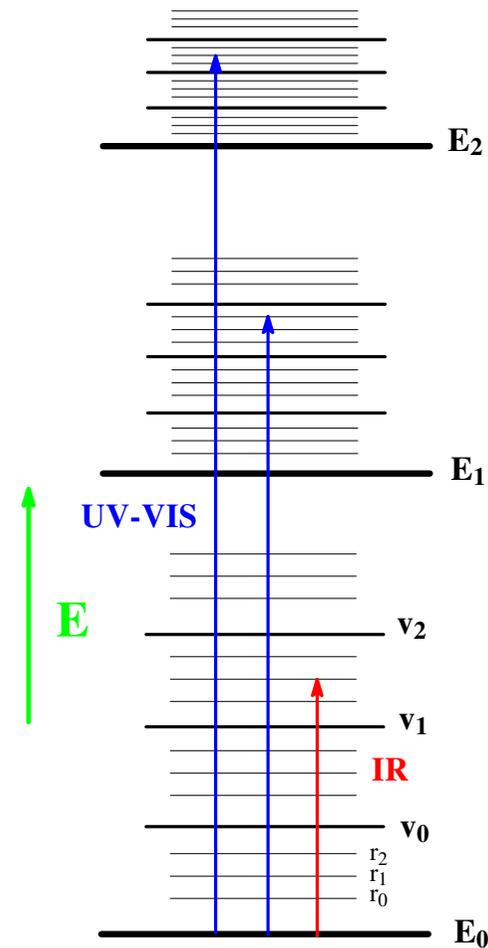
In pratica l'irraggiamento con una radiazione di frequenza $\nu_{0,2}$ stimola sia l'assorbimento sia l'emissione stimolata tra i due livelli 0 e 2, e il risultato netto dipende dalla popolazione dei due livelli (dato che il livello eccitato, di norma, è quello meno popolato, il risultato netto è un assorbimento).

I livelli energetici coinvolti nei processi radiativi hanno natura diversa a seconda che l'assorbitore/emettitore sia una molecola o un atomo.

Nel primo caso ad ogni livello elettronico possono essere associati più livelli vibrazionali e ad ognuno di questi più livelli rotazionali.

Nel secondo caso sono ovviamente assenti i livelli vibrazionali e rotazionali.

SCHEMA DEI LIVELLI ELETTRONICI, VIBRAZIONALI E ROTAZIONALI DI UNA MOLECOLA



La spettrofotometria analitica molecolare nel visibile (VIS) e nell'ultravioletto (UV) è utilizzata per misurazioni quantitative,

L'assorbimento di radiazioni UV o VIS implica transizioni tra i livelli rotovibrazionali di livelli elettronici della molecola assorbente ed è regolato dalla legge di **Lambert & Beer**

A: assorbanza

T: trasmittanza

P_0 , P: potenze radianti

a: assorbanza specifica

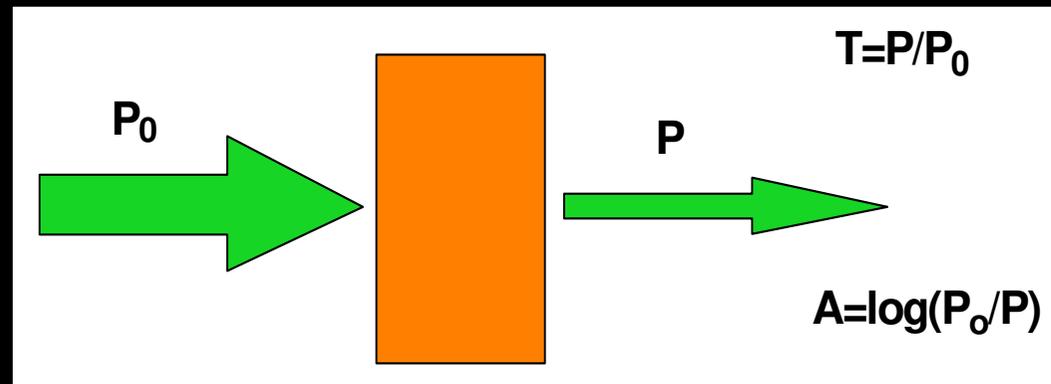
b: cammino ottico

C: concentrazione

ϵ : assorbanza specifica molare

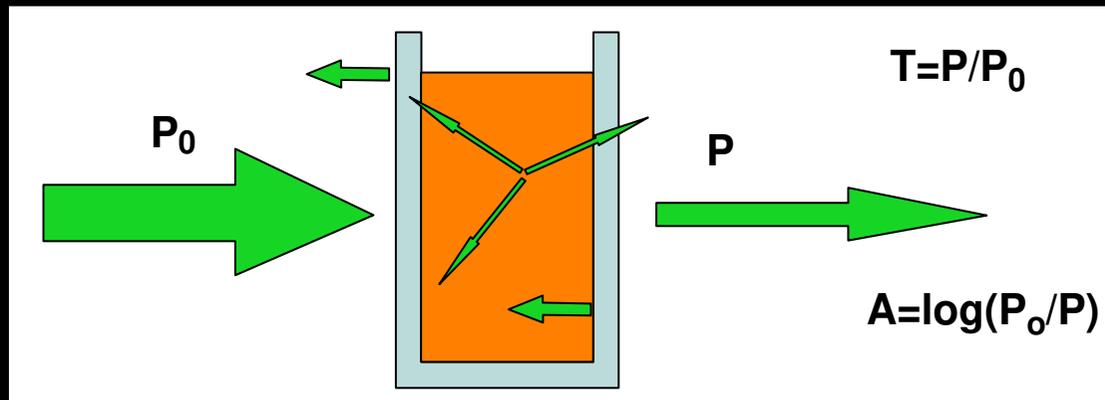
M: molarità

$$A = -\log_{10} T = \log_{10} \frac{P_0}{P} = abC = \epsilon bM$$



Quando l'assorbanza è misurata sperimentalmente, una frazione sostanziale di P_0 viene persa per riflessione della radiazione da parte del contenitore dell'assorbente e un'altra parte viene persa per dispersione o assorbimento da parte della soluzione.

Per compensare queste perdite si usa valutare l'assorbanza mediante confronto della potenza emergente dalla *cuvette* (celletta) contenente la soluzione con quella emergente da una *cuvette* contenente la sola matrice (o bianco).



$$A = \log \frac{P_0}{P} \approx \frac{P_{\text{soluzione}}}{P_{\text{bianco}}}$$

La legge di L&B vale rigorosamente per radiazioni monocromatiche e può essere applicata anche nel caso di miscele di più specie assorbenti

$$A_{\text{tot}} = \varepsilon_1 b C_1 + \varepsilon_2 b C_2 + \varepsilon_3 b C_3 + \dots$$

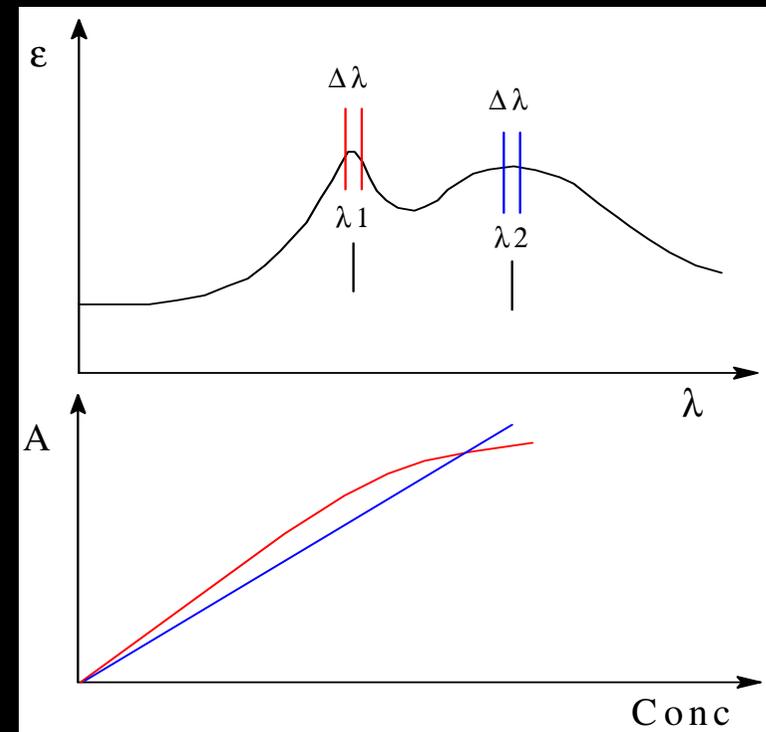
La legge di L&B è una legge limite. Vale nel caso di soluzioni diluite (interazioni intermolecolari trascurabili). Alcune deviazioni dalla linearità hanno origine chimica (dissociazioni, associazioni, dimerizzazioni, ecc. possono portare a variazioni nel tempo dell'assorbività). Altre hanno origine strumentale.

La legge di L&B vale solo nel caso siano usate radiazioni monocromatiche in quanto viene ricavata da una integrazione eseguita assumendo che l'assorbività sia costante: è possibile osservare deviazioni dalla linearità qualora il monocromatore dello spettrofotometro selezioni una banda passante troppo larga (vedere la Figura).

Il posizionamento della banda passante $\Delta\lambda$ a cavallo della lunghezza d'onda λ_2 , porta ad una retta di calibrazione con coefficiente angolare minore, ma senza deviazioni dalla linearità in quanto l'assorbività è praticamente costante all'interno della zona di lunghezze d'onda isolata dalla banda passante.

Altre deviazioni sono originate da radiazioni disperse dovute a difetti strumentali.

Anche le variazioni di temperatura, possono portare a variazioni di assorbività.



Schema a blocchi degli strumenti tipici per spettroscopia di assorbimento (a), fluorescenza (b) ed emissione (c).

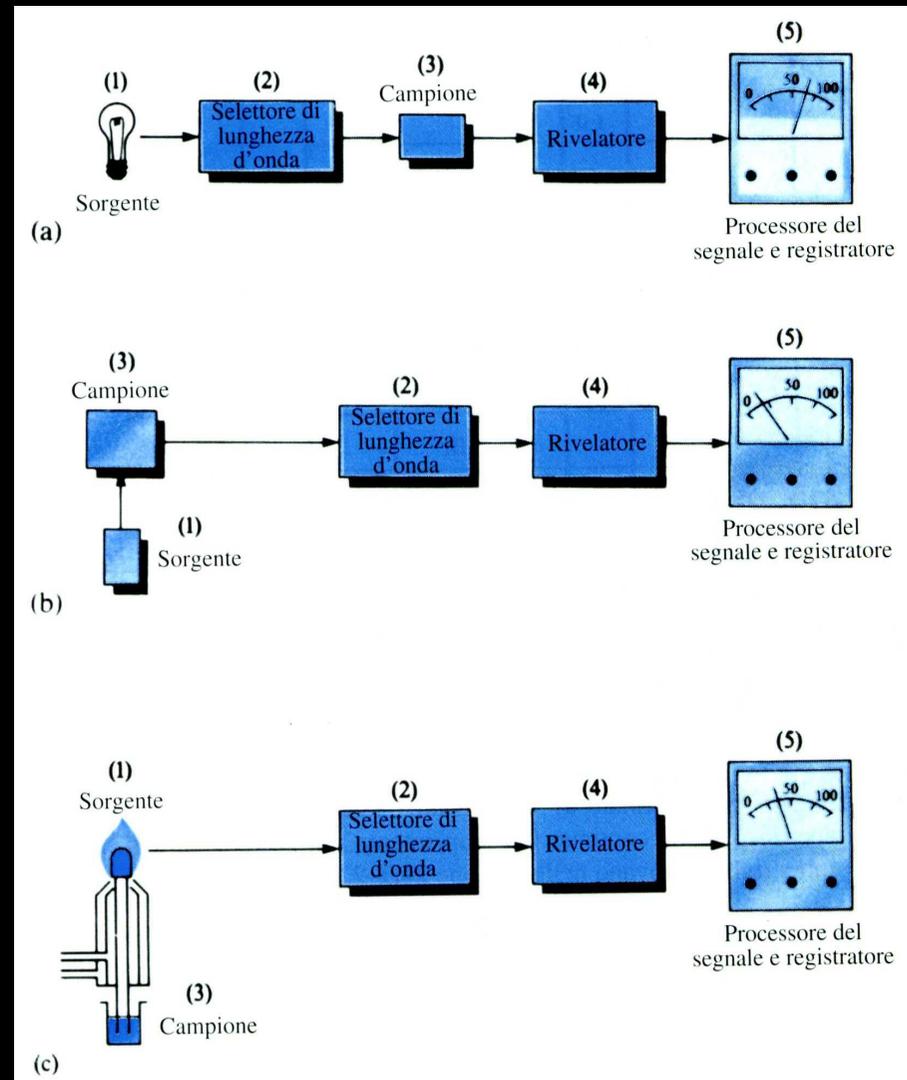
La spettroscopia di emissione non richiede una sorgente di eccitazione distinta dal campione.

Le sorgenti spettroscopiche sono *continue* o *a righe*.

Una normale lampada a filamento di tungsteno (sorgente continua) fornisce uno spettro continuo da 320 a 2500 nm.

Le più comuni sorgenti continue di radiazione ultravioletta sono le lampade a deuterio (ed anche ad idrogeno), che forniscono una radiazione continua nell'intervallo da 160 a 380 nm.

La sorgente a righe più comune è la lampada a catodo cavo.



Selezione della lunghezza d'onda

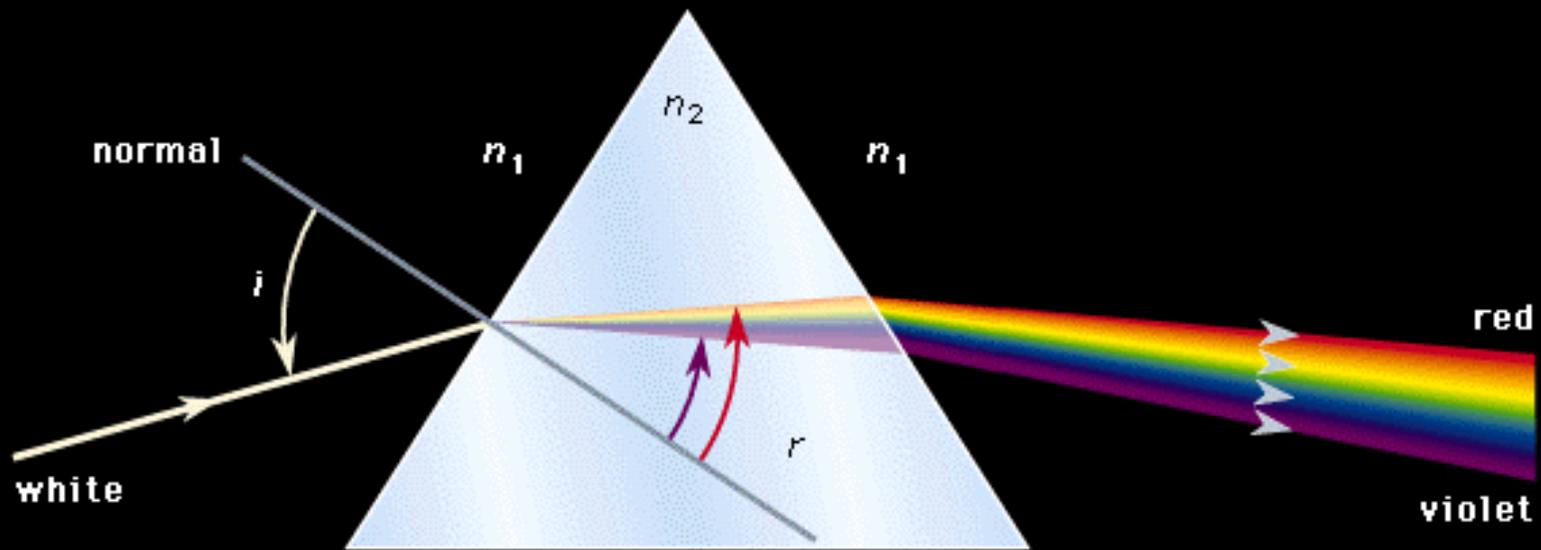
Gli **spettrofotometri** sono equipaggiati con uno o più dispositivi per selezionare una stretta banda, assorbita o emessa dall'analita (banda passante). Una banda passante stretta aumenta la probabilità che lo strumento risponda linearmente alla concentrazione di analita.

I due tipi principali di selettori di lunghezza d'onda sono i **monocromatori** ed i **filtri**.

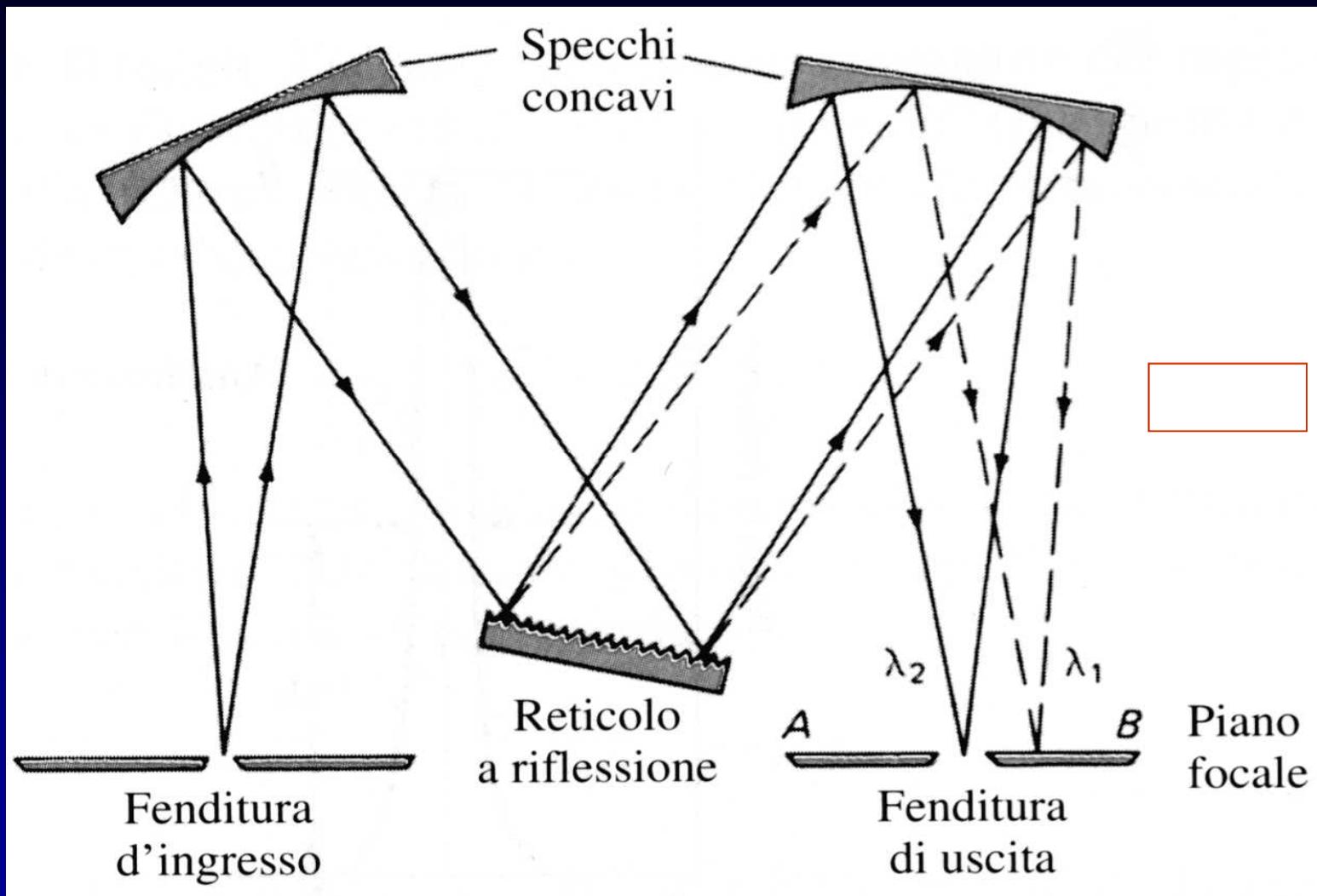
I monocromatori hanno il vantaggio che la lunghezza d'onda in uscita può essere variata continuamente in un intervallo spettrale considerevole.

I filtri offrono il vantaggio di semplicità, robustezza e basso costo.

I monocromatori dei moderni spettrofotometri sono **prismi** e, principalmente, **reticoli**.



Gli angoli i ed r tra i raggi e la normale sono definiti di incidenza e di rifrazione. Dato che n_2 dipende dalla lunghezza d'onda, nella rifrazione la luce bianca incidente si separa nelle sue componenti colorate. La radiazione rossa è la meno deviata, la violetta è la più deviata.

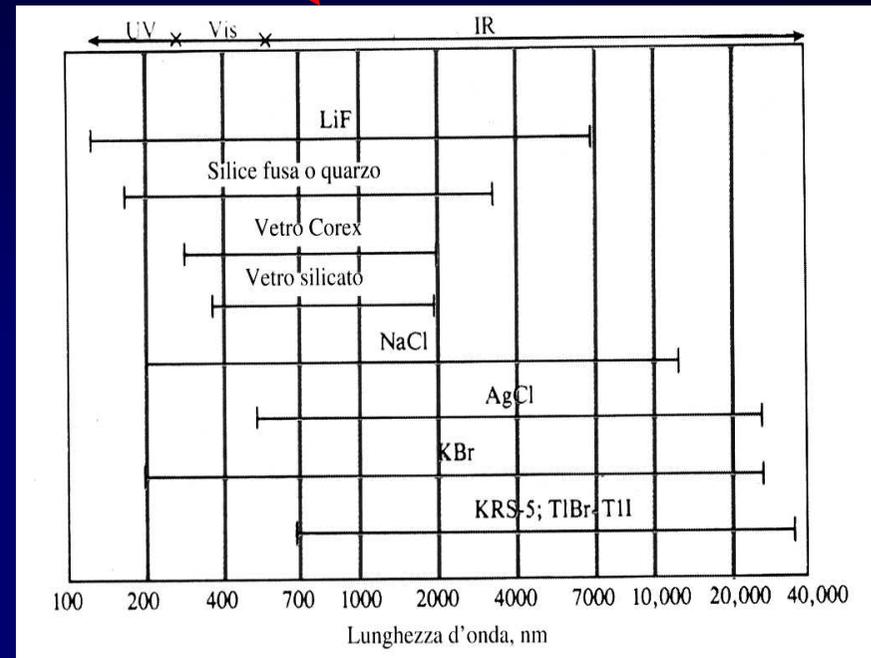
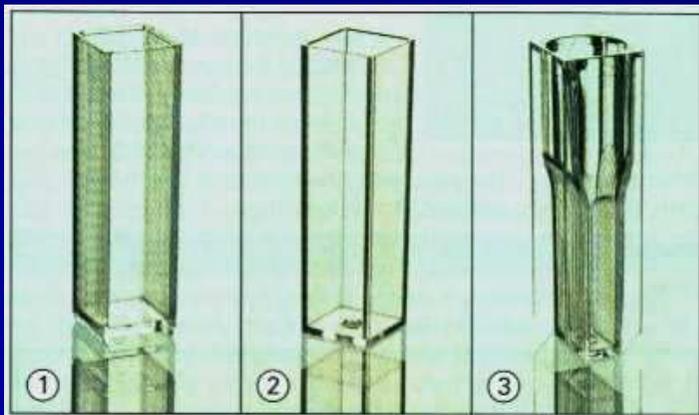


Monocromatore a reticolo di riflessione. Si ricordi che un monocromatore è l'insieme di un prima (o di un reticolo) e delle fenditure di ingresso e di uscita.

Celle

I contenitori per il campione che sono usualmente chiamati celle, cellette o cuvette, devono avere finestre costruite con un materiale trasparente nella regione spettrale di interesse.

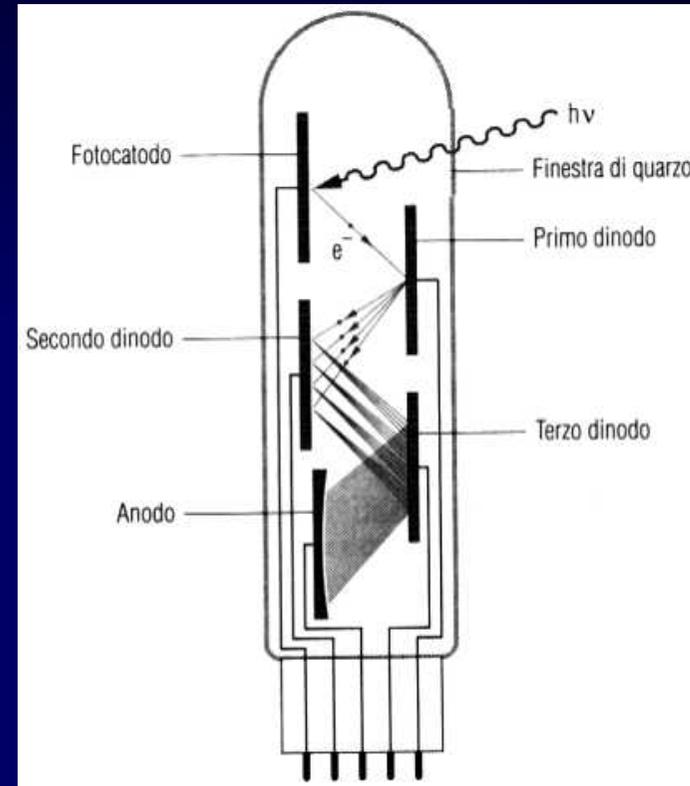
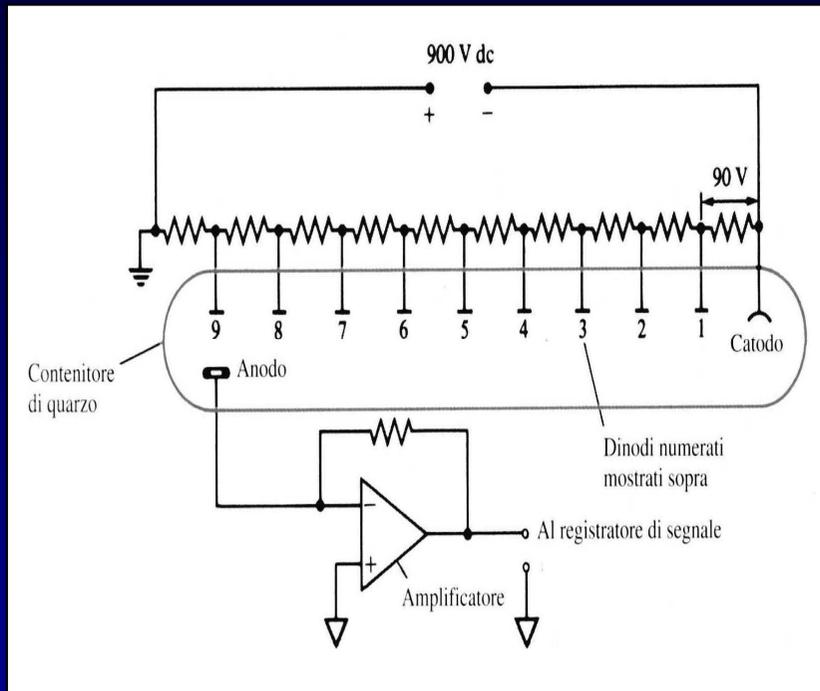
Le migliori cellette hanno finestre che sono normali alla direzione del raggio per minimizzare le perdite dovute alla riflessione. La lunghezza di celletta più comune per gli studi nelle regioni ultravioletta e visibile è 1 cm.



Celle di polistirene per misurazioni spettrofotometriche di routine nel visibile (340-800 nm).

Rivelazione del segnale

I rivelatori fotonici di più largo impiego sono i fotomoltiplicatori.



Schema di principio e struttura di un tubo fotomoltiplicatore. Il guadagno $[(n \text{ di elettroni prodotti}) / (n \text{ di fotoni incidenti})]$ del fotomoltiplicatore aumenta con la tensione applicata agli elettrodi (ma la vita media diminuisce).

Strumenti singolo e doppio raggio

Gli spettrofotometri possono essere

- ◆ **a raggio singolo**

- ◆ **a doppio raggio**

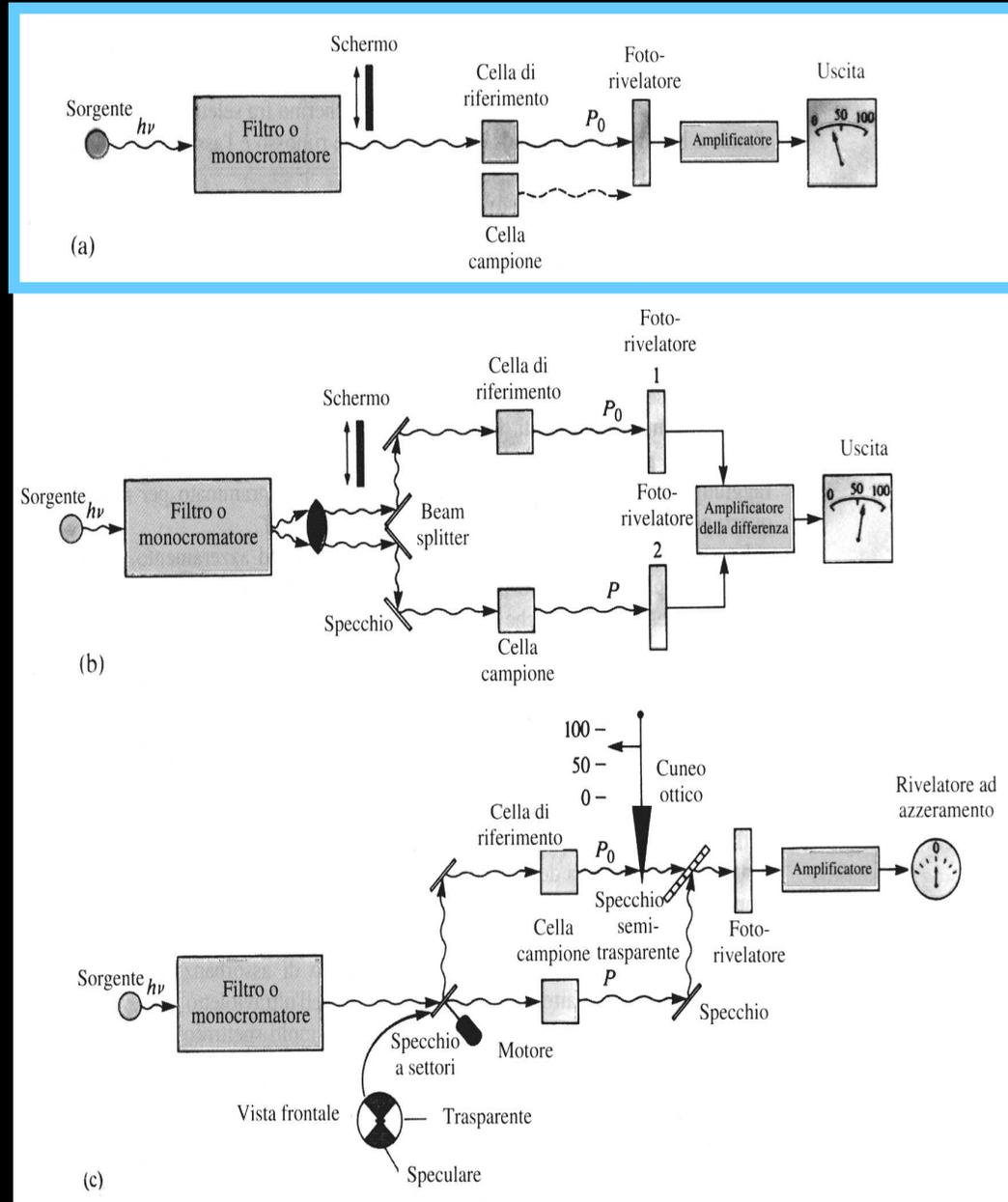
nello spazio: i due raggi vengono prodotti separando nello spazio, mediante un opportuno specchio "beam splitter", la radiazione proveniente dalla sorgente. Uno dei due raggi attraversa la soluzione di riferimento fino al fotorivelatore, ed il secondo simultaneamente attraversa il campione e giunge ad un secondo fotorivelatore (accoppiato al primo); i due segnali in uscita sono amplificati ed il loro rapporto (o il logaritmo del loro rapporto) è determinato elettronicamente e mostrato su di un dispositivo di lettura o sulla carta di un registratore.

nel tempo: i raggi luminosi sono separati "nel tempo" ruotando uno specchio a settori (chopper), che dirige l'intero fascio dal monocromatore prima attraverso il riferimento e poi attraverso il campione; gli impulsi di radiazione sono ricombinati da un altro specchio a settori che trasmette un impulso al rivelatore e riflette l'altro.

Gli strumenti a raggio singolo sono caratterizzati da semplicità della strumentazione, basso costo e facilità di manutenzione.

Sono disponibili in commercio strumenti a raggio singolo per misure sia nell'ultravioletto, che nel visibile.

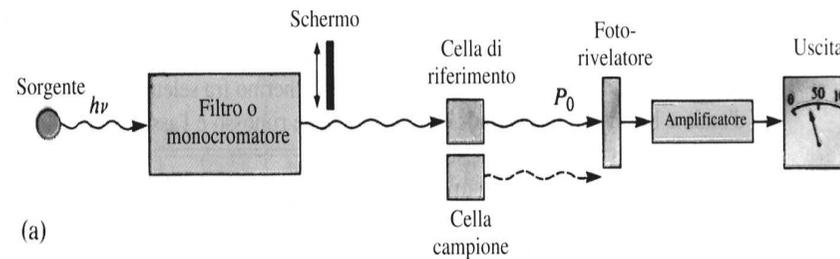
La maggior parte di tali strumenti impiega tubi fotomoltiplicatori quali rivelatori e reticoli quali elementi di dispersione della radiazione.



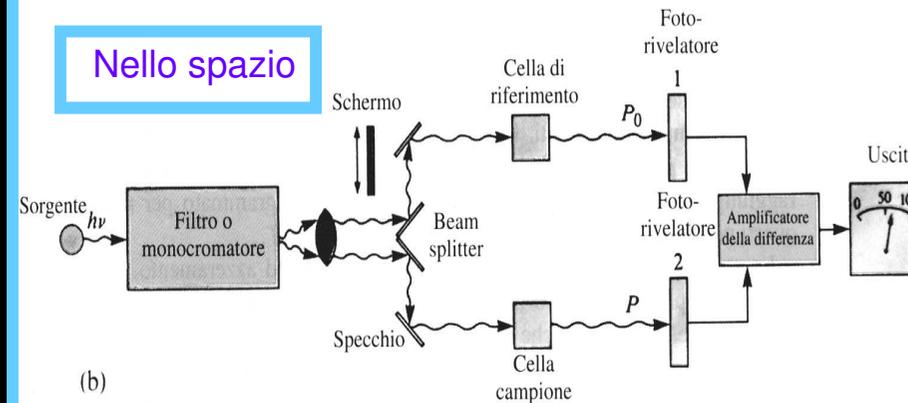
Gli spettrofotometri a doppio raggio offrono il vantaggio di compensare praticamente tutte le fluttuazioni della sorgente, nonché eventuali derive del rivelatore e dell'amplificatore.

Inoltre, lo schema a doppio raggio permette registrazioni in continuo di spettri di trasmittanza o di assorbanza.

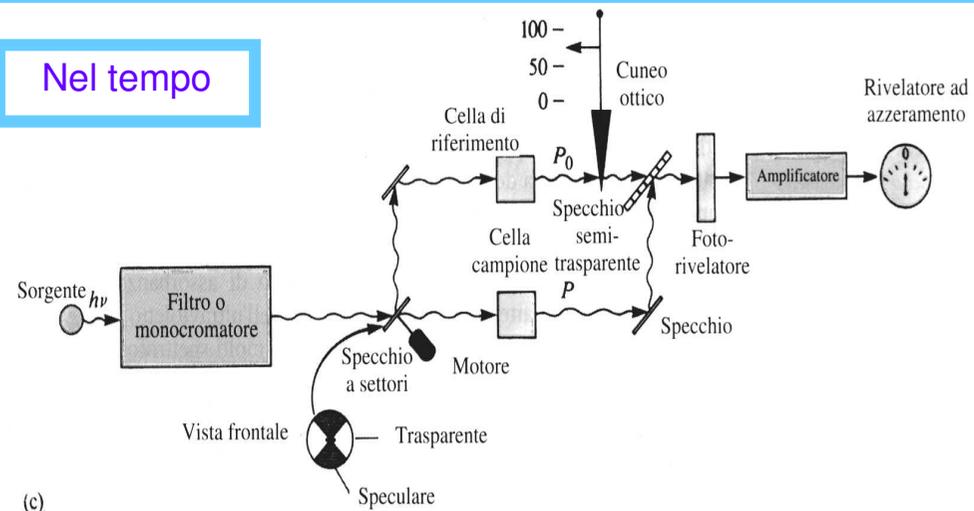
Conseguentemente, la maggior parte dei moderni strumenti nell'ultravioletto e nel visibile è a doppio raggio (generalmente nel tempo).



Nello spazio



Nel tempo



Spettrofotometro VIS Helios δ a singolo raggio interfacciato a PC e gestito mediante Aurora Scan Software (per controllo di qualità industriale).



Intervallo spettrale:	325 - 1100 nm (incrementi: 1, 2, 5, 10 nm)
Monocromatore:	reticolo di diffrazione
Banda passante:	2 nm
Modi operativi:	Abs, %T, Conc, Ratio (λ_1/λ_2)
Intervallo di A:	-0.03 - 3.000
Intervallo di T:	0 -200 %
Accuratezza a 540 nm:	> 0,3% (assorbanza)

Le applicazioni della spettrofotometria UV-VIS sono numerose. Tra le più comuni, specialmente nel campo del controllo di qualità degli alimenti:

- ❁ Analisi VIS del colore negli estratti dei cibi.
- ❁ Determinazione UV della caffeina, della vitamina A e dell'ac. benzoico.
- ❁ Determinazione dell'azoto nitroso nelle acque (vedere sotto il relativo spettro VIS).
- ❁ Determinazione enzimatica degli zuccheri.
- ❁ Determinazione di tracce di ioni metallici tossici mediante misurazione dell'assorbimento dei complessi da loro formati con opportuni leganti (esempio tipico è la determinazione colorimetrica del Cr(VI) nelle acque con un metodo standard EPA).
- ❁ Valutazione merceologica dello zafferano.
- ❁ Ecc.

Appendice: inquinanti in tracce contaminazione

ppm = parti per milione

cioè $1 \text{ mg} = 10^{-3} \text{ g}$ per 1 Kg (=1 L)

tracce

ppb = parti per bilione=miliardo

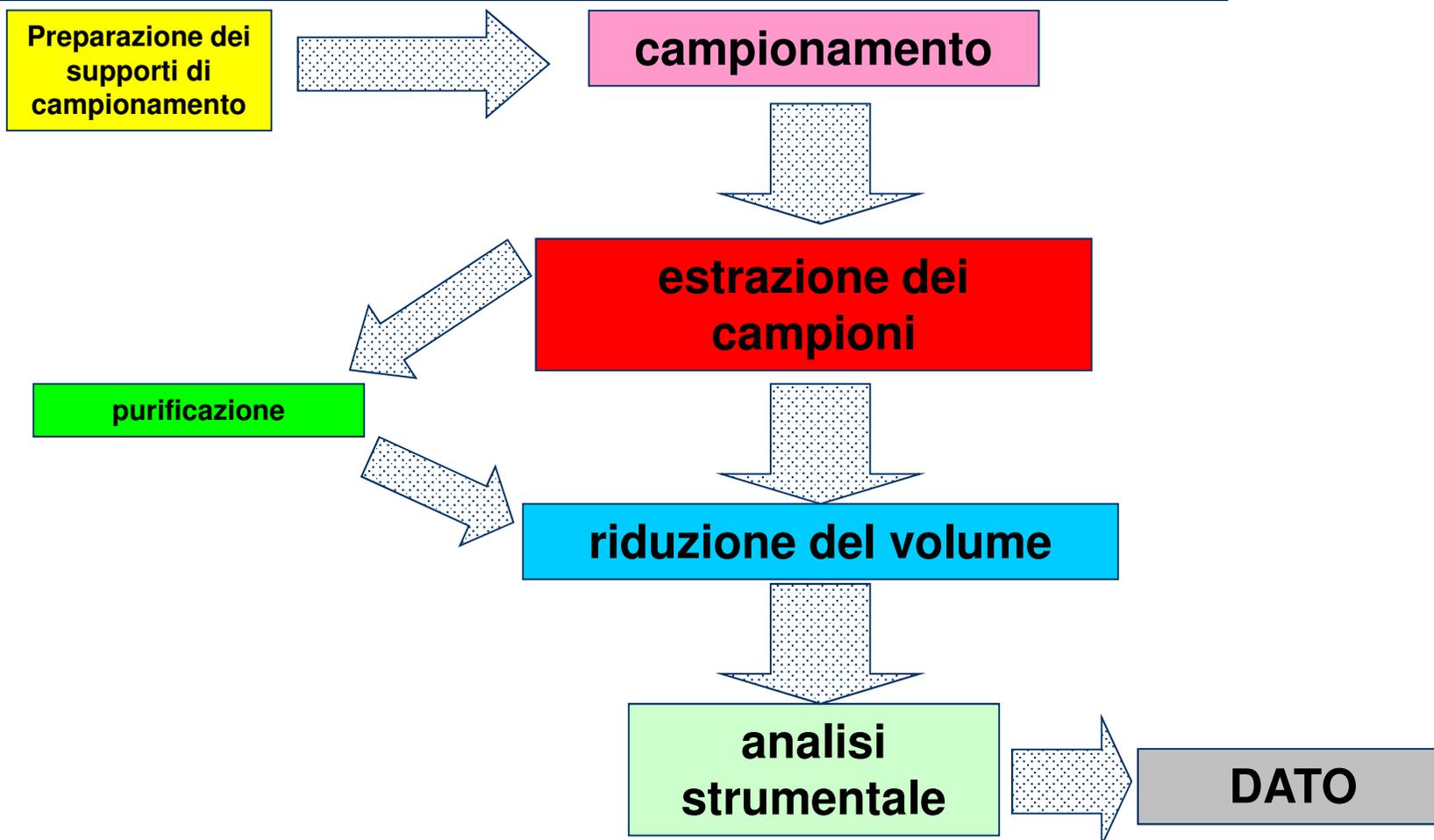
cioè $1 \text{ } \mu\text{g} = 10^{-6} \text{ g}$ per 1 Kg (=1 L)

ultratracce

ppt = parti per trilione

cioè $1 \text{ ng} = 10^{-9} \text{ g}$ per 1 Kg (=1 L)

Metodi analitici per la determinazione di inquinanti in matrici reali

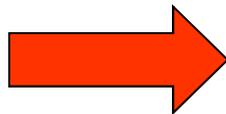


Esempio

COSA
SIGNIFICA
?

Ottenere informazioni sulla qualità dei fiumi del Veneto.

- non sono specificati i parametri di interesse (nutrienti, metalli, composti organici, ecc.)
- non sono specificati quali fiumi del Veneto (i principali, i tratti montani, ecc.)
- non è specificata la frequenza di campionamento (giornaliera, settimanale, mensile, stagionale, ecc.)
- non è specificato se interessa un dato medio, oppure un intervallo max-min



di conseguenza non si può pianificare
il programma di misure

Molto meglio:

frequenza di campionamento

come esprimere il dato

Stimare la **media annuale** di

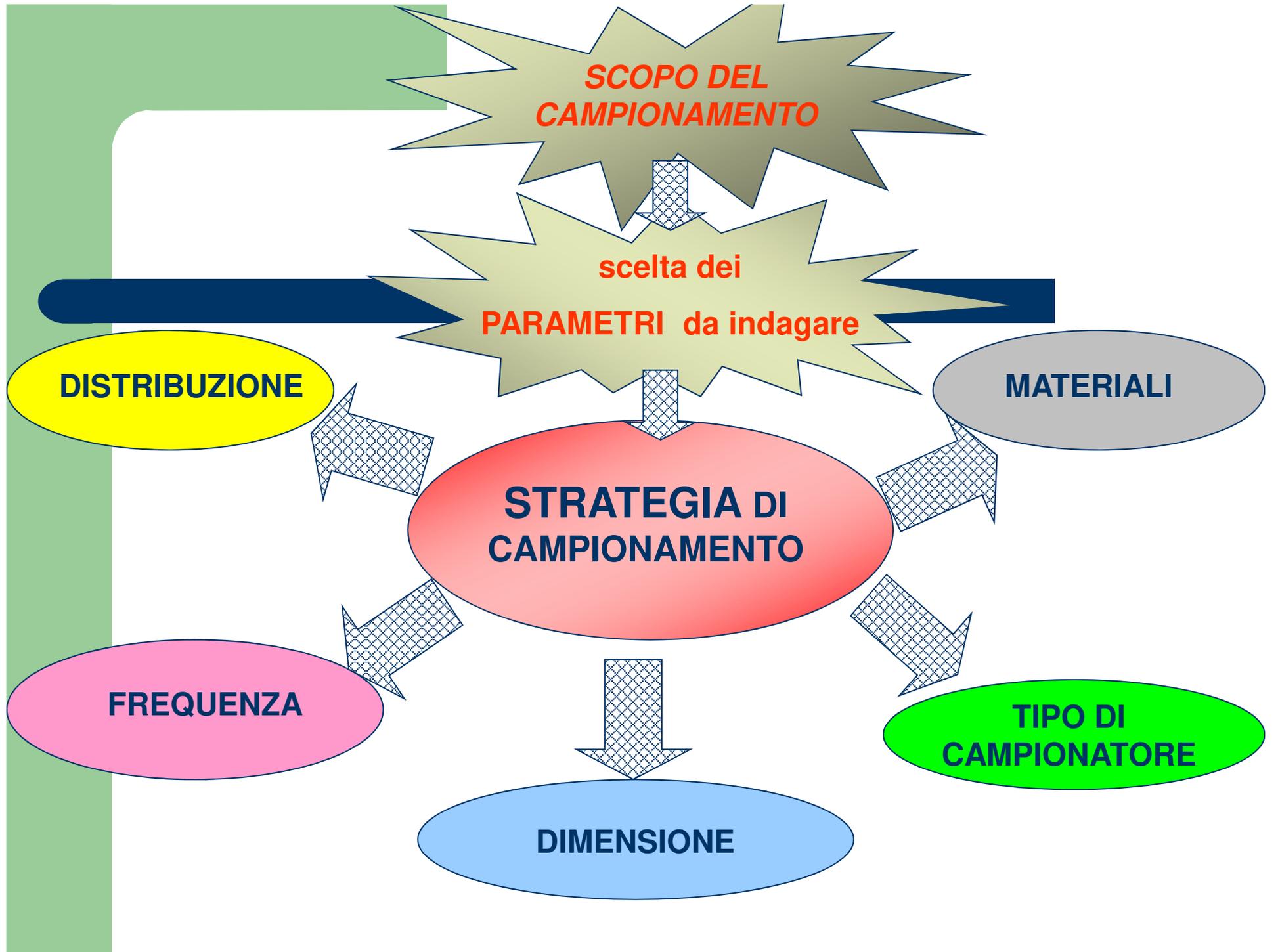
cosa determinare

ammoniaca, nitrati e nitriti

in tutti i siti fluviali utilizzati per la produzione di acqua potabile.

cosa studiare

ora è possibile definire una **strategia di campionamento**

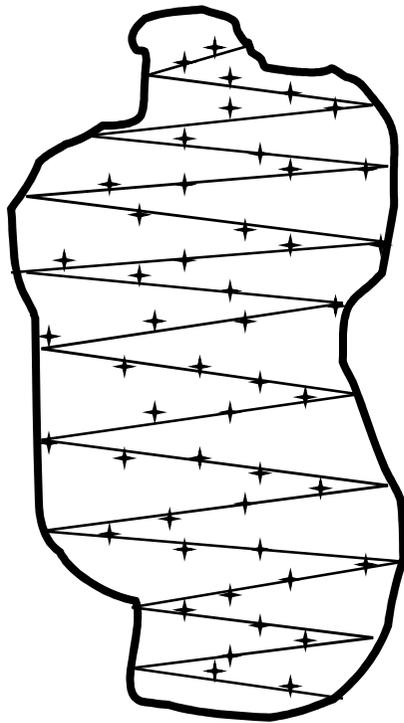


Distribuzione spaziale e frequenza dei campionamenti

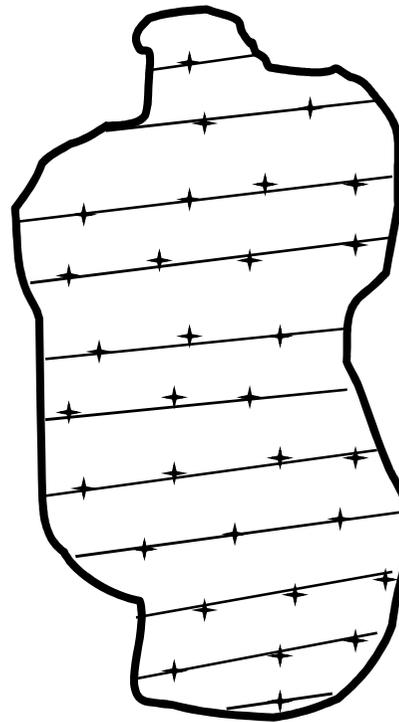
Al fine di valutare la **composizione media** nel tempo e nello spazio, sarà utile prelevare il campione quando il sistema presenta caratteristiche temporali medie, nel suo punto con caratteristiche medie, oppure prelevare singoli campioni in diversi momenti e luoghi e riunirli in un unico campione, definito **composito**.

Diversamente, se l'obiettivo dello studio è la valutazione della **variabilità del sistema** nel tempo e nello spazio, si dovranno raccogliere campioni che siano rappresentativi di una particolare situazione spazio-temporale, in modo da poterne rilevare l'andamento.

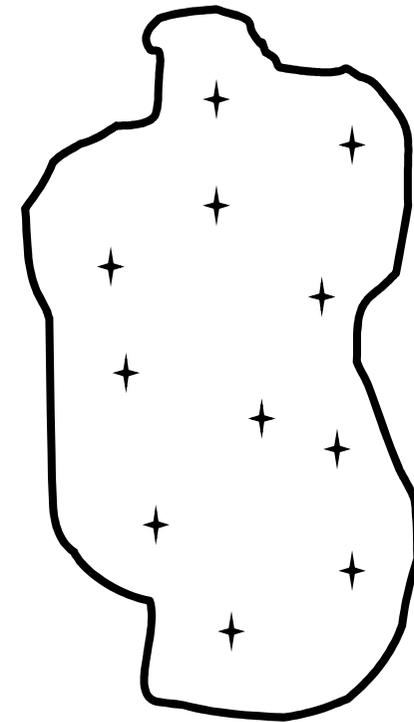
Schemi spaziali di campionamento



griglia casuale



transetto continuo



campionamento *spot*

Campionamento in ambienti marini

Il sistema mare può essere distinto in tre diverse regioni con caratteristiche diverse, in base al principio dell'omogeneità e della variabilità spazio-temporale.

- 1. zone di acqua salmastra relativamente confinate** (baie, porti, insenature): sono caratterizzate da scarsi scambi con il mare aperto. La presenza di inquinanti si ripartisce sia nelle acque marine direttamente influenzate dallo scarico che nelle acque in uscita, che influenzano quelle costiere ed il mare aperto.

Il campionamento in tale area deve prevedere punti ravvicinati in prossimità della sorgente e più diradati allontanandosi da essa.

Poiché tali aree chiuse o semi-chiuse risentono rapidamente delle variazioni delle caratteristiche dell'acqua, la frequenza di campionamento deve essere piuttosto fitta (più campionamenti nell'arco della giornata).

Campionamento in ambienti marini

2. zone costiere: sono le acque comprese entro 100-200 m dalla costa influenzate da attività umane e da apporti naturali. Sono caratterizzate da alte concentrazioni di nutrienti ed alta attività biologica, che ne influenzano le proprietà chimico fisiche. Presentano quindi alta variabilità stagionale, legata ad esempio all'evoluzione degli apporti fluviali (acque dolci).

Il campionamento in tale area dovrebbe essere condotto secondo un reticolo più o meno esteso che ne tenga in considerazione il regime idrologico.

Data la grande variabilità temporale, influenzata dalle variazioni delle sorgenti locali, la frequenza di campionamento deve essere alta, e talvolta può essere necessario condurre rilevamenti in continuo.

Campionamento in ambienti marini

- 3. mare aperto:** non è direttamente interessato da apporti locali, per cui è, in linea di principio, un ambiente stabile ed omogeneo.

Considerata anche la ricchezza dei dati disponibili in letteratura circa la sua composizione, può essere caratterizzato prelevando un numero limitato di campioni, anche distanti tra loro. E' da tenere però in considerazione la variabilità verticale del mare aperto (stratificazione delle acque), che presenta forte carattere stagionale.

A tal proposito, sono state codificate dall'International Association of Physical Oceanography delle **profondità standard di campionamento** per il mare aperto (0, 10, 20, 30, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1000, 1200, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000, 5000 m, ecc.)

Metodologie di campionamento per l'acqua

Sarebbe auspicabile poter effettuare le misure direttamente *in situ*, attraverso sensori in grado di effettuare analisi in continuo, in modo da non sottoporre il campione al rischio di contaminazione e per poter descrivere con miglior dettaglio il sistema (tale osservazione vale soprattutto per i sistemi con variabilità verticale, che non possono essere ben indagati con sistemi di campionamento discontinui, come ad esempio il mare aperto). Purtroppo tali sensori non sono disponibili per la maggior parte dei parametri, soprattutto per gli elementi in tracce, mentre esistono sonde in grado di misurare **salinità, pH, OD, conducibilità**, ecc.

I sistemi di campionamento si possono distinguere a seconda del tipo di acqua che deve essere raccolta, che, a seconda delle sue caratteristiche, può essere distinta in **acqua superficiale** (o **microlayer**) e **acqua sub-superficiale/profonda**.

Sonde multiparametriche

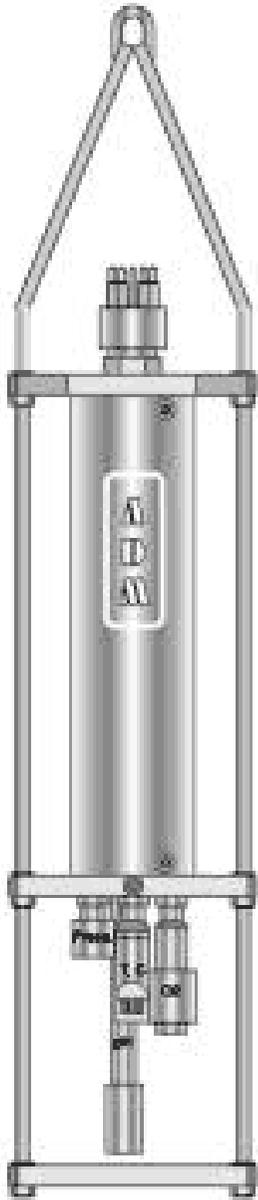
OD

Pressione (profondità)

Conducibilità (salinità)

Fluorescenza

Temperatura



Stratificazione delle masse d'acqua

I mari e le masse d'acqua (profonda) presentano fenomeni di stratificazione, sia dal punto di vista fisico-chimico che biologico, dovuti principalmente ai seguenti fattori: temperatura e salinità (densità), ossigeno e luce.

Temperatura: poiché l'acqua ha un elevato calore specifico, si riscalda e si raffredda più lentamente rispetto all'atmosfera, ciò provoca un succedersi delle stagioni in mare sfalsato rispetto all'ambiente terrestre e di conseguenza un clima più mite nelle zone costiere rispetto a zone continentali poste alla stessa latitudine.

La temperatura diminuisce con la profondità (diminuendo l'azione dei raggi solari) ma non in modo costante: infatti esiste una zona detta termocline che, per vari fattori, può trovarsi a profondità diverse tra 100 e 500 m, in cui la temperatura diminuisce bruscamente sino a valori di 4° C per poi rimanere costante a profondità superiori.

Questo fenomeno non si manifesta nei periodi freddi perché la differenza di temperatura tra acque superficiali e profonde è minima e talvolta anche nei periodi caldi quando, a causa di forti venti, si hanno rimescolamenti della massa d'acqua.

Le variazioni di temperatura influenzano i cicli vitali degli organismi marini.

Stratificazione delle masse d'acqua

Salinità: i sali presenti in acqua di mare sono: cloruro di sodio e di magnesio, solfato di magnesio, calcio e potassio, carbonato di calcio e bromuro di calcio. Tali sali disciolti sono tra loro in rapporto costante; lo ione Cl, combinato con altri, è il componente chimico presente in percentuale maggiore, per cui si può utilizzare la quantità di questo elemento per misurare la salinità totale. In mare aperto tale valore si aggira tra il 34 – 36 ‰.

La salinità presenta variazioni stagionali più accentuate nei golfi e nei mari chiusi, a causa dell'evaporazione e dell'apporto di acqua dolce continentale.

Densità: la densità in mare è funzione della temperatura, della salinità e anche della pressione. Le acque calde sono meno dense e galleggiano su acque più fredde, questa stratificazione impedisce il rimescolamento della massa d'acqua con formazione di termoclini. Acque meno salate, quindi meno dense, galleggiano su acque a salinità superiore. Le differenze di densità causate da temperatura e salinità determinano correnti verticali e orizzontali che influenzano la distribuzione di popolazioni di organismi e la ridistribuzione di sali nutritivi.

Ossigeno: le fonti principali dell'ossigeno disciolto in mare sono la fotosintesi clorofilliana svolta dalla componente vegetale e gli scambi gassosi superficiali tra atmosfera e mare. Tutti i fenomeni che aumentano la turbolenza del mare permettono una maggiore possibilità di scambi gassosi in superficie e facilitano la distribuzione dell'ossigeno in profondità. La temperatura influenza la concentrazione di ossigeno: acque più fredde sono maggiormente ossigenate rispetto a quelle calde.

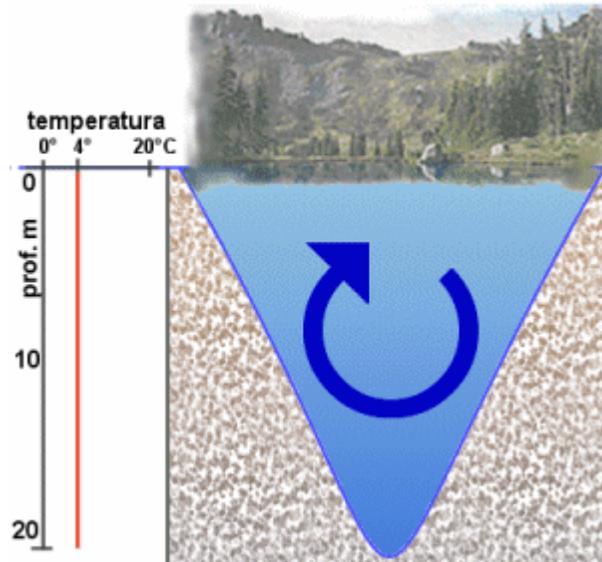
Stratificazione delle masse d'acqua

L'ossigeno prodotto con la fotosintesi viene utilizzato per la respirazione da tutta la componente biologica. Il livello al quale la produzione di ossigeno dovuta alla fotosintesi è uguale alla quantità di ossigeno consumato dalla respirazione viene definito profondità di compensazione. Questo livello diminuisce quando aumenta la torbidità che limita la penetrazione della luce con conseguenze sulla distribuzione degli organismi.

Luce: La quantità e qualità della luce che penetra in mare influenzano l'intero ecosistema. La luce è la fonte di energia utilizzata dagli organismi vegetali per la fotosintesi attraverso la quale si ha produzione di sostanza organica e liberazione nel mezzo dell'ossigeno indispensabile per i processi vitali. La quantità di luce che penetra nella massa d'acqua, detta trasparenza, dipende dall'inclinazione dei raggi solari e dalla torbidità del mare (che a sua volta dipende dalla quantità e dalla qualità del materiale in sospensione, come polline, olii, alghe ecc.). Lo strato d'acqua entro il quale la quantità di luce è sufficiente per svolgere la fotosintesi è detto **zona eufotica**, nella quale si concentra la maggior parte della popolazione biologica.

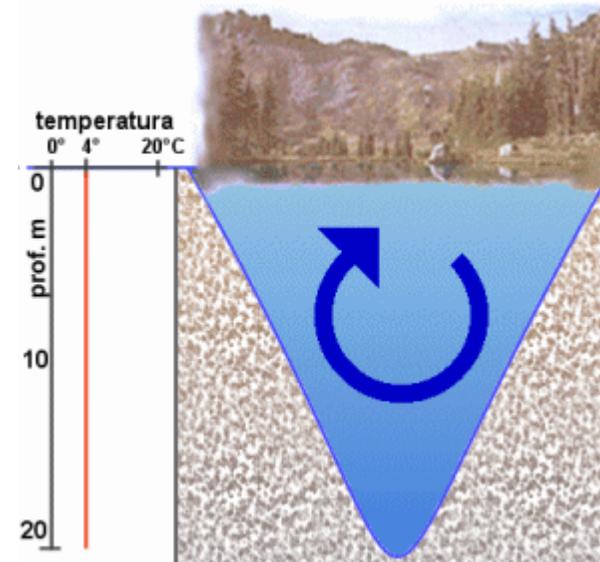
Esempio: stratificazione di un lago

circolazione primaverile



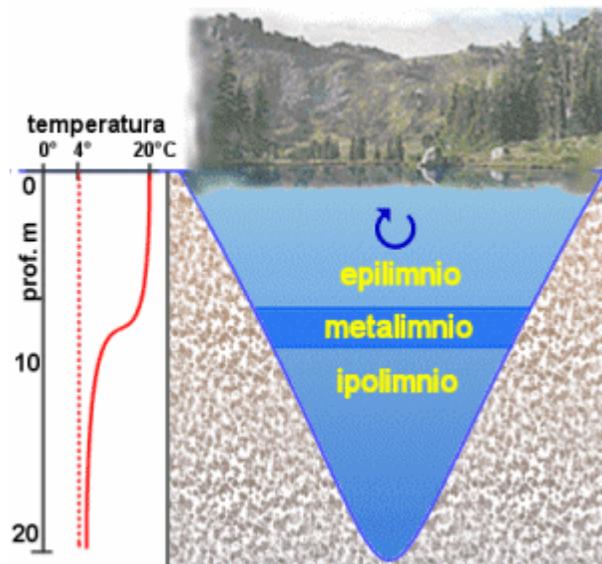
Le acque di un ipotetico lago della regione temperata, con una profondità di 20 metri, alla fine della stagione invernale presentano, a tutte le profondità una uguale temperatura di circa 4°C, che è la temperatura di massima densità dell'acqua. L'azione del vento può facilmente provocare un rimescolamento delle acque più superficiali, a contatto con l'atmosfera e quindi contenenti abbondante ossigeno disciolto, con quelle sottostanti. La circolazione primaverile che così si instaura ricarica di ossigeno l'intera colonna d'acqua.

circolazione autunnale



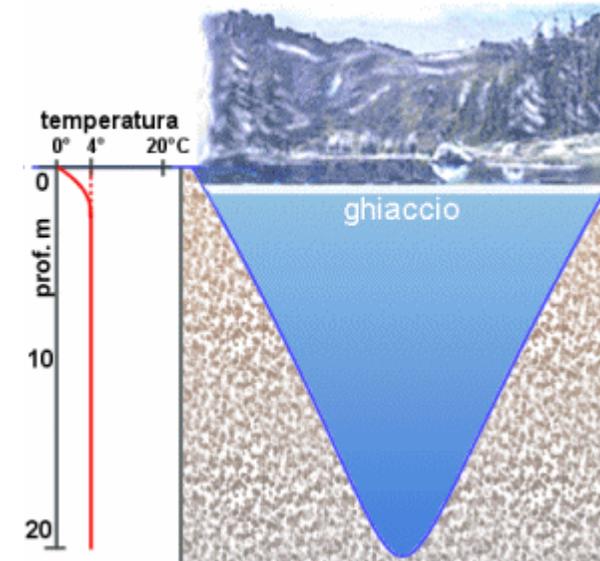
In autunno l'acqua superficiale si raffredda, diventa più densa e scende verso il fondo. Con essa si abbassa anche lo strato, sempre più sottile, in cui avviene il salto di temperatura, il metalimnio. Come già in primavera, per azione del vento il rimescolamento delle acque si intensifica ed esita, infine, in una circolazione completa (circolazione autunnale). Il corpo d'acqua si trova ora a circa 4 °C con l'ossigeno disciolto uniformemente distribuito.

stratificazione estiva



Con l'avanzare della primavera, l'apporto di calore attraverso la radiazione solare determina un innalzamento della temperatura delle acque superficiali. Il lavoro meccanico del vento potrà operare un certo rimescolamento delle acque più superficiali (più calde e quindi meno dense) con quelle immediatamente sottostanti (più fredde e quindi più dense), contribuendo così alla distribuzione del calore dagli strati più superficiali a quelli via via più profondi. Tuttavia, con il progredire della stagione calda tra acque superficiali ed acque profonde andrà formandosi un gradiente termico, e quindi di densità, sempre più elevato e comunque tale da impedire il rimescolamento ad opera del vento. Nella stagione calda, quindi, si avrà nel lago uno strato superficiale caldo (**epilimnio**) separato dalle acque profonde uniformemente fredde (**ipolimnio**) da uno strato di passaggio (**metalimnio**), caratterizzato da un rapido abbassamento della temperatura con il crescere della profondità. In questa situazione di **stratificazione estiva** lo scambio di ossigeno tra le acque superficiali e quelle profonde è quasi nullo.

stratificazione invernale



In inverno la densità dell'acqua diminuisce per un ulteriore raffreddamento. L'anomalia della densità dell'acqua comporta una instabile stratificazione termica inversa, con uno strato superficiale più freddo sopra uno strato più profondo di acqua a 4 °C. Il ghiaccio, quando arriva a formarsi, copre la superficie del lago poiché la sua densità a 0°C è solo i 9/10 di quella dell'acqua. Il ghiaccio può rendere stabile la stratificazione termica inversa e si produce così la **stratificazione invernale**.

Campionatori di acque sub-superficiali

Il campionamento può essere effettuato in diversi modi:

- ❑ utilizzando apposite bottiglie;
- ❑ calando una pompa che raccolga l'acqua e la porti direttamente in superficie;
- ❑ facendo adsorbire i composti desiderati su un apposito adsorbente (resina chelante).

Campionatori di acque sub-superficiali

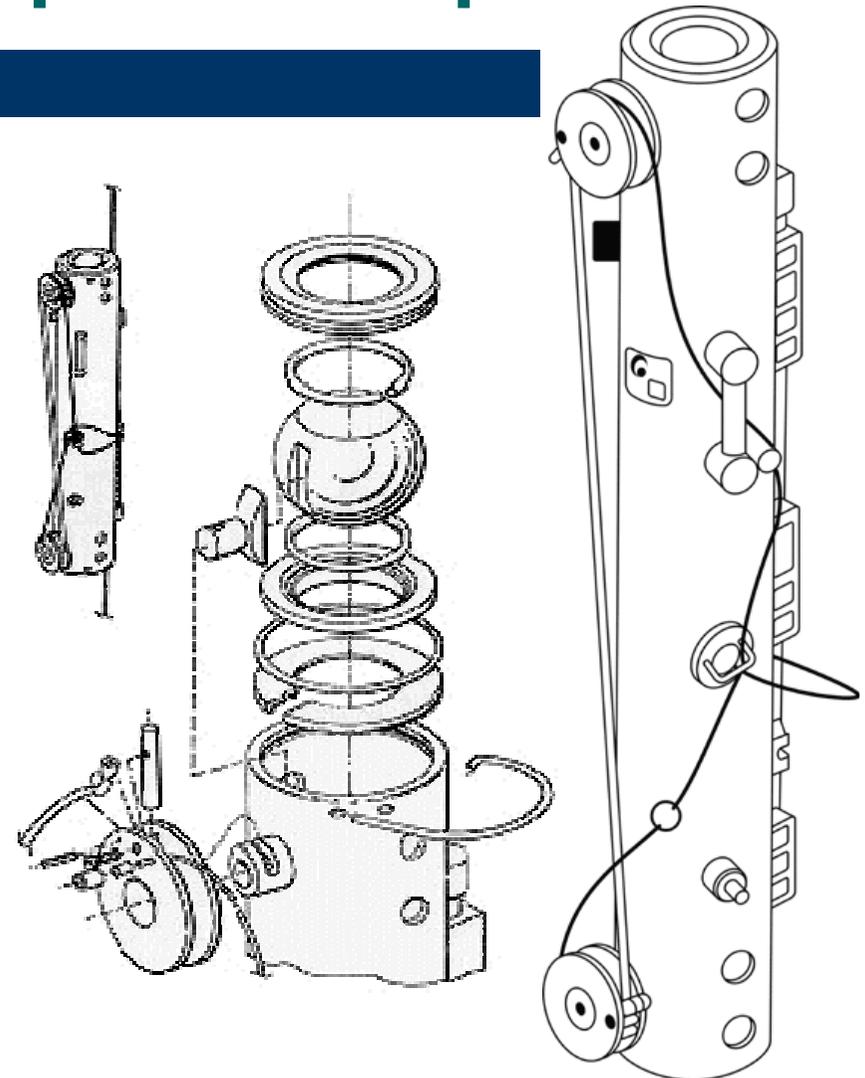
Le **bottiglie** costituiscono il sistema di campionamento più usato. Lo svantaggio principale di tale tipo di campionatore consiste nella limitatezza del volume di acqua che può essere raccolto, in genere non molto elevato. Il principale vantaggio è invece costituito dalla possibilità di utilizzarlo lungo tutta la colonna d'acqua, senza incorrere in particolari problemi.

Prima di essere utilizzata, la bottiglia deve essere **avvinata**, vale a dire condizionata più volte (3) con aliquote di campione, allo scopo di instaurare un equilibrio tra la superficie del contenitore ed il campione stesso, limitando quindi gli scambi tra i due mezzi.

Affinché siano in grado di raccogliere campioni rappresentativi, devono presentare un efficiente scambio tra interno ed esterno, qualora vengano immerse aperte. Infatti, le caratteristiche dell'acqua superficiale (microlayer) sono molto diverse da quelle della colonna sottostante e spesso presentano un notevole arricchimento nei composti idrofobici (idrocarburi, tensioattivi, ecc.); se la bottiglia viene immersa aperta, la pellicola del microlayer aderisce alla superficie

Campionatori di acque sub-superficiali

Un esempio è costituito dal sistema GO-FLO, adatto anche per la determinazione di tracce. Il sistema di chiusura è dato da una sfera, che viene fatta ruotare per mezzo di tiranti in materiale elastico. Il suo interno è completamente rivestito con un materiale inerte (teflon), che non è attaccabile neppure da acidi. Tale sistema viene immerso **chiuso**; a circa 10 m di profondità esso si apre automaticamente per la presenza di un sensore di pressione,



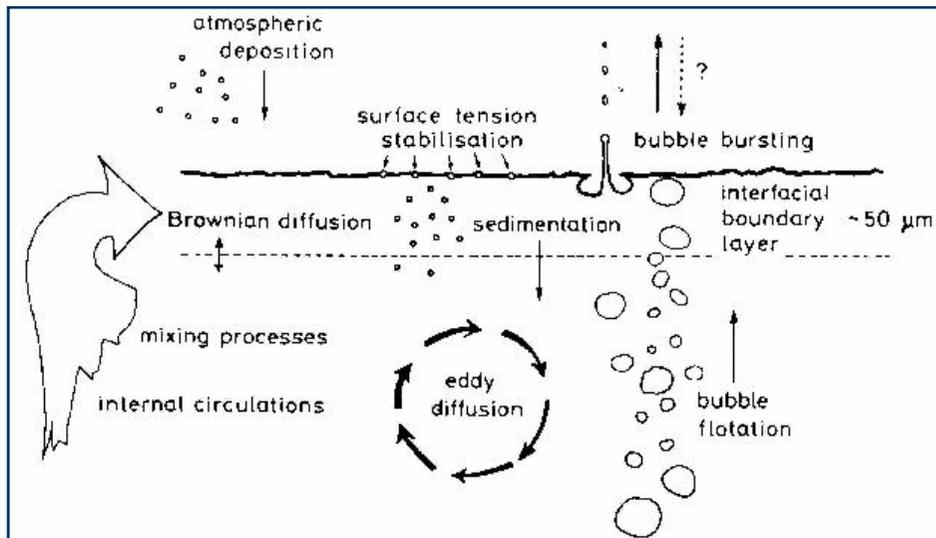


Campionatori di acque sub-superficiali

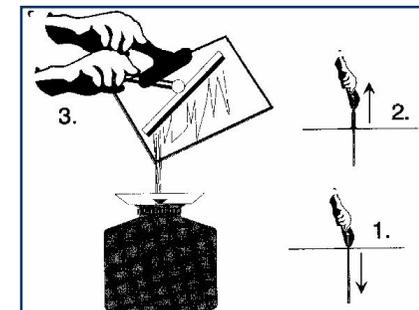
Il campionamento dell'acqua sub-superficiale per mezzo di **sistemi di aspirazione** (pompe) ovvia al principale inconveniente delle bottiglie, cioè la limitatezza del volume di campione che può essere raccolto, infatti con tale sistema è possibile campionare volumi ingenti anche in tempi non eccessivamente lunghi (a seconda della portata della pompa). Tuttavia in genere tali sistemi non sono in grado di sopportare pressioni troppo elevate, per cui la scarsa profondità a cui possono essere immerse non ne consente l'uso in mare aperto.

Il campionamento mediante pompe può avvenire ad un'unica profondità prefissata, oppure può essere un campionamento multiplo a diversi livelli (utilizzando contemporaneamente più dispositivi), oppure può essere condotto in continuo, seguendo un profilo di profondità.

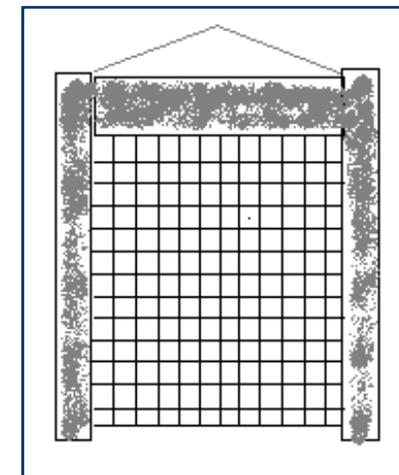
Campionatori di microlayer



Fenomeni che coinvolgono l'interfaccia aria-acqua

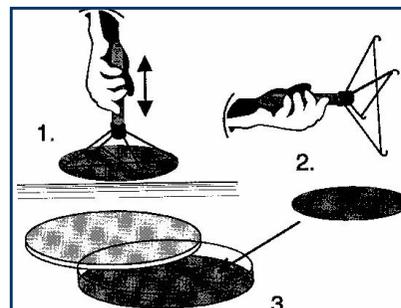


Lastra



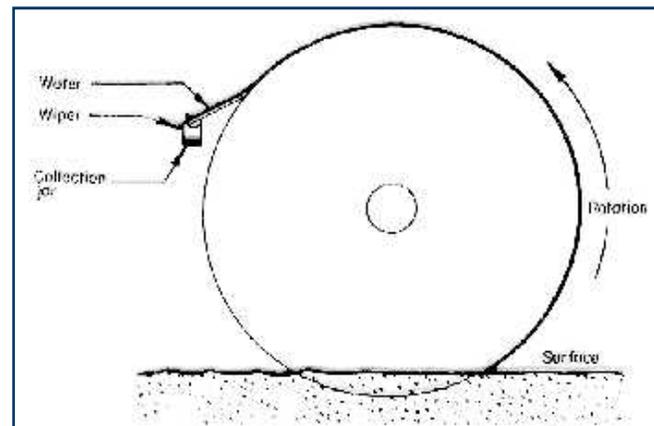
Rete

Piastra



Campionatori di microlayer

Un sistema più sofisticato prevede invece l'utilizzo di un cilindro rotante, che raccoglie film più o meno consistenti a seconda della sua velocità di rotazione, effettuando una raccolta per capillarità.



**Cilindro
ruotante**

L'evoluzione di tale tecnica di campionamento consiste nella sua installazione a bordo di un natante elettro-alimentato e radio-controllato, in grado di raccogliere contemporaneamente, attraverso due distinte linee di aspirazione, sia il microstrato che l'acqua sub-superficiale (MUMS: Multiple Use Microlayer Sampler)

Campionatori di
microlayer

Lamina in Mylar

Cilindro in
vetro

Raccolta liquido

MUMS

